

СВОБОДНЫЕ РАДИКАЛЫ И ТРАНСДУКЦИЯ СИГНАЛОВ В КЛЕТКАХ

© 2023 г. Г.Г. Мартинович*, #, И.В. Мартинович*, В.В. Войнаровский*, Д.В. Григорьева*, И.В. Горудко*, О.М. Панасенко**

*Белорусский государственный университет, просп. Независимости, 4, Минск, 220030, Республика Беларусь

**Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина
ФМБА России, ул. Малая Пироговская, 1а, Москва, 119435, Россия

#E-mail: martinovichgg@bsu.by

Поступила в редакцию 19.12.2022 г.

После доработки 04.01.2023 г.

Принята к публикации 17.01.2023 г.

Представлен обзор молекулярных механизмов внутриклеточной передачи информации с участием свободных радикалов. Детально рассмотрены структура и функционирование ферментативных систем продукции супероксидного анион-радикала и пероксида водорода. Обсуждаются механизмы регуляции свойств клеток с участием специализированных редокс-цепей, образованных группой белков, взаимодействующих через электрон-транспортные процессы. Анализируются генетически опосредованные механизмы регуляции редокс-гомеостаза клеток. Особое внимание уделяется проблеме количественной характеристики сети взаимодействий окислителей и восстановителей, определяющей видовые и индивидуальные особенности редокс-гомеостаза и стрессового ответа клеток.

Ключевые слова: свободные радикалы, активные формы кислорода, редокс-регуляция, окислительный стресс, восстановительный стресс, фактор транскрипции Nrf2.

DOI: 10.31857/S0006302923040063, EDN: KJSYZR

Активное исследование свободнорадикальных процессов в живых системах началось в середине прошлого века, когда образование окислителей в организме связали с развитием хронических и дегенеративных заболеваний. В 1954 г. Р. Гершман с соавторами предположила, что известные токсические эффекты кислорода обусловлены образованием его активных радикальных интермедиатов [1]. В том же году Б.Н. Тарусов высказал гипотезу о ведущей роли свободнорадикальных реакций перекисного окисления липидов в развитии радиационно-индуцированных повреждений клеток [2]. Дальнейшие работы Н.М. Эмануэля и ряда других авторов способствовали выяснению механизмов свободнорадикального окисления липидов и антиоксидантных защитно-восстановительных процессов в клетках [3, 4]. В

последующем было установлено, что свободно-радикальные продукты метаболизма кислорода или активные формы кислорода (АФК), как их стали называть позже, образуются не только после облучения, но и продуцируются метаболически, вызывая повреждение клеточных структур при развитии патологического состояния организма [5, 6].

В 1956 г. Д. Харман выдвинул свободнорадикальную теорию старения, согласно которой ослабление физиологических функций с возрастом происходит в результате аккумуляции разнообразных повреждений, в том числе и генетического материала, образующимися при дыхании клеток свободными радикалами [7]. Данная теория привела к формированию целого направления биологии старения, исследующего роль АФК в процессах старения и развитии возрастной патологии, а также способы регуляции процессов старения с помощью антиоксидантных средств [8, 9]. Развитие исследований в данной области значительно расширило список заболеваний и патологических процессов, объединяемых понятием «свободнорадикальные».

Открытие регуляторной роли монооксида азота ($\cdot\text{NO}$), рассматривавшегося до этого как цитотоксическое соединение, инициировало начало

Сокращения: АФК – активные формы кислорода, НАДФН – никотинамидадениндинуклеотид фосфат, Nox – НАДФН-оксидаза (NADPH oxidase), ФАД – флавинадениндинуклеотид, ФМН – флавиномононуклеотид, НАДН – никотинамидадениндинуклеотид, СОД – супероксиддисмутаза, ARE – антиоксидант-респонс(ив)ный элемент (antioxidant respons(iv)e element), Duoх – двойная оксидаза (Dual oxidase), Nrf2 – транскрипционный фактор 2 семейства NFE (NF-E2-related factor 2), Keap1 – Kelch-подобный ECH-ассоциированный протеин 1, Klf9 – Kruprel-подобный фактор 9, Prx6 – пероксиредоксин 6.

исследований физиологических функций свободнорадикальных процессов. Первые свидетельства того, что в ходе метаболических процессов в живых системах может продуцироваться $\cdot\text{NO}$, приводящий к образованию динитрозильных комплексов железа, были получены в работах А.Ф. Ванина [10, 11]. Дальнейшее изучение регуляторных свойств этого свободного радикала привело к открытию его физиологической функции, состоящей в регуляции тонуса сосудов, за которое Р. Фарчготт, Л. Игнарро и Р. Мьюрэд в 1998 г. были удостоены Нобелевской премии по физиологии и медицине [12].

В настоящее время участие свободнорадикальных продуктов метаболизма кислорода показано в регуляции широкого спектра биохимических и физиологических процессов, включая регенеративные и адаптационные процессы, дифференцировку клеток и апоптоз [13, 14]. Важно отметить, что монооксид азота, который синтезируется цитохром P_{450} -подобными гемопroteинами семейства NO -синтаз, главным образом участвует в межклеточной сигнализации [15]. С другой стороны, основными участниками процессов внутриклеточной трансдукции сигналов являются супероксидный анион-радикал ($\text{O}_2^{\cdot-}$) и продукт его дисмутации — пероксид водорода (H_2O_2) [16].

АФК, по-видимому, являются универсальными биорегуляторами жизненных функций у всех типов живых организмов — от бактерий и простейших до высших растений и животных. Показано, что при повышении внутриклеточной концентрации АФК изменяется активность практически всех классов сигнальных эффекторных белков, участвующих в передаче сигнала от клеточной поверхности к ядру [13]. Однако в рамках традиционной биохимии и физиологии механизмы регуляции АФК широкого спектра биохимических и физиологических процессов трудно объяснить.

Многочисленные исследования указывают на сложность и многообразие процессов, протекающих в живых системах с участием АФК и антиоксидантов. Целью настоящей работы является обзор современных представлений о механизмах участия АФК в процессах внутриклеточной передачи информации. Особое внимание уделяется проблеме количественной характеристики уникальной сети взаимодействий окислителей и восстановителей, определяющей видовые и индивидуальные особенности редокс-гомеостаза и стрессового ответа клеток.

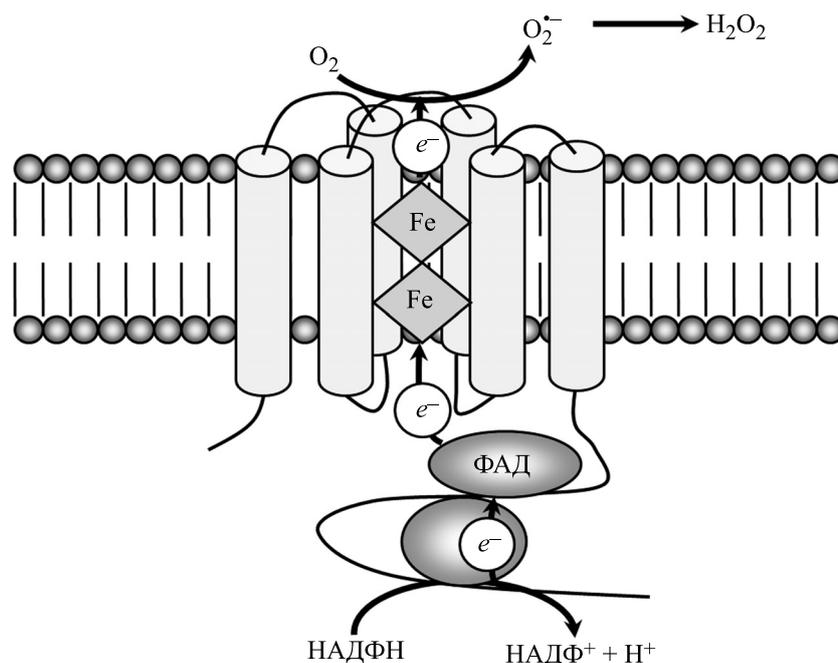
МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ АКТИВАЦИИ КИСЛОРОДА В КЛЕТКАХ ПРИ СИГНАЛИЗАЦИИ

АФК ($\text{O}_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , $^1\text{O}_2$, NO^{\cdot} и др.) образуются в клетках как в результате действия внешних физико-химических факторов, так и в процессах клеточного метаболизма. Это гетерогенная группа соединений, характеризующаяся разными физико-химическими свойствами и биологической активностью. В процессах внутриклеточной передачи сигнала ключевую роль выполняет H_2O_2 , образование которого происходит в результате дисмутации $\text{O}_2^{\cdot-}$ [16]. Генерация $\text{O}_2^{\cdot-}$ в клетках человека, в основном, происходит при одноэлектронном восстановлении молекулярного кислорода с участием НАДФН-оксидаз и комплексов дыхательной цепи митохондрий.

НАДФН-оксидазы млекопитающих. НАДФН-оксидаза относится к семейству $\text{O}_2^{\cdot-}$ -генерирующих оксидаз (обозначаемых как Nox-семейство оксидаз), состоящему из семи членов: Nox1 (NADPH oxidase 1), Nox2, Nox3, Nox4, Nox5, двойные оксидазы Duox1 (Dual oxidase 1) и Duox2 [17]. Ключевым компонентом $\text{O}_2^{\cdot-}$ -генерирующих оксидаз является гликопротеин $\text{gp91}^{\text{phox}}$ (phagocyte oxidase), составляющий каталитическую часть НАДФН-оксидазы фагоцитов и известный как Nox2.

Простетическими группами гликопротеина $\text{gp91}^{\text{phox}}$ являются флавинадениндинуклеотид (ФАД) и два гема, которые образуют трансмембранную электрон-транспортную цепь и обеспечивают перенос электронов между субстратами (НАДФН и O_2), располагающимися по разным сторонам клеточной мембраны [18]. Полипептидная цепь $\text{gp91}^{\text{phox}}$ состоит из 570 аминокислот и содержит шесть трансмембранных α -спиральных участков, образующих мембранный домен фермента. В области III и V трансмембранных α -спиральных участков находятся пять консервативных остатков гистидина, четыре из которых обеспечивают места связывания для двух гемов. Каждая из гемовых групп $\text{gp91}^{\text{phox}}$ связана двумя координационными связями с остатками гистидина (His101:His209 и His115:His222) таким образом, что тетрапиррольные структуры располагаются параллельно плоскости трансмембранных α -спиральных участков [19]. Цитозольный домен полипептидной цепи со стороны карбоксильного окончания содержит ФАД и место связывания НАДФН (рис. 1).

Трансмембранный перенос электронов от НАДФН на O_2 включает несколько этапов [20]. Сначала два электрона переносятся на ФАД. Следующим этапом является одноэлектронный

Рис. 1. Топология gp91^{phox}-комплекса.

перенос электронов с ФАДН₂ (E^0 , (ФАДН[•]/ФАДН₂) = -304 мВ) через внутренний гем (E^0 , (Fe³⁺/Fe²⁺) = -225 мВ) и внешний гем (E^0 , (Fe³⁺/Fe²⁺) = -265 мВ) на O₂ (E^0 , (O₂/O₂^{•-}) = -137 мВ). Наличие O₂ является необходимым условием для переноса электронов по простетическим группам фермента. Поскольку редокс-потенциал внешнего гема ниже, чем внутреннего, в отсутствие O₂ электроны будут оставаться на внутреннем геме. Таким образом, движущую силу процесса определяет разность редокс-потенциалов O₂ и НАДФН.

Оксидазы Nox-семейства используются для защиты от вирусов и бактерий, а также регуляции многих клеточных функций [18]. Основным продуктом Nox1, Nox2, Nox3 и Nox5 является O₂^{•-}, тогда как Duox1, Duox2 и Nox4 имеют пероксидазный домен и продуцируют преимущественно H₂O₂ [21]. При этом биологические функции и тканевое распределение разных изоформ НАДФН-оксидаз существенно различаются.

Высокий уровень экспрессии гена Nox1 наблюдается в клетках эпителия толстой кишки [22]. Фермент также обнаружен в клетках гладкой мышечной ткани, эндотелиальных клетках, тромбоцитах, остеокластах, нейронах, астроцитах и клетках микроглии [23, 24]. Nox1 локализована в плазматической мембране клеток, преимущественно в кавеолах [25]. В клетках эпителия

толстой кишки и микроглии Nox1 участвует в механизмах иммунной защиты, подобно Nox2 фагоцитов [26, 27]. В тромбоцитах Nox1 участвует в коллаген-индуцированном формировании тромбов [28]. В гладкой мышечной ткани Nox1 участвует в процессах внутриклеточной сигнализации, активированных действием ангиотензина II [29, 30].

Генерация АФК с участием Nox2 необходима для микробицидного действия и регуляции иммунного ответа. Ген изоформы Nox2, главным образом, экспрессируется в фагоцитах, однако также обнаружен в клетках поперечно-полосатых и гладких мышц, кардиомиоцитах, нейронах, эндотелиоцитах, фибробластах, гепатоцитах и гемопоэтических стволовых клетках [31]. В фагоцитирующих клетках Nox2 преимущественно (95%) локализована в мембране фагосом, а в эндотелиальных клетках Nox2 содержится в кавеолах мембран ламеллоподий [32]. В гладкомышечных клетках Nox2 располагается вблизи перинуклеарного цитоскелета, а в нейронах – в мембране синапсов [33]. В эндотелиоцитах активация Nox2 происходит при механотрансдукции и действии эндотелина-1, фактора роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor, VEGF) и фактора некроза опухоли альфа (tumor necrosis factor alpha, TNF-α) [34, 35]. Нарушение функционирования Nox2 приводит к дисфункции эндотелия и развитию гипертензии [36].

Оксидаза Nox3 является O₂^{•-}-генерирующей оксидазой клеток внутреннего уха, ее ген экс-

прессируется в кохлеарном и вестибулярном сенсорном эпителии, а также в спиральном ганглии [37]. Nox3 выполняет ключевую роль в образовании отолитов — кристаллов бикарбоната кальция, являющихся компонентами отолитового аппарата в вестибулярном анализаторе, адекватными раздражителями для которого являются изменения положения головы, воздействие на организм гравитационных сил, прямолинейных и центробежных ускорений [18]. Предполагается, что Nox3 является конститутивно активным ферментом [36]. Усиление продукции АФК в клетках внутреннего уха происходит при действии ототоксических агентов и шума [38].

Участником процессов внутриклеточной сигнализации является H_2O_2 , продуцируемый Nox4. Оксидаза Nox4 выявлена во многих типах клеток, включая эндотелиоциты [39], фибробласты [40], кератиноциты [41], остеокласты [42], нейроны [43] и гепатоциты [44]. Высоким содержанием Nox4 характеризуются клетки почек [45]. В клетках Nox4 локализуется в плазматической мембране (в областях фокальных контактов), в мембранах эндоплазматического ретикулума и ядерных мембранах [46, 47]. В кардиомиоцитах Nox4 обнаружена в митохондриях [48], однако точная локализация и ориентация фермента в мембранах митохондрий неизвестна [49].

Nox5 локализована в плазматической мембране и ее ген экспрессируется в клетках селезенки [50], гладкомышечных клетках [51], эндотелиоцитах [52] и других типах клеток. Предполагается, что оксидаза Nox5 играет важную роль в регуляции пролиферации клеток [51]. Высокий уровень экспрессии гена данного фермента наблюдается во многих типах опухолевых клеток [53–55].

Двойные оксидазы Duox1 и Duox2 первоначально были обнаружены в клетках щитовидной железы, в которых они участвуют в биосинтезе тиреоидных гормонов [56]. Гены Duox1 и Duox2 также экспрессируются в клетках эпителия дыхательных путей [57] и предстательной железы [58]. Показано, что двойные оксидазы Duox1 и Duox2 участвуют в синтезе адениндинуклеотидфосфата никотиновой кислоты (НААДФ) и регуляции Ca^{2+} -сигнализации при активации Т-клеток [59].

В одних и тех же клетках могут экспрессироваться гены разных типов Nox-оксидаз. Скорость продукции $O_2^{\bullet-}$ различными оксидазами также различается. Разные изоформы НАДФН-оксидазы активируются разными стимулами, и, следовательно, вызывают разные клеточные отклики. Среди основных факторов, определяющих специфичность действия продуктов Nox, следует отметить субклеточную колокализацию фермента и мишени действия его продуктов, а также внутриклеточные редокс-условия.

Электрон-транспортная цепь митохондрий. Оксидоредуктазы митохондрий являются основным источником образования АФК для большинства клеток млекопитающих. Наиболее эффективными участками продукции $O_2^{\bullet-}$ являются комплекс I (НАДН-убихинон оксидоредуктаза, ЕС 7.1.1.2) и комплекс III (убихинол-цитохром с-оксидоредуктаза, ЕС 7.1.1.8) дыхательной цепи митохондрий.

Комплекс I дыхательной цепи митохондрий млекопитающих состоит из 44 субъединиц и имеет молекулярную массу 980 кДа [60]. Простетическими группами белка являются флавиномонуклеотид (ФМН) и восемь железосерных кластеров (N1a, N1b, N2, N3, N4, N5, N6a, N6b). Два электрона, поступающие от НАДН, переносятся через ФМН и железосерные центры на убихинон, который связывается с активным центром, расположенным внутри гидрофобной части мембраны.

Путь переноса электронов от НАДН к убихинону в комплексе I, проходящий через ФМН и железосерные кластеры, составляет более 100 Å. ФМН присоединяет сразу два электрона от НАДН и затем по одному электрону последовательно переносит их на кластер N3. Дальнейший перенос электронов осуществляется в последовательности N3→N1b→N4→N5→N6a→N6b→N2. Расстояние между редокс-центрами в электрон-транспортной цепи фермента составляет около 14 Å и соответствует максимально возможному расстоянию для переноса электрона в биологических системах путем туннелирования [61]. У большинства железосерных кластеров фермента редокс-потенциал составляет около –250 мВ. Наиболее высоким редокс-потенциалом характеризуется центр N2 ($E^0 = -100$ мВ). Именно через этот центр осуществляется передача электронов на убихинон. Перенос электронов с железосерных кластеров на убихинон ингибируется хиноноподобными ингибиторами — пестицидом ротеноном и антибиотиком пирицидином А.

Образование АФК в комплексе I происходит как при транспорте электронов от НАДН к убихинону (прямой электронный перенос), так и при транспорте от убихинола к НАД⁺ (обратный электронный перенос). Обратный электронный перенос наблюдается при высоком мембранном потенциале митохондрий и сопровождается большим выходом АФК [62]. Скорость генерации H_2O_2 изолированными митохондриями нейронов крысы при прямом электронном переносе в комплексе I составляет 0.06–0.40 нмоль H_2O_2 /мин на мг белка, а при обратном — 1.0–3.0 нмоль H_2O_2 /мин на мг белка [63]. Образование АФК при обратном переносе зависит от величины мембранного потенциала и увеличивается с

ростом потенциала [64]. Показано, что ротенон усиливает продукцию АФК в комплексе I при прямом электронном переносе и снижает образование АФК при обратном переносе [65].

В комплексе I компонентами, с которых возможен перенос электронов на O_2 , являются флавин, семиубихинон и не относящийся к основной цепи внутрибелкового переноса электронов железосерный центр N1a ($E^{0'} = -370$ мВ) в флавиносодержащей субъединице. Железосерный центр N1a выполняет функцию временного депо для электронов при интенсивном переносе с ФМН [66, 67]. Перенос электрона с железосерного кластера N1a на O_2 приводит к образованию $O_2^{\bullet-}$. Продуктами взаимодействия флавинового кофермента с молекулярным кислородом являются $O_2^{\bullet-}$ и H_2O_2 [68].

В изолированном комплексе I основным донором электронов для восстановления O_2 выступает ФМН [69]. В комплексе I, функционирующем в митохондриальной мембране, генерация $O_2^{\bullet-}$ происходит с участием семиубихиноновых радикалов ($CoQ^{\bullet-}$), образующихся при переносе электрона с железосерного кластера N2 на убихинон в активном центре фермента [65]. Семиубихиноны, генерируемые в комплексе III при протекании Q-цикла, также являются донорами электронов для одноэлектронного восстановления кислорода. Скорость образования семиубихинов (а, следовательно, и скорость образования АФК) зависит при этом от места их образования в комплексе III [70].

Перенос электронов в комплексе III блокируется антимицином А и миксотиазолом. Антимицин А блокирует перенос электронов от гема b_L к убихинону в центре связывания убихинона Q_N , расположенном вблизи матрикса митохондрий. Миксотиазол ингибирует передачу электрона от убихинола к железосерному белку вблизи наружной стороны внутренней мембраны (Q_P). Антимицин А и миксотиазол ингибируют транспорт электронов в комплексе III, но оказывают различное действие на процессы генерации $O_2^{\bullet-}$. Антимицин А блокирует переход электрона с гема b_H , вызывая увеличение генерации $O_2^{\bullet-}$ в комплексе III примерно в десять раз [70]. Ингибирование миксотиазолом образования убисемихионов с цитозольной стороны внутренней митохондриальной мембраны приводит к незначительному увеличению выхода $O_2^{\bullet-}$. Таким образом, наиболее интенсивная продукция $O_2^{\bullet-}$ дыхательной цепью при физиологических условиях наблюдается на внутренней мембране со стороны митохондриального матрикса. Следует

также отметить, что митохондрии разных тканей сильно различаются по относительным и абсолютным активностям участвующих в метаболизме АФК ферментов, а также по локальным концентрациям O_2 (печень, почки, эндотелий сосудов, легкие) [63].

Регуляция скорости окисления убихинолов является одним из ключевых этапов регуляции скорости переноса электронов в электрон-транспортной цепи и скорости генерации $O_2^{\bullet-}$ комплексом III. Показано, что образование $O_2^{\bullet-}$ максимально, если убихинол окислен на 25–30 % [71]. Генерация АФК митохондриями также модулируется $^{\bullet}NO$ посредством его обратимого связывания с гемовыми группами комплексов III и IV [72, 73].

В митохондриях наряду с комплексами электрон-транспортной цепи образование АФК может также протекать с участием ряда ФАД-содержащих оксидоредуктаз, включая сукцинатдегидрогеназу, дегидролипоямиддегидрогеназу, глицерол-3-фосфатдегидрогеназу, цитохром b_5 редуктазу, моноаминоксидазу и другие [74]. Однако вклад дыхательных комплексов в суммарную продукцию АФК выше вследствие их более высокого содержания в митохондриях.

Образование АФК в митохондриях является важным регуляторным фактором, необходимым для поддержания гомеостаза и адаптации к стрессу [75]. Изменение скорости генерации АФК митохондриями может выступать в качестве одного из механизмов переключения функциональной активности клеток. В последние годы интенсивно исследуется роль митохондриальных АФК при адаптации к гипоксии и в регуляции иммунитета, аутофагии, дифференцировки, апоптоза [76]. Увеличение продукции АФК в митохондриях при возрастных изменениях рассматривается в качестве ключевого фактора, инициирующего запуск дегенеративных процессов при старении [9, 77].

Супероксиддисмутазы. В клетках наиболее высокая скорость образования H_2O_2 наблюдается при катализируемой супероксиддисмутазами (СОД, ЕС 1.15.1.1) дисмутации $O_2^{\bullet-}$ [78]. Суперсемейство СОД подразделяется на три группы ферментов, различающихся по величине скорости реакции, строению и содержанию металлов переменной валентности. Первая группа ферментов включает семейство СОД, содержащих ионы меди и ионы цинка, и обозначается как Cu,Zn -СОД. Семейство ферментов, содержащих в активном центре ион железа или ион марганца, составляет второе семейство СОД и его члены обозначаются как Fe -СОД и Mn -СОД. К третьей группе ферментов относятся СОД, содержащие ион никеля (Ni -СОД).

Cu,Zn-СОД встречается во всех клетках эукариот и представляет собой гомодимер с молекулярной массой 32 кДа, состоящий из двух β -баррельных мономеров, активные центры которых располагаются на внешних петлях. Ион меди активного центра координирован четырьмя связями с атомами азота гистидинов боковых цепей [79]. Один из лигандов Cu^{2+} (His61) совместно с двумя другими аминокислотными остатками гистидина и остатком аспарагиновой кислоты координирует ион цинка. Считается, что ион меди обеспечивает каталитическую активность фермента, а ион цинка придает ему стабильность. Катализ протекает в две стадии: на первой стадии происходит восстановление иона меди $\text{O}_2^{\cdot-}$, на втором – его окисление.

Cu,Zn-СОД у человека и животных является, в основном, внутриклеточным ферментом. Только небольшие количества фермента присутствуют в плазме крови и цереброспинальной жидкости. У человека внеклеточная Cu,Zn-СОД (в отличие от внутриклеточной) является тетрамером, построенным из четырех одинаковых субъединиц. В клетках Cu,Zn-СОД преимущественно локализована в цитозоле [80].

Ген Mn-СОД экспрессируется в прокариотических и эукариотических клетках. У высших животных основным местом локализации Mn-СОД является матрикс митохондрий. Fe-СОД содержится в прокариотах и в хлоропластах растительных клеток [81]. Fe-СОД и Mn-СОД у одноклеточных являются гомодимерами. Mn-СОД человека – гомотетрамер с молекулярной массой 88 кДа. Ni-СОД обнаружена только у бактерий семейства *Streptomyces*, и поэтому является наименее распространенной формой СОД [82].

В организме человека распределение и содержание различных форм СОД зависит от типа ткани и изменяется при патологии. Увеличение экспрессии генов СОД наблюдается при диабете [83], онкологических [84, 85], нейродегенеративных [86] и сердечно-сосудистых заболеваниях [87].

РЕДОКС-ЦЕПИ КАК СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ МОДУЛИ СИГНАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ

При трансдукции сигналов в клетках с участием свободных радикалов (редокс-сигнализации) в серии электрон-транспортных процессов происходит направленный перенос электронов от белков к O_2 , что изменяет конформацию и активность биологических молекулярных «машин». В транспорте электронов от начального донора к конечному акцептору могут участвовать несколько посредников (редокс-активных соединений), создавая цепи направленного переноса электро-

нов или редокс-цепи [88, 89]. Изменение активности белков-мишеней происходит в результате окисления, главным образом, депротонированных тиоловых групп цистеиновых остатков [90, 91]. Данный механизм не является специфическим для ряда редокс-активных соединений и запускается как эндогенными, так и экзогенными акцепторами электронов. Важным фактором, определяющим биологический эффект действия АФК в клетках, является внутриклеточная колокализация фермента, генерирующего АФК, и белка-мишени [92]. Клеточная антиокислительная система ограничивает эффективность действия АФК на удаленные от источника белки-мишени. В связи с этим высокая концентрация АФК, необходимая для активации мишени, формируется только вблизи источника генерации окислителей. Источники генерации АФК, сами АФК и белки-мишени образуют единую цепь передачи информации, специфичность действия которой определяется типом мишени.

В настоящее время в литературе обсуждается ряд регуляторных механизмов, функционирование которых обеспечивается специализированными редокс-цепями. Примером комплексной молекулярной структуры, образованной группой взаимодействующих высокомолекулярных и низкомолекулярных соединений, являются кислород-чувствительные рецепторы в нейроэпителиальных тельцах легкого и каротидных тельцах. Одним из ключевых компонентов данного сенсора являются K^+ -каналы [93].

Функциональное состояние K^+ -каналов кислородного сенсора регулируется посредством редокс-зависимого механизма: образование дисульфидов приводит к открытию канала, тогда как их восстановление – к закрытию [94]. В.П. Скулачев рассматривал K^+ -каналы как неотъемлемый компонент H_2O_2 -сенсоров высших животных, один из которых расположен в нейроэпителиальных тельцах легкого и отвечает за сужение дыхательных путей при повышении уровня H_2O_2 , а второй выполняет ту же функцию применительно к кровеносным сосудам, находясь в каротидных тельцах [95]. Повышение концентрации H_2O_2 увеличивает число открытых K^+ -каналов, что приводит к гиперполяризации клеточной мембраны и ингибированию секреции нейротрансмиттеров. Гипоксия, наоборот, приводит к снижению концентрации H_2O_2 в нейроэндокринных клетках, что индуцирует закрытие K^+ -каналов, деполяризацию мембраны, активацию потенциал-зависимых Ca^{2+} -каналов и последующую секрецию нейротрансмиттеров [94].

В гломусных клетках каротидных телец источником H_2O_2 для регуляции активности K^+ -кана-

лов являются оксидоредуктазы митохондрий [96]. Предполагается, что ключевую роль в работе хеморецептора O_2 выполняет митохондриальный комплекс I [97]. Клетки каротидных телец содержат большое количество митохондрий, расположенных вблизи содержащей K^+ -каналы плазматической мембраны, в результате чего формируются « O_2 -чувствительные микродомены» [97, 98]. Редокс-цепь в этом случае образована колокализированными митохондриальным комплексом I и H_2O_2 -чувствительным K^+ -каналом плазматической мембраны, связь между которыми осуществляется с участием АФК.

В нейроэпителиальных тельцах легких O_2 -чувствительным компонентом хеморецептора O_2 является НАДФН-оксидаза, а именно – Nox2 [99, 100]. Показано, что в нейроэндокринных клетках нейроэпителиальных телец легких происходит коэкспрессия мРНК для НАДФН-оксидазы и H_2O_2 -чувствительного K^+ -канала [101]. У мышей, нокаутированных по $gp91^{phox}$, наблюдается нарушение ответа на гипоксию [99, 102]. Таким образом, структурной основой хеморецептора O_2 в нейроэпителиальных тельцах является редокс-цепь, включающая колокализированные в плазматической мембране белки НАДФН-оксидазу и H_2O_2 -чувствительный K^+ -канал.

В гладкомышечных клетках сосудов активация редокс-цепи, содержащей НАДФН-оксидазу, происходит при регуляции вазомоторной функции организма. Показано, что при действии ангиотензина II в результате фосфорилирования активируется Nox1 [103]. Пероксид водорода, образующийся при дисмутации продуцируемого Nox1 супероксида, ингибирует Ca^{2+} -каналы Т-типа плазматической мембраны гладкомышечных клеток, что уменьшает частоту кальциевых колебаний и усиливает сужение артерий [104]. Эффективное ингибирование именно Ca^{2+} -каналов Т-типа обеспечивается близкой колокализацией белков в пределах клеточной мембраны. Показано, что фермент Nox1 и мишень действия его продуктов Ca^{2+} -канал ($Ca_v3.2$) располагаются в caveолах плазматической мембраны в пределах 40 нм [104, 105]. Таким образом, вазоконстрикция при действии ангиотензина II обеспечивается редокс-цепью, включающей колокализированные в caveолах плазматической мембраны гладкомышечных клеток белки Nox1 и H_2O_2 -чувствительный Ca^{2+} -канал.

Редокс-цепи, содержащие колокализированные в мембране ферменты семейства Nox и тирозинфосфатазы, играют важную роль при передаче сигналов, опосредованных активацией рецепто-

ров с тирозинкиназной активностью. Одним из первых был описан путь передачи сигналов с участием АФК, инициируемый рецепторами инсулина [106]. При действии инсулина усиление фосфорилирования происходит путем ингибирования тирозинфосфатазы РТР1В с участием H_2O_2 , продуцируемого Nox4 [107, 108]. РТР1В, также как и Nox4, является ассоциированным с инсулиновым рецептором белком [109], в результате чего обеспечивается эффективное функционирование редокс-цепи и достигается адресная инактивация тирозинфосфатазы H_2O_2 .

Внутриклеточная локализация структур, продуцирующих АФК, является важным фактором, определяющим специфичность действия окислителей при апоптозе. Показано, что механизм аскорбат-зависимой регуляции Ca^{2+} -сигналикации при апоптозе клеток включает усиление локальной продукции АФК с участием оксидоредуктаз электрон-транспортной цепи митохондрий [110, 111]. Обнаружено, что основным компонентом масла черного тмина (*Nigella sativa*) тимохинон, инициирующий более низкий выход АФК в сравнении с 1,4-бензохиноном, более токсичен в отношении опухолевых клеток [112]. Высокая в сравнении с 1,4-бензохиноном токсичность тимохинона обусловлена активацией редокс-сигнального механизма запуска апоптоза, ключевым элементом которого является колокализация митохондриальных оксидоредуктаз, участвующих в продукции окислителей, и соответствующего редокс-сенсора – АДФ/АТФ-транслоказы [113, 114]. Показано, что изменение редокс-свойств клеток, ведущее к увеличению концентрации восстановителей, вызывает ослабление индукции апоптоза и способствует формированию лекарственной устойчивости опухолевых клеток [115]. С другой стороны, уменьшение содержания восстановителей повышает токсичность противоопухолевых агентов [115]. Таким образом, одним из факторов, определяющих специфичность отклика клеток на действие редокс-активных соединений, является внутриклеточное редокс-состояние, характеризующее определенный редокс-гомеостаз.

НАРУШЕНИЯ РЕДОКС-СИГНАЛИЗАЦИИ КАК ОСНОВА РАЗВИТИЯ ПАТОЛОГИИ

В настоящее время нарушения функционирования биосистем связывают не столько со свободнорадикальным повреждением, сколько с нарушением процессов переноса электронов между макромолекулами и редокс-активными соединениями. В 2008 г. Д. Джонс в противовес свободнорадикальной гипотезе повреждения биосистем выдвинул «редокс-гипотезу», основанную на четырех постулатах [116]: 1) Все биологические системы содержат редокс-элементы, которые функ-

ционируют в клеточной сигнализации, движении макромолекул и физиологической регуляции; 2) организация и координация редокс-активности этих элементов осуществляется через редокс-цепи, включающие общие контролирующие узлы (т.е. тиоредоксина, глутатиона); 3) редокс-чувствительные элементы пространственно и «кинетически» изолированы, так что вентильные (ключевые) редокс-цепи могут быть активированы транслокацией/агрегацией и/или каталитическими механизмами; 4) окислительный стресс представляет собой нарушение функционирования этих цепей, вызванное конкретной реакцией с тиольными редокс-чувствительными элементами при изменении путей переноса электронов или разрывом «вентильных» механизмов, контролирующих поток через эти пути. Таким образом, в рамках данной гипотезы патологические нарушения в организме могут возникать не только в результате прямого повреждения биомолекул окислителями (что уже изучается на протяжении многих лет), но и в результате нарушения процессов сигнализации с участием АФК и антиоксидантов.

Переоценка роли свободнорадикальных процессов в функционировании организмов привела к изменению ряда основных понятий свободно-радикальной медицины, включая понятие «окислительный стресс». В соответствии с современным определением окислительный стресс – это дисбаланс между окислителями и восстановителями в пользу окислителей, ведущий к нарушению редокс-сигнализации и контроля и/или к повреждению макромолекул [117]. Важным аспектом современного понимания проблемы редокс-регуляции в биологических системах является обоснование того факта, что нарушение редокс-сигнальных процессов может происходить не только в результате повышения концентрации окислителей, но и в результате накопления восстановителей в клетке, что характеризуется как восстановительный стресс [118, 119]. При высоком содержании восстановителей в клетке окислители, продуцируемые в физиологических процессах, уже не могут активировать специфические мишени. Восстановительный стресс следует рассматривать как дисбаланс между окислителями и восстановителями в пользу восстановителей, ведущий к нарушению редокс-сигнализации и функционирования клеток.

Значительное повышение содержания антиоксидантов наблюдается в опухолевых клетках [120, 121]. В результате повышения концентрации антиоксидантов нарушается редокс-сигнализация, что способствует изменению клеточного функционирования и развитию химиорезистентности [115, 122]. Показано также, что усиление восстановительных процессов играет важную роль в этиологии сердечно-сосудистых заболева-

ний. Ключевым молекулярным событием, связанным с восстановительным стрессом в патофизиологии сердечно-сосудистых заболеваний является, вероятно, нарушение пространственной структуры белков, вызванное снижением числа внутримолекулярных дисульфидных связей в присутствии высоких концентраций восстановителей. В результате изменения редокс-потенциала цистеиновых остатков боковых цепей на поверхности появляются гидрофобные аминокислотные остатки и усиливается агрегация белков, что способствует развитию кардиомиопатии [123, 124].

В модельных экспериментах на животных показано, что сверхэкспрессия генов белков антиокислительной системы может индуцировать развитие патологических состояний, характерных и для других заболеваний [125]. Так, глобальная сверхэкспрессия гена глутатионпероксидазы 1 (ЕС 1.11.1.9) у не страдающих ожирением мышей вызывает гипергликемию, инсулинорезистентность и гипертрофию β -клеток поджелудочной железы [126]. Лауреат Нобелевской премии Д. Уотсон предположил, что нарушение пространственной структуры белков, обусловленное восстановительным стрессом, способствует развитию диабета 2 типа, деменции, сердечно-сосудистых заболеваний и некоторых форм рака [127]. В качестве возможного профилактического средства данных заболеваний Д. Уотсон рассматривает физические упражнения, поскольку их выполнение сопровождается повышением продукции АФК.

Молекулярные механизмы, объясняющие благоприятное действие физических нагрузок в продлении жизни и профилактике многих заболеваний, могут быть обусловлены кратковременным усилением продукции АФК в митохондриях скелетных мышц [128]. В экспериментах *in vivo* показано, что использование антиоксидантных препаратов после физических нагрузок блокирует развитие адаптационных метаболических изменений [129]. Повышение митохондриальной продукции АФК также запускает адаптационный ответ клеток при гипоксии, холодовой адаптации и тепловом стрессе [14]. Таким образом, направленная коррекция редокс-гомеостаза клеток открывает новые возможности регуляции свойств клеток в норме и при патологии.

ГЕНЕТИЧЕСКИ ОПОСРЕДОВАННЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ РЕДОКС- ГОМЕОСТАЗА КЛЕТКИ

Направление и скорость переноса электронов в редокс-цепях зависят от соотношения концентраций внутриклеточных редокс-мессенджеров, которое определяется редокс-гомеостазом клетки. Поддержание редокс-гомеостаза является ос-

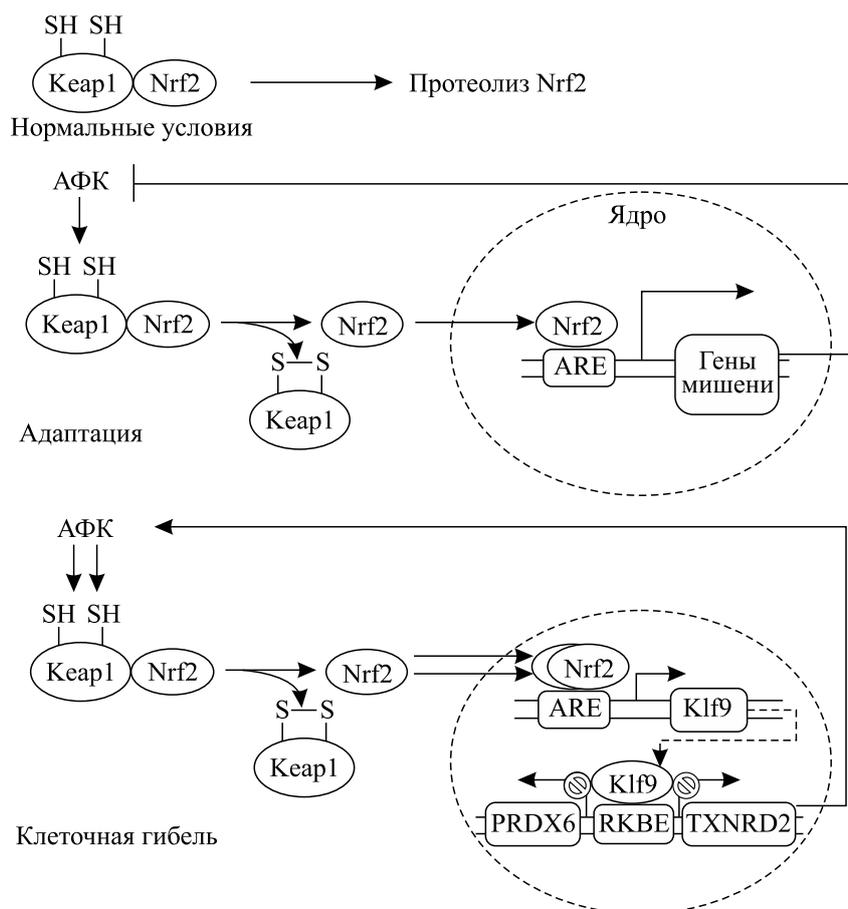


Рис. 2. Механизмы переключения Nrf2-зависимой экспрессии генов. ARE – антиоксидант-респонс(ив)ный элемент (antioxidant response element), Keap1 – Kelch-подобный ECH-ассоциированный протеин 1 (Kelch-like ECH-associated protein 1), Klf9 – Kruppel-подобный фактор 9 (Kruppel-like factor 9), Nrf2 – транскрипционный фактор 2 семейства NFE (NF-E2-related factor 2), Duox – двойная оксидаза (Dual oxidase), Nox – НАДФН оксидаза (NADPH oxidase), Prx6 – пероксиредоксин 6, TXNRD2 – тиоредоксинредуктаза 2, RKBE – repressive Klf9 binding element.

новой нормальной жизнедеятельности клеток и осуществляется в результате сопряженного функционирования систем генерации АФК и антиокислительной защиты, а также систем трансмембранного транспорта редокс-активных соединений [130]. Структурно-функциональные перестройки редокс-гомеостаза клеток млекопитающих регулируются, главным образом, транскрипционным фактором 2 семейства NFE (Nrf2 – NF-E2-related factor 2), активность которого контролируется с участием редокс-зависимого адаптерного белка Keap1 (Kelch-like ECH-associated protein 1) [131].

В нормальных условиях Keap1 нековалентно связывает Nrf2, что обуславливает направленный транспорт и деградацию фактора транскрипции в 26S-протеасомах (рис. 2) [132]. Умеренный окислительный стресс и электрофильные агенты в результате модификации тиоловых групп цистеиновых остатков Keap1 нарушают взаимодействие в комплексе Keap1–Nrf2 и активируют тран-

скрипцию сотен генов, участвующих в защите клеток и адаптации к окислительному стрессу [133].

Белок Keap1 человека содержит 27 доступных для окислительной модификации цистеинов (4.3% от всех аминокислот). Критическими для формирования комплекса Nrf2–Keap1 являются цистеины Cys273 и Cys288, которые могут связывать ионы металлов в гомодимере Keap1 [134]. Еще одним необходимым для снятия репрессии транскрипционного фактора Nrf2 аминокислотным остатком адаптерного белка является Cys151. В условиях окислительного стресса и при действии электрофилов к этому остатку ковалентно присоединяется множество различных низкомолекулярных соединений, образующих устойчивые к действию восстановителей модификации Keap1, что нарушает взаимодействие с Cul3–E3-лигазой [135]. Последовательности из 6–9 аминокислот, включающие Cys151, Cys273 и Cys288, идентичны у мыши, крысы и человека, что свиде-

тельствует об их физиологической важности [136].

Алкилирование критических остатков цистеина на одной молекуле Keap1 электрофилами приводит к нарушению убиквитирования и стабилизации Nrf2. Активаторами Nrf2 являются такие группы соединений, как акцепторы Михаэля, изотиоцианаты, геминальные дитиолы, сероорганические и селеносодержащие соединения, гидрпероксиды и нитрозирующие агенты [137, 138]. Активация Nrf2 наблюдается также при действии многих природных и синтетических фенольных антиоксидантов [139, 140]. Важно отметить, что электрофильные Nrf2-активирующие формы антиоксидантов образуются при взаимодействии фенолов с внутриклеточными АФК [141]. Образование электрофилов происходит в результате двухэлектронного окисления-восстановления, в котором могут участвовать полифенолы со взаимным *орто*- и *пара*-, но не *мета*-расположением гидроксильных групп [142]. Таким образом, внутриклеточная продукция АФК является важным фактором, определяющим специфичность регуляторного действия антиоксидантов. Какой именно из 27 цистеинов в Keap1 подвергается алкилированию, по-видимому, зависит как от конкретного электрофила, так и от его концентрации [143, 144]. Наиболее реакционноспособным по отношению к природному индуктору Nrf2 сульфорафану цистеиновым остатком Keap1 является Cys489 [144], тогда как Cys273 и Cys288 наиболее реакционноспособны по отношению к модельному алкилирующему агенту мезилату дексаметазона [143]. Кроме того, H₂O₂ также может активировать Nrf2, вызывая образование дисульфидов в молекулах Keap1 [145, 146].

Активация Nrf2 приводит к его транспорту в ядро и связыванию с антиоксидант-респонсивным элементом ARE [147]. Среди генов-мишеней Nrf2, в промоторных областях которых содержится регуляторная последовательность ARE, важное значение для функционирования антиоксидательной системы клеток имеют гены каталазы, глутатионредуктазы, глутатионпероксидаз, глутатион-S-трансфераз, тиоредоксинов, глутаредоксинов, пероксиредоксинов, тиоредоксинредуктаз, и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы [148, 149]. Под контролем фактора транскрипции Nrf2 находятся также ключевые белки метаболизма глутатиона, увеличение концентрации которого способствует выживанию клеток в стрессовых условиях [148, 150].

Ключевая роль системы Keap1–Nrf2 в адаптации клеток при стрессовых воздействиях позволяет рассматривать ее в качестве потенциальной мишени для терапии широкого спектра заболеваний [131, 140]. Однако при превышении определенного порога активации Nrf2 запускается экс-

прессия генов, продукты которых способствуют развитию окислительного стресса и последующей гибели клеток (рис. 2). Показано, что Nrf2 усиливает продукцию АФК, опосредованную митохондриями и НАДФН-оксидазой [151]. При высокой транскрипционной активности Nrf2 увеличивается экспрессия гена фактора транскрипции Klf9 (Kruppel-like factor 9) [152].

Klf9 принадлежит к семейству Kruppel-подобных факторов транскрипции (KLF) и играет важную роль в онкогенезе, дифференцировке и гибели клеток [153, 154]. Klf9 действует как активатор или как репрессор в зависимости от количества GC-элементов, присутствующих в промоторе генов-мишеней в разных типах клеток [155, 156]. Гены, промоторы которых имеют множественные или повторяющиеся GC-боксы, активируются Klf9, в отличие от генов с одним GC-боксом, которые репрессируются Klf9 [157]. Klf9 является индуцибельным фактором транскрипции, синтез которого стимулируется различными стрессорами. Аберрантная экспрессия гена Klf9 при действии стрессоров вызывает опосредованную окислителями гибель клеток [153]. Показано, что синтез Klf9 при высокой транскрипционной активности Nrf2 в результате взаимодействия с сайтом связывания RKBE (repressive Klf9 binding element) подавляет экспрессию генов митохондриальных антиоксидантных ферментов тиоредоксинредуктазы 2 и пероксиредоксина 6 [152, 158]. Низкая активность антиоксидантных ферментов в митохондриях приводит к смещению редокс-баланса в пользу окислителей и к последующей АФК-индуцированной гибели клеток. Передача сигнала через путь Nrf2/Klf9/Prx6 рассматривается как молекулярный механизм переключения от редокс-регуляции к сверхпродукции АФК и гибели клеток [159, 160]. Таким образом, фактор транскрипции Nrf2 является важным регулятором редокс-гомеостаза клеток, способным усиливать как восстановительные, так и окислительные процессы в клетках. Наличие обратной связи в системе регуляции редокс-гомеостаза может лежать в основе гормезисных эффектов АФК, благоприятных при низких концентрациях и токсических при высоких [140, 161]. Ключевым вопросом регуляции системы является вопрос о детектировании и преобразовании системой Keap1–Nrf2 различных внутриклеточных окислительных и электрофильных стимулов.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ РЕГУЛЯЦИИ РЕДОКС-ЦЕПЕЙ И ПАРАМЕТРЫ РЕДОКС-ГОМЕОСТАЗА

Сопряженное функционирование систем регуляции редокс-гомеостаза осуществляется группой взаимодействующих редокс-активных соединений, для количественной характеристики ста-

ционарного состояния которой предложены три подхода [162]. Наиболее широкое использование в редокс-биологии получил подход, предложенный Ф. Шаффер и Г. Бюттнером в 2001 г. [163]. Согласно данному подходу для количественного описания набора связанных между собой редокс-пар вводится понятие «редокс-окружение» («redox environment»), которое является суммой восстановительных потенциалов редокс-пар, обнаруженных в биологических жидкостях, органеллах, клетках или тканях, умноженных на концентрацию восстановленных форм в редокс-парах. В математических терминах «редокс-окружение» представлено выражением (1):

$$\text{редокс-окружение} = \sum_{i=1}^k c_i E_i, \quad (1)$$

где E_i – восстановительный потенциал i -й редокс-пары, c_i – концентрация восстановленной формы i -й редокс-пары. Однако единицы результатов расчета в выражении (1) не позволяют интерпретировать полученные данные относительно известных единиц измерения, поэтому в 2004 г. Дж. Хэнкок с коллегами предложили модифицировать выражение (1) путем учета усредненного вклада соединений [164]:

$$\text{редокс-окружение} = \frac{\sum_{i=1}^k c_i E_i}{\sum_{j=1}^k c_j}, \quad (2)$$

где c – суммарная концентрация редокс-пары. В том же году нами для количественной характеристики группы взаимодействующих редокс-активных соединений было теоретически обосновано применение эффективного редокс-потенциала [165, 166]:

$$E^{\text{эфф}} = \frac{\sum_{i=1}^k z_i c_i E_i}{\sum_{j=1}^k z_j c_j}, \quad (3)$$

где $E^{\text{эфф}}$ – эффективный редокс-потенциал среды, E_i – стандартный восстановительный потенциал i -й редокс-пары при pH 7.0, c_i – концентрация восстановленной формы i -й редокс-пары, z_i – число электронов, которые присоединяет молекула окисленной формы вещества, переходя в восстановленную форму. Величина $E^{\text{эфф}}$, также как и величина «редокс-окружения», определяется редокс-потенциалами и концентрациями участников окислительно-восстановительных процессов. Однако, в отличие от расчетного параметра «редокс-окружение», параметр $E^{\text{эфф}}$ имеет

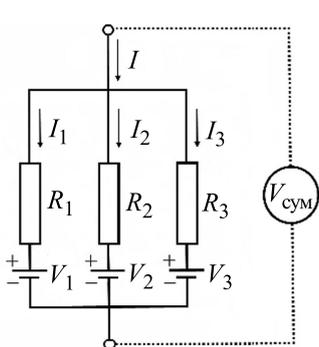
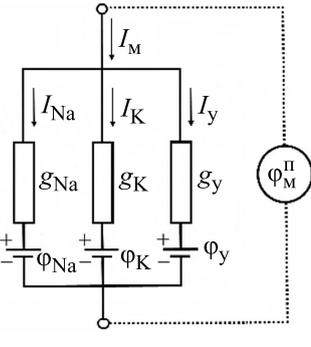
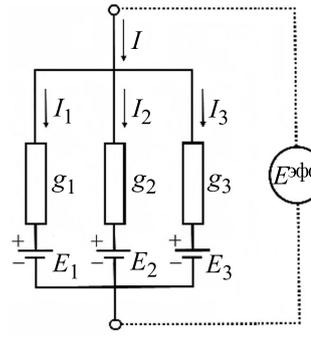
конкретный физический смысл и его можно измерить [167].

Показано, что процессы, протекающие с участием редокс-цепей, могут быть количественно охарактеризованы по аналогии с электрическими цепями [88]. При этом основные закономерности функционирования редокс-цепей являются следствием выполнения законов сохранения заряда и энергии в системе. Важно отметить, что единые закономерности, проявляемые в различных биологических процессах, описываются на основе сходных эквивалентных электрических цепей. Аналогия между электрическими цепями, ионными токами в мембране и редокс-цепями проиллюстрирована данными, представленными в табл. 1.

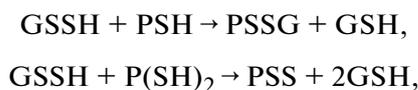
Направленный перенос электронов в клеточных окислительно-восстановительных процессах можно рассматривать как аналог электрического тока. Если направление движения электронов в электрической цепи задается напряжением (разностью электрических потенциалов), то направление движения электронов в редокс-реакциях задается разностью редокс-потенциалов. Концентрация редокс-активных соединений определяет «проводимость» редокс-цепи, также как и проводимость мембраны для ионов зависит от концентрации носителей заряда. Чем больше молекул участвует в передаче заряда по редокс-цепи, тем больший по величине заряд они могут перенести от начального донора к конечному акцептору.

С учетом проводимости эффективный редокс-потенциал может быть рассчитан как взвешенная сумма равновесных редокс-потенциалов. Взвешивающий фактор для каждого редокс-активного соединения представляет собой отношение «проводимости» g_i , опосредованной соединением i -го типа, к суммарной «проводимости» системы $g_{\text{сум}}$. Мембранный потенциал покоя также представляет собой взвешенную сумму равновесных редокс-потенциалов Нернста для всех транспортируемых через мембрану ионов, а взвешивающий фактор для каждого иона представляет собой отношение мембранной проводимости для иона g_i к суммарной мембранной ионной проводимости $g_{\text{сум}}$. Таким образом, $E^{\text{эфф}}$ представляет собой суммарную ЭДС для цепи взаимодействующих редокс-активных соединений. Величины параметров редокс-свойств молекул и клеток, выражаемые с помощью потенциала Нернста (для однокомпонентных систем – молекул) и эффективного редокс-потенциала (для многокомпонентных систем – клеток), являются важными характеристиками биосистем, взаимосвязь которых со многими свойствами клеток остается не изученной до сих пор.

Таблица 1. Сходство и различия электрических и редокс-цепей

	Электрические цепи	Ионные токи в мембране	Редокс-цепи
Эквивалентная электрическая схема	 <p>где I_i – сила тока i-го элемента цепи, I – общая сила тока, R_i – сопротивление i-го элемента цепи, V_i – падение напряжения i-го элемента цепи, $V_{\text{сум}}$ – суммарное ЭДС цепи</p>	 <p>где I_i – мембранный ток для i-го иона, I_M – суммарный мембранный ток, g_i – проводимость мембраны для иона i-го типа, ϕ_i – потенциал Нернста для i-го иона, ϕ_M^n – мембранный потенциал покоя</p>	 <p>где g_i – проводимость i-го элемента цепи, E_i – стандартный редокс-потенциал участников реакций, $E^{\text{эфф}}$ – эффективный редокс-потенциал</p>
Носители заряда	Электроны или ионы	Ионы	Электроны
Проводимость элемента цепи	$g_i = \frac{1}{R_i}$	$g_i = \frac{z_i c_i F u_{ei} S}{d}$ где z_i – заряд иона, c_i – концентрации ионов в мембране, u_{ei} – электрическая подвижность иона, S – площадь мембраны, d – толщина мембраны	$g_i = z_i c_i$
Суммарная проводимость цепи	$g_{\text{сум}} = \sum_{i=1}^k g_i$	$g_{\text{сум}} = \sum_{i=1}^k g_i$	$g_{\text{сум}} = \sum_{i=1}^k g_i$
Физико-химический параметр состояния покоя	Электродвижущая сила (ЭДС) цепи $V_{\text{сум}} = \sum_{i=1}^k \frac{g_i}{g_{\text{сум}}} V_i$	Мембранный потенциал покоя (ϕ_M^n) $\phi_M^n = \sum_{i=1}^k \frac{g_i}{g_{\text{сум}}} \phi_i$	Эффективный редокс-потенциал ($E^{\text{эфф}}$) $E^{\text{эфф}} = \sum_{i=1}^k \frac{g_i}{g_{\text{сум}}} E_i$
Клеточные сенсоры		Сенсор напряжения – лизиновые и аргининовые группы белков	Сенсор напряжения – цистеиновые группы белков

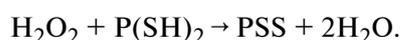
Согласно выражению (1), «редокс-окружение» является расчетной величиной, которую нельзя измерить. Если известны концентрации всех участников и их редокс-потенциалы, то данный параметр может быть рассчитан. В экспериментальных исследованиях величину «редокс-окружения» связывают с редокс-потенциалом глутатиона $E_{GSSG/2GSH}$, который рассчитывается с помощью уравнения Нернста на основе измеренных концентраций окисленного и восстановленного глутатиона. Считается, что при изменении редокс-состояния глутатиона изменяется редокс-состояние белковых тиолов, которые являются нанопереклочателями в процессах трансдукции сигналов с участием глутатиона и характеризуются следующими реакциями [163]:



где PSH – белковый тиол, PSSG – смешанный белковый дисульфид (глутатиолированный белок), P(SH)₂ – два белковых тиола, PSS – белковый дисульфид. Данный подход основывается на предположении, что все тиол/дисульфидные редокс-пары клетки находятся в состоянии термодинамического равновесия [163]. Однако многочисленные экспериментальные исследования не подтвердили данного предположения [168, 169]. Тиол/дисульфидные редокс-пары участвуют в окислительно-восстановительных реакциях как между собой, так и в реакциях с другими окислителями и восстановителями. В результате предположение о том, что редокс-состояние пары GSSG/2GSH может регулировать состояние белковых тиолов, подвергается критике со стороны ряда исследователей [169, 170].

Мы предполагаем, что тиолсодержащие соединения стремятся к равновесию со средой, поскольку участвуют в реакциях не только с глутатионом, но и с другими редокс-активными соединениями. Иначе говоря, редокс-сенсоры, в качестве которых могут рассматриваться внутриклеточные редокс-пары и тиолы белка, являются сенсорами изменений интегральных параметров редокс-состояния клетки ($E^{\text{эфф}}$), а не сенсорами изменений редокс-состояния одной редокс-пары ($E_{GSSH/2GSH}$).

Рассмотрение взаимодействия H₂O₂ с тиолами белков как альтернативного процесса реакциям с антиоксидантами показало, что белковые тиолы являются нанопереклочателями в процессах трансдукции сигналов, изменение состояния которых регулируется H₂O₂ и описывается следующей реакцией [115, 171]:



С учетом реакций H₂O₂ с восстановителями зависимость количества окисленных тиолов от концентрации восстановителей и окислителя выражается функцией [115]:

$$[PSS] = c_0 \frac{1}{1 + \frac{\sum_{i=1}^n z_i c_i}{z_{\text{ок}} c_{\text{ок}}}} \quad \text{или} \quad [PSS] \approx \Delta E^{\text{эфф}}, \quad (4)$$

где c_0 – общая концентрация окисленных и восстановленных SH-групп белкового сенсора, $c_{\text{ок}}$ – концентрация окислителя, $\Delta E^{\text{эфф}}$ – изменение величины эффективного редокс-потенциала.

Согласно выражению (4), величина изменения редокс-состояния сенсора зависит от суммарной концентрации редокс-активных групп. В этой связи, если внутриклеточная концентрация глутатиона значительно выше, чем концентрации других редокс-активных соединений, то именно значение редокс-потенциала глутатиона ближе всего к значению $E^{\text{эфф}}$. Однако во внеклеточной среде, в которой содержание цистеина значительно выше, чем глутатиона, именно, редокс-потенциал цистеина более точно отражает изменения редокс-состояния [172]. Предложенный подход позволяет теоретически обосновать наличие и рассчитать величину различий в значениях редокс-потенциалов тиолсодержащих соединений [88].

Следует отметить, что количество окисленных групп сенсора, а, следовательно, и запускаемый им биологический ответ, определяется величиной изменения редокс-потенциала, которая, в свою очередь, зависит от концентрации антиоксидантов. При увеличении концентрации антиоксидантов число молекул H₂O₂, которые взаимодействуют с тиолами сенсора, уменьшится, что снизит количество окисленных групп сенсора и вызовет снижение биологического ответа, обусловленного действием АФК.

Теоретически показано, что зависимость $\Delta E^{\text{эфф}}$ от концентрации введенного в систему окислителя ($c_{\text{ок}}$) в двойных обратных координатах описывается уравнением прямой с наклоном $k_{\text{см}}/\Delta E_{\text{max}}^{\text{эфф}}$ и пересечениями: по оси ординат в точке $1/\Delta E_{\text{max}}^{\text{эфф}}$ и по оси абсцисс в точке $-1/k_{\text{см}}$ [169, 171]:

$$\frac{1}{\Delta E^{\text{эфф}}} = \frac{1}{\Delta E_{\text{max}}^{\text{эфф}}} + \frac{k_{\text{см}}}{\Delta E_{\text{max}}^{\text{эфф}}} \frac{1}{c_{\text{ок}}}, \quad \text{где} \quad k_{\text{см}} = \frac{\sum_{i=1}^n c_i z_i}{z_{\text{ок}}}, \quad (5)$$

где $\Delta E_{\text{max}}^{\text{эфф}} = E_{\text{ок}} - E_0^{\text{эфф}}$ – максимальное изменение величины эффективного редокс-потенциала,

возможное при условии $c_{\text{ок}} \gg c_{\text{вос}}$, $E_{\text{ок}}$ — стандартный редокс-потенциал окислителя при рН 7,0, $E_0^{\text{эфф}}$ — начальное значение эффективного редокс-потенциала. Константа $k_{\text{ем}}$ имеет размерность концентрации и численно равна концентрации окислителя, при которой изменение величины эффективного редокс-потенциала составляет половину своего максимального значения. Из выражений (4) и (5) следует, что для определения редокс-состояния среды можно использовать различные индикаторы, проводя их калибровку на основе редокс-титрования [14, 171]. Величина константы $k_{\text{ем}}$ определяет редокс-буферную емкость системы r , характеризующую способность системы сохранять величину эффективного редокс-потенциала при изменении концентрации редокс-активных соединений [171, 173]:

$$r(E^{\text{эфф}}) = \frac{\partial c_{\text{ок}}}{\partial E^{\text{эфф}}} = \frac{\sum_{i=1}^k c_i z_i}{z_{\text{ок}} \cdot \Delta E_{\text{max}}^{\text{эфф}}} = \frac{k_{\text{ем}}}{\Delta E_{\text{max}}^{\text{эфф}}}. \quad (6)$$

Из выражения (6) с учетом выражения (5) также следует, что для внутриклеточных редокс-условий с низкими концентрациями окислителя

$c_{\text{ок}} (c_{\text{ок}} \ll \sum_{i=1}^k c_i z_i)$ зависимость величины изменения эффективного редокс-потенциала от концентрации окислителя и редокс-буферной емкости может быть выражена соотношением:

$$\Delta E^{\text{эфф}} \approx \frac{c_{\text{ок}}}{r}. \quad (7)$$

Таким образом, редокс-буферная емкость является значимым физико-химическим показателем внутриклеточных редокс-свойств, определяющим тип ответа клеток на действие редокс-активных соединений и наноматериалов, и служит показателем сохранения редокс-гомеостаза, поскольку его регуляция осуществляется через модуляцию синтеза антиоксидантов. Величина изменения редокс-буферной емкости используется для количественной оценки устойчивости клеток к стрессу [115, 174], химио- и радиорезистентности клеток [115, 175], выраженности патологических изменений клеток [167], антиоксидантной емкости клеток [176, 177], регуляторных свойств биологически активных наночастиц [178, 179].

Развитие эффективных методов антиоксидантной терапии и редокс-медицины невозможно без учета специфических особенностей редокс-гомеостаза клеток в норме и при патологии [139, 180]. Количественная характеристика уникальной структуры взаимодействий, определяющих характерные видовые и индивидуальные особенности редокс-гомеостаза, является важ-

ным этапом при разработке подходов дифференциации физиологических и патофизиологических процессов с участием свободных радикалов. Дальнейшие исследования должны быть направлены на выявление молекулярных особенностей организации редокс-цепей и закономерностей изменения их физико-химических свойств. Задача состоит в выработке новых понятий и физических моделей, которые в законченном виде в настоящее время не существуют. Одной из ключевых проблем является установление фундаментальных физико-химических механизмов, определяющих взаимодействие структурных компонентов в сетевых процессах регуляции редокс-гомеостаза.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (грант № Б22-045 и российско-белорусский грант РФФИ/БРФИ (№23-45-10026 и № Б23РФ-093, соответственно). Описание механизмов регуляции функционирования НАДФН-оксидазы в клетках поддержано Российским научным фондом, грант №23-45-10026, в ходе выполнения которого запланировано исследование ее активации.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит описания исследований с участием людей и животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. R. Gerschman, D. L. Gilbert, S. W. Nye, et al., *Science*, **119** (3097), 623 (1954).
2. Б. Н. Тарусов, *Основы биологического действия радиоактивных излучений* (Медгиз, М., 1954).
3. Н. М. Эмануэль, *Тр. Моск. об-ва испыт. природы*, **7**, 73 (1963).
4. Н. М. Эмануэль, Р. Е. Кавецкий, Б. Н. Тарусов и др., *Биофизика рака* (Наук. думка, Киев, 1976).
5. A. Boveris and V. Chance, *Biochem. J.*, **134** (3), 707 (1973).
6. E. Cadenas, *Ann. Rev. Biochem.*, **58** (1), 79 (1989).
7. D. Harman, *J. Gerontol.*, **11** (3), 298 (1956).
8. В. Х. Хавинсон, В. А. Баринов, А. В. Арутюнян и др., *Свободнорадикальное окисление и старение* (Наука, СПб, 2003).

9. Н. К. Зенков, П. М. Кожин, А. В. Чечушков и др., *Успехи геронтологии*, **33** (1), 10 (2020).
10. А. Ф. Ванин и Р. М. Налбандян, *Биофизика*, **10**, 167 (1965).
11. А. Ф. Ванин, Л. А. Блюменфельд и А. Г. Четвериков, *Биофизика*, **12** (5), 829 (1967).
12. L. J. Ignarro, *Biosci. Rep.*, **19** (2), 51 (1999).
13. H. Sauer, M. Wartenberg, and J. Hescheler, *Cell. Physiol. Biochem.*, **11**, 173 (2001).
14. Г. Г. Мартинович, *Активные формы кислорода в регуляции функций и свойств клеток: явления и механизмы* (БГУ, Минск, 2021).
15. U. Forstermann and W. C. Sessa, *Eur. Heart J.*, **33** (7), 829 (2012).
16. H. Sies and D. P. Jones, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **21** (3), 1 (2020).
17. J. D. Lambeth, *Nat. Rev. Immunol.*, **4**, 181 (2004).
18. K. Bedard and H. Krause, *Physiol. Rev.*, **87**, 245 (2007).
19. D. Robertson, R. Farid, C. Moser, et al., *Nature*, **368**, 425 (1994).
20. A. R. Cross and A. W. Segal, *Biochim. Biophys. Acta*, **1657**, 1 (2004).
21. J. D. Lambeth, G. Cheng, R. S. Arnold, et al., *Trends Biochem. Sci.*, **25**, 459 (2000).
22. K. Rokutan, T. Kawahara, Y. Kuwano, et al., *Semin. Immunopathol.*, **30**, 315 (2008).
23. N. K. Lee, Y. G. Choi, J. Y. Baik, et al., *Blood*, **106**, 852 (2005).
24. S. Sorce and H. Krause, *Antioxid. Redox Signal.*, **11**, 2481 (2009).
25. I. Helmcke, S. Heumüller, R. Tikkanen, et al., *Antioxid. Redox Signal.*, **11**, 1279 (2008).
26. K. Rokutan, T. Kawahara, Y. Kuwano, et al., *Antioxid. Redox Signal.*, **8**, 1573 (2006).
27. C. Cheret, A. Gervais, A. Lelli, et al., *J. Neurosci.*, **28**, 12039 (2008).
28. D. Vara, R. K. Mailer, A. Tarafdar, et al., *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **41**, 683 (2021).
29. B. Lassegue, D. Sorescu, K. Szocs, et al., *Circ. Res.*, **88**, 888 (2001).
30. P. N. Seshiah, D. S. Weber, P. Rocic, et al., *Circ. Res.*, **91**, 406 (2002).
31. D. I. Brown and K. K. Griendling, *Free Radic. Biol. Med.*, **47**, 1239 (2009).
32. M. Ushio-Fukai, *Sci. STKE*, **2006**, re8 (2006).
33. M. V. Tejada-Simon, F. Serrano, L. E. Villasana, et al., *Mol. Cell Neurosci.*, **29**, 97 (2005).
34. R. Dworakowski, S. P. Alom-Ruiz, and A. M. Shah, *Pharmacol. Rep.*, **60**, 21 (2008).
35. M. Ushio-Fukai, *Antioxid. Redox Signal.*, **9**, 731 (2007).
36. O. Jung, J. G. Schreiber, H. Geiger, et al., *Circulation*, **109**, 1795 (2004).
37. B. Banfi, B. Malgrange, J. Knisz, et al., *J. Biol. Chem.*, **279**, 46065 (2004).
38. W. J. Clerici, K. Hensley, D. L. DiMartino, et al., *Heart Res.*, **98**, 116 (1996).
39. T. Ago, T. Kitazono, H. Ooboshi, et al., *Circulation*, **109**, 227 (2004).
40. I. Cucoranu, R. Clempus, A. Dikalova, et al. *Circ. Res.*, **97**, 900 (2005).
41. W. Chamulitrat, W. Stremmel, T. Kawahara, et al., *J. Invest. Dermatol.*, **122**, 1000 (2004).
42. S. Yang, P. Madyastha, S. Bingel, et al., *J. Biol. Chem.*, **276**, 5452 (2001).
43. P. Vallet, Y. Charnay, K. Steger, et al., *Neuroscience*, **132**, 233 (2005).
44. I. Carmona-Cuenca, B. Herrera, J. J. Ventura, et al., *J. Cell Physiol.*, **207**, 322 (2006).
45. M. Geiszt, J. B. Kopp, P. Varnai, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, 8010 (2000).
46. L. L. Hilenski, R. E. Clempus, M. Quinn, et al., *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **24**, 677 (2004).
47. J. Kuroda, K. Nakagawa, T. Yamasaki, et al., *Genes & Cells*, **10**, 1139 (2005).
48. J. Kuroda, T. Ago, S. Matsushima et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 15565 (2010).
49. Y. Maejima, J. Kuroda, S. Matsushima, et al., *J. Mol. Cell. Cardiol.*, **50**, 408 (2011).
50. G. Cheng, Z. Cao, X. Xu, et al., *Gene*, **269**, 131 (2001).
51. D. B. Jay, C. A. Papaharalambus, B. Seidel-Rogol, et al., *Free Radic. Biol. Med.*, **45**, 329 (2008).
52. R. S. BelAiba, T. Djordjevic, A. Petry, et al., *Free Radic. Biol. Med.*, **42**, 446 (2007).
53. S. S. Brar, Z. Corbin, T. P. Kennedy, et al., *Am. J. Physiol.*, **285**, C353 (2003).
54. A. S. Kamiguti, L. Serrander, K. Lin, et al., *J. Immunol.*, **175**, 8424 (2005).
55. J. Si, J. Behar, J. Wands, et al., *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, **294**, G174 (2008).
56. C. Dupuy, R. Ohayon, A. Valent, et al., *J. Biol. Chem.*, **274**, 37265 (1999).
57. R. Forteza, M. Salathe, F. Miot, et al., *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, **32**, 462 (2005).
58. D. Wang, X. De Deken, M. Milenkovic, et al. *J. Biol. Chem.*, **280**, 3096 (2005).
59. F. Gu, A. Krüger, H. Roggenkamp, et al., *Sci. Signaling*, **14** (709), eabe3800 (2021).
60. K. Fiedoreczuk, J. A. Letts, G. Degliesposti, et al. *Nature*, **538** (7625), 406 (2016).
61. C. C. Page, C. C. Moser, X. Chen, et al., *Nature*, **402** (6757), 47 (1999).
62. F. Scialo, D. J. Fernandez-Ayala, and A. Sanz, *Front. Physiol.*, **8**, 428 (2017).
63. A. A. Starkov, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **1147**, 37 (2008).
64. S. S. Korshunov, V. P. Skulachev, and A. A. Starkov, *FEBS Lett.*, **416**, 15 (1997).
65. S. T. Ohnishi, T. Ohnishi, S. Muranaka, et al., *J. Bioenerg. Biomembr.*, **37**, 1 (2005).
66. L. A. Sazanov and P. Hinchliffe, *Science*, **311** (5766), 1430 (2006).
67. L. A. Sazanov, *J. Bioenerg. Biomembr.*, **46**, 247 (2014).

68. V. Massey, *J. Biol. Chem.*, **269**, 22459 (1994).
69. A. Galkin and U. Brandt, *J. Biol. Chem.*, **280**, 30129 (2005).
70. S. Raha and B. Robinson, *Trends Biochem. Sci.*, **25**, 502 (2000).
71. S. Drose and U. Brandt, *J. Biol. Chem.*, **283**, 21649 (2008).
72. A. Boveris and E. Cadenas, *IUBMB Life*, **50**, 1 (2000).
73. E. Cadenas, *Mol. Asp. Med.*, **25**, 17 (2004).
74. A. Y. Andreyev, Y. E. Kushnareva, and A. A. Starkov, *Biochemistry (Moscow)*, **70**, 200 (2005).
75. L. A. Sena and N. S. Chandel, *Mol. Cell.*, **48**, 158 (2012).
76. G. S. Shadel and T. L. Horvath, *Cell*, **163** (3), 560 (2015).
77. A. V. Kudryavtseva, G. S. Krasnov, A. A. Dmitriev, et al., *Oncotarget*, **7** (29), 44879 (2016).
78. J. McCord and I. Fridovich, *J. Biol. Chem.*, **244** (60), 6049 (1969).
79. R. H. Holm, P. Kennepohl, and E. I. Solomon, *Chem. Rev.*, **96**, 2239 (1996).
80. J. Slot, H. J. Geuze, B. A. Freeman, et al., *Lab. Invest.*, **55**, 363 (1986).
81. K. A. Hopkin, M. A. Papazian, and H. M. Steinman, *J. Biol. Chem.*, **267**, 24253 (1992).
82. H. D. Youn, E. J. Kim, J. H. Roe, et al., *Biochemistry*, **318**, 889 (1996).
83. A. Houldsworth, A. Hodgkinson, S. Shaw, et al., *Gene*, **569**, 41 (2015).
84. S. Govatati, S. Malempati, B. Saradamma, et al., *Tumor Biol.*, **37**, 10357 (2016).
85. I. Batinic-Haberle, A. Tovmasyan, E. R. Roberts, et al., *Antioxid. Redox Signal.*, **20**, 2372 (2014).
86. C. A. Massaad, T. M. Washington, R. G. Pautler, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 13576 (2009).
87. K. Baumgart, V. Simkova, F. Wagner, et al., *Intensive Care Med.*, **35**, 344 (2009).
88. Г. Г. Мартинович, И. В. Мартинович и С. Н. Черенкевич, *Биофизика*, **56** (3), 465 (2011).
89. D. P. Jones and H. Sies, *Antioxid. Redox Signal.*, **23** (9), 734 (2015).
90. M. Reth, *Nat. Immunol.*, **3**, 1129 (2002).
91. M. A. Wouters, S. W. Fan, and N. L. Haworth, *Antioxid. Redox Signal.*, **12** (1), 53 (2010).
92. L. S. Terada, *J. Cell Biol.*, **174** (5), 615 (2006).
93. J. Lopez-Barneo, J. R. Lopez-Lopez, J. Urena, et al., *Science*, **241** (4865), 580 (1988).
94. E. Cutz, J. Pan, H. Yeger, et al., *Semin. Cell Dev. Biol.*, **24** (1), 40 (2013).
95. В. П. Скулачев, *Биохимия*, **66**, 7 (2001).
96. L. Gao, P. González-Rodríguez, P. Ortega-Sáenz, et al., *Redox Biol.*, **12**, 908 (2017).
97. M. C. Fernandez-Aguera, L. Gao, P. González-Rodríguez, et al., *Cell Metab.*, **22**, 825 (2015).
98. A. Platero-Luengo, S. González-Granero, R. Durán, et al., *Cell*, **156**, 291 (2014).
99. X. W. Fu, D. Wang, C. A. Nurse, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97** (8), 4374 (2000).
100. J. Buttigieg, J. Pan, H. Yeger, et al., *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.*, **303** (7), L598 (2012).
101. D. Wang, C. Youngson, V. Wong, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **93** (23), 13182 (1996).
102. P. Kazemian, R. Stephenson, H. Yeger, et al., *Respir. Physiol.*, **126**, 89 (2001).
103. R. M. Touyz, X. Chen, F. Tabet, et al., *Circ. Res.*, **90**, 1205 (2002).
104. A. M. Hashad, M. Sancho, S. E. Brett, et al., *Sci. Rep.*, **8**, 3445 (2018).
105. O. F. Harraz, R. R. Abd El-Rahman, K. Bigdely-Shamloo, et al., *Circ. Res.*, **115**, 650 (2014).
106. H. I. Krieger-Brauer, and H. Kather, *J. Clin. Invest.*, **89**, 1006 (1992).
107. K. Mahadev, H. Motoshima, X. Wu, et al., *Mol. Cell. Biol.*, **24** (5), 1844 (2004).
108. X. Wu and K. J. Williams, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **32**, 1236 (2012).
109. B. L. Seely, P. A. Staubs, D. R. Reichart, et al., *Diabetes*, **45** (10), 1379 (1996).
110. G. G. Martinovich, I. V. Martinovich, and S. N. Cherenkevich, *Bull. Exp. Biol. Med.*, **147** (4), 469 (2009).
111. G. G. Martinovich, E. N. Golubeva, I. V. Martinovich, et al., *J. Biophys.*, **2012**, 921653 (2012).
112. Г. Г. Мартинович, И. В. Мартинович, А. В. Вчерашняя и др., *Докл. НАН Беларуси*, **60** (5), 96 (2016).
113. Г. Г. Мартинович, И. В. Мартинович, А. В. Вчерашняя и др., *Биофизика*, **61** (6), 1164 (2016).
114. A. V. Vcherashniaya, I. V. Martinovich, G. G. Martinovich, et al., *J. Appl. Spectroscopy*, **87** (3), 515 (2020).
115. Г. Г. Мартинович, И. В. Мартинович, А. В. Вчерашняя и др., *Биофизика*, **62** (6), 1142 (2017).
116. D. P. Jones, *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, **295**, C849 (2008).
117. H. Sies, C. Berndt, and D. P. Jones, *Annu. Rev. Biochem.*, **86** (25), 715 (2017).
118. Г. Г. Мартинович и С. Н. Черенкевич, *Окислительно-восстановительные процессы в клетках* (БГУ, Минск, 2008).
119. M. Narasimhan and N. S. Rajasekaran, *Biochim. Biophys. Acta – Mol. Basis Dis.*, **1852**, 53 (2015).
120. Z. Huang, C. Chen, Z. Zeng, et al., *FASEB J.*, **15**, 19 (2001).
121. Y. Lee, H. G. Kim, H. I. Jung, et al., *Mol. Cells*, **14**, 305 (2002).
122. Г. Г. Мартинович, И. В. Мартинович, Е. Н. Голубева и др., *Изв. НАН Беларуси. Сер. мед. наук*, № 2, 85 (2012).
123. S. Kannan, V. R. Muthusamy, K. J. Whitehead, et al., *Cardiovasc. Res.*, **100**, 63 (2013).
124. D. E. Handy and J. Loscalzo, *Free Radic. Biol. Med.*, **109**, 114 (2017).
125. X. G. Lei, J. H. Zhu, W. H. Cheng, et al., *Physiol. Rev.*, **96**, 307 (2016).

126. J. P. McClung, C. A. Roneker, W. Mu, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 8852 (2004).
127. J. D. Watson, *Lancet*, **383** (9919), 841 (2014).
128. D. E. Warburton, C. W. Nicol, and S. S. Bredin, *Can. Med. Assoc. J.*, **174**, 801 (2006).
129. M. Ristow, K. Zarse, A. Oberbach, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 8665 (2009).
130. Г. Г. Мартинович и С. Н. Черенкевич, *Успехи физиологич. наук*, **39** (3), 29 (2008).
131. A. V. Ulasov, A. A. Rosenkranz, G. P. Georgiev, et al., *Life Sciences*, **291**, 120111 (2021).
132. P. Canning, F. J. Sorrell, and A. N. Bullock, *Free Radic. Biol. Med.*, **88**, 101 (2015).
133. M. Kobayashi, L. Li, N. Iwamoto, et al., *Mol. Cell. Biol.*, **29**, 493 (2009).
134. D. D. Zhang and M. Hannink, *Mol. Cell. Biol.*, **23**, 8137 (2003).
135. J. Zhu, H. Wang, F. Chen, et al., *Free Radic. Biol. Med.*, **99**, 544 (2016).
136. Н. К. Зенков, А. В. Чечушков, П. М. Кожин и др., *Биохимия*, **82** (5), 749 (2017).
137. M. C. Lu, J. A. Ji, Z. Y. Jiang, et al. *Med. Res. Rev.*, **36**, 924 (2016).
138. M. C. Egbujor, M. Petrosino, K. Zuhra, et al., *Antioxidants*, **11** (7), 1255 (2022).
139. S. Qin and D. X. Hou, *Engineering*, **3** (5), 738 (2017).
140. Г. Г. Мартинович, И. В. Мартинович, А. В. Вчерашняя и др., *Биофизика*, **65** (6), 1081 (2020).
141. X. J. Wang, J. D. Hayes, L. G. Higgins, et al., *Chem. Biol.*, **17** (1), 75 (2010).
142. A. T. Dinkova-Kostova, J. W. Fahey, and P. Talalay, *Methods Enzymol.*, **382**, 423 (2004).
143. F. Hong, K. R. Sekhar, M. L. Freeman, et al., *J. Biol. Chem.*, **280**, 31768 (2005).
144. F. Hong, M. L. Freeman, and D. C. Liebler, *Chem. Res. Toxicol.*, **18**, 1917 (2005).
145. S. Fourquet, R. Guerois, D. Biard, et al., *J. Biol. Chem.*, **285**, 8463 (2010).
146. T. Suzuki, A. Muramatsu, R. Saito, et al., *Cell Rep.*, **28**, 746 (2019).
147. R. Venugopal and A. K. Jaiswal, *J. Clin. Invest.*, **93**, 14960 (1996).
148. J. D. Hayes and A. T. Dinkova-Kostova, *Trends Biochem. Sci.*, **39** (4), 199 (2014).
149. Y. Mitsuishi, K. Taguchi, Y. Kawatani, et al., *Cancer Cell*, **22**, 66 (2012).
150. E. Sun, H. Erb, and T. H. Murphy, *Bioch. Biophys. Res. Com.*, **326**, 371 (2005).
151. S. Kovac, P. R. Angelova, K. M. Holmstrom, et al., *Biochim. Biophys. Acta*, **1850**, 794 (2015).
152. S. N. Zucker, E. E. Fink, A. Bagati, et al., *Mol. Cell*, **53**, 916 (2014).
153. S. Mannava, D. Zhuang, J. R. Nair, et al., *Blood*, **119**, 1450 (2012).
154. M. Ying, J. Tilghman, Y. Wei, et al., *J. Biol. Chem.*, **289**, 32742 (2014).
155. F. A. Simmen, Y. Su, R. Xiao, et al., *Reprod. Biol. Endocrinol.*, **6**, 41 (2008).
156. R. M. Bonett, F. Hu, P. Bagamasbad, et al., *Endocrinology*, **150**, 1757 (2009).
157. H. Imataka, K. Sogawa, K. Yasumoto, et al. *EMBO J.*, **11**, 3663 (1992).
158. Q. Yan, B. He, G. Hao et al., *Life Sci.*, **233**, 116641 (2019).
159. E. E. Fink, S. Moparthy, A. Bagati, et al., *Cell Rep.*, **25**, 212 (2018).
160. B. Chhunchha, E. Kubo, and D. P. Singh, *Cells*, **8** (10), 1159 (2019).
161. B. Chhunchha, E. Kubo, and D. P. Singh, *Cells*, **11** (8), 1266 (2022).
162. C. S. Pillay, J. H. Hofmeyr, L. N. Mashamaite, et al., *Antioxid. Redox Signal.*, **18**, 2075 (2013).
163. F. Q. Schafer and G. R. Buettner, *Free Rad. Biol. Med.*, **30**, 1191 (2001).
164. J. T. Hancock, R. Desikan, S. J. Neill, et al. *J. Theor. Biol.*, **226**, 65 (2004).
165. Г. Г. Мартинович и С. Н. Черенкевич, *Вестн. Белорус. гос. ун-та. Сер. 1, № 1*, 28 (2004).
166. G. G. Martinovich, S. N. Cherenkevich, and H. Sauer, *Eur. Biophys. J.*, **34** (7), 937 (2005).
167. Г. Г. Мартинович, И. В. Мартинович и С. Н. Черенкевич, *Биофизика*, **53** (4), 618 (2008).
168. Y. M. Go, J. J. Gipp, R. T. Mulcahy, et al., *J. Biol. Chem.*, **279**, 5837 (2004).
169. M. Kemp, Y. M. Go, and D. P. Jones, *Free Radic. Biol. Med.*, **44**, 921 (2008).
170. L. Flohe, *Biochim. Biophys. Acta – General Subjects*, **1830** (5), 3139 (2013).
171. G. G. Martinovich, I. V. Martinovich, S. N. Cherenkevich, et al. *Cell Biochem. Biophys.*, **58** (2), 75 (2010).
172. D. P. Jones, Y. M. Go, C. L. Anderson, et al., *FASEB J.*, **18** (11), 1246 (2004).
173. Г. Г. Мартинович и С. Н. Черенкевич, *Вестн. Белорус. гос. ун-та. Сер. 1, № 3*, 1 (2004).
174. Г. Г. Мартинович, И. В. Мартинович, Е. Б. Меньшикова и др., *Докл. НАН Беларуси*, **59** (3), 82 (2015).
175. S. Clement, J. M. Campbell, W. Deng, et al. *Advanced Science*, **7** (24), 2003584 (2020).
176. M. Elas, K. Ichikawa, and H. J. Halpern, *Radiat. Res.*, **177** (4), 514 (2012).
177. G. Bacic, A. Pavicevic, and F. Peyrot, *Redox Biol.*, **8**, 226 (2016).
178. A. Adhikari, S. Mondal, M. Das, et al., *ACS Biomater. Sci. Eng.*, **7** (6), 2475 (2021).
179. S. Mondal, A. Adhikari, R. Ghosh, et al., *MRS Advances*, **6** (16), 427 (2021).
180. J. Meng, Z. Lv, Y. Zhang, et al., *Antioxid. Redox Signal.*, **34** (14), 1069 (2021).

Free Radicals and Signal Transduction in Cells

G.G. Martinovich*, I.V. Martinovich*, V.V. Voinarouski*, D.V. Grigorieva*,
I.V. Gorudko*, and O.M. Panasenko**

**Belarusian State University, prosp. Nezavisimosti 4, Minsk, 220030, Republic of Belarus*

***Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine, Federal Medical Biological Agency, Malaya Pirogovskaya ul. 1a, Moscow, 119435, Russia*

This review provides an overview of molecular mechanisms of intracellular signal transduction involving free radicals. The structure and functions of enzymes that can form superoxide anion-radical and hydrogen peroxide are considered in detail. The mechanisms of regulation of cell properties with the participation of specialized redox chains formed by a group of proteins interacting through electron transport processes are discussed. Genetically mediated mechanisms of regulation of redox cell homeostasis are analyzed. Particular attention is paid to the issue concerning quantitative characterization of the network of interactions of oxidizing and reducing agents, which determines the species and individual characteristics of redox homeostasis and the stress response of cells.

Keywords: free radicals, reactive oxygen species, redox regulation, oxidative stress, reductive stress, transcription factor Nrf2