

## АГЛЯДЫ

УДК 577.3'32

С. Н. ЧЕРЕНКЕВИЧ, Г. Г. МАТИНОВИЧ, И. В. МАТИНОВИЧ,  
И. В. ГОРУДКО, Е. В. ШАМОВА

### РЕДОКС-РЕГУЛЯЦИЯ КЛЕТОЧНОЙ АКТИВНОСТИ: КОНЦЕПЦИИ И МЕХАНИЗМЫ

Белорусский государственный университет, Минск,  
e-mail: martinovichgg@bsu.by

(Поступила в редакцию 28.09.2012)

**Активные формы кислорода (АФК) в регуляции клеточных функций.** На протяжении многих лет в биохимии и медицине доминировала точка зрения об исключительно патогенной роли окислителей, образование которых в организме связывали с развитием хронических и дегенеративных заболеваний. Однако многочисленные работы, выполненные в течение последних лет, указывают на то, что образование окислителей в организме является неотъемлемым фактором нормального функционирования клеток, отсутствие которого может приводить к гибели клеток, так же как и их чрезмерное образование. Следует отметить тот факт, что механизмы регуляторного действия окислителей до сих пор не установлены, так как объяснение механизмов действия этих соединений в рамках традиционных представлений о природе биохимической специфичности не представляется возможным. Тем не менее уже накоплен богатый фактический материал, указывающий на то, что реакции с участием окислителей и восстановителей играют фундаментальную роль в организации процессов жизнедеятельности клеток.

Основные типы окислителей в живых системах представлены производными метаболизма кислорода, для обозначения которых используется термин «активные формы кислорода». Термин «активные формы кислорода» объединяет целый ряд образующихся в организме высокорекреакционных соединений, таких как синглетный кислород ( $^1\text{O}_2$ ), супероксидный ( $\text{O}_2^-$ ) и гидроксильный ( $\text{OH}$ ) радикалы, монооксид ( $\text{NO}$ ) и диоксид азота ( $\text{NO}_2$ ), пероксинитрит-ион ( $\text{ONOO}^-$ ), гипохлорит ( $\text{ClO}^-$ ), пероксид водорода ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) и др. В некоторых случаях  $\text{NO}$ ,  $\text{NO}_2$  и  $\text{ONOO}^-$  выделяют в отдельную группу веществ, объединяемую термином «активные формы азота». Наряду с термином «активные формы кислорода» для обозначения высокорекреакционных соединений кислорода в литературе также используются термины «активные метаболиты кислорода» [18], «низкомолекулярные кислородные интермедиаты» [24] и др. Однако из-за сходства их строения и механизмов действия в биологических системах целесообразно использовать один термин. И хотя с физико-химической точки зрения термин АФК не вполне удачен [2], широкое использование его не вызывает сомнений.

Изменение концентрации АФК – ключевое событие, регулирующее ответ клетки на действие многих физических и химических факторов [9, 76]. Наряду с этим отметим, что АФК участвуют в регуляции ряда физиологических процессов практически во всех клетках организма, что является их главным отличием от большинства сигнальных молекул, действующих лишь на те клетки, которые обладают соответствующими для них рецепторами.

Время жизни, химическая активность и, следовательно, расстояние, которое проходят АФК до взаимодействия с мишенью, зависят от типа молекулы. Например, вследствие высокой химической активности время жизни  $\text{OH}$  радикалов в клетке составляет около  $10^{-9}$  с, а расстояние, которое они успевают пройти от места их образования, не превышает 3 нм [15]. Поэтому взаимодействие  $\text{OH}$  обычно происходит лишь с теми мишенями, в непосредственной близости от ко-

торых он образован. С другой стороны,  $H_2O_2$ , являясь наиболее стабильной формой АФК, может вступать в реакции с мишенями, удаленными на расстояние в несколько клеточных диаметров от места образования окислителя. Поэтому при изучении физиологических и патофизиологических эффектов АФК в экспериментах *in vitro* часто используют пероксид водорода.

Согласно исследованиям, проведенным *in vitro*, биологические эффекты действия внеклеточного  $H_2O_2$  во многом определяются типом клеток [60]. Например,  $H_2O_2$  в концентрациях от 0,01 до 0,1 мМ стимулирует деление клеток грудной железы линии NMuMG [72], тогда как в фибробластах линии HFL-1 индуцирует апоптоз [159]. Показано, что пероксид водорода участвует в регуляции тонуса сосудов [47, 118], синаптической активности [96], мышечного сокращения [136] и клеточного цикла [158]. Ряд физиологических эффектов действия внеклеточного  $H_2O_2$  на биологические системы суммирован в табл. 1.

Т а б л и ц а 1. Физиологические эффекты пероксида водорода

Тип объекта	Концентрация $H_2O_2$ , мМ	Физиологический эффект
Фибробласты почек сибирского хомячка линии ВНК-21	0,003–0,015	Увеличение пролиферативной активности [52, 54]
Клетки Гензена свиньи	0,08	Ингибирование образования щелевых контактов [160]
Фибробласты легких китайского хомячка линии V79	0,1	Увеличение пролиферативной активности [103]
Гладкомышечные клетки сосудов крысы	0,1–0,2	Стимуляция роста клеток [133]
Гладкомышечные клетки сосудов крысы	0,2	Стимуляция синтеза инсулинподобного фактора роста I (IGF I) [61]
Одиночные скелетные мышечные волокна мыши	0,1–0,3	Увеличение сократительной способности мышечных волокон [38]
Гладкомышечные клетки сосудов человека	0,01–1	Гиперполяризация плазматической мембраны [120]
Почечная артерия крысы	0,001–1	Кратковременное сжатие сосуда [73]
Эпителиальные клетки аорты быка и фибробласты кожи человека	0,2	Ингибирование роста [133]
Фибробласты почек сибирского хомячка линии ВНК-21	0,12–0,15	Ингибирование роста [168]
Коронарная артерия свиньи	0,3	Расслабление сосуда [44]
Клетки опухолевой ткани предстательной железы	0,5	Апоптоз [164]
Фибробласты почек сибирского хомячка линии ВНК-21	0,5–1	Апоптоз [53]
Клетки глиомы крысы линии С6	0,5–5	Активация выхода ионов $Ca^{2+}$ из внутриклеточных депо [11]
Нейроны гиппокампа крысы	1,5–2	Ингибирование синаптической трансмиссии [41]
Тромбоциты человека	1,5–5	Стимуляция агрегации [7]
Пучки мышечных волокон диафрагмы крысы	0,1–10	Увеличение мышечного напряжения [137]
Ансамбли нейронов улитки <i>Lymnaea stagnalis</i>	0,5–10	Стимуляция электрической активности [14]
Ансамбли нейронов улитки <i>Lymnaea stagnalis</i>	>10	Ингибирование электрической активности [14]

Как следует из представленных данных, в культуре даже одного типа клеток  $H_2O_2$  при различных концентрациях может стимулировать пролиферацию, вызывать задержку роста и индуцировать апоптоз. В некоторых типах тканей  $H_2O_2$  индуцирует процессы дифференцировки. Например, обнаружено, что  $H_2O_2$  является необходимым участником дифференцировки эмбриональных стволовых клеток в кардиомиоциты [142] и клеток-предшественников линии HD-11EM в остеокласты [154]. В клетках линии PC12  $H_2O_2$  участвует в процессах дифференцировки клеток в симпатические нейроны [99, 100]. Более того, АФК участвуют в модуляции основных информационных потоков при эмбриогенезе [36]. Благодаря тому что АФК стимулируют митоз и способствуют клеточной дифференцировке, некоторые авторы назвали их «сигналами жизни» [142].

Показано, что при повышении внутриклеточной концентрации окислителей изменяется активность практически всех классов сигнальных эффекторных белков, участвующих в передаче сигнала от клеточной поверхности к ядру. Активность ряда протеинкиназ, фосфатаз, фосфолипаз, факторов транскрипции, ионных каналов и насосов зависит от внутриклеточной концентрации окислителей и восстановителей [15].

**Антиоксиданты и процессы регуляции в клетках.** Эффект действия АФК в живых системах зависит от типа и концентрации присутствующих в среде антиоксидантов, проявляющих в отличие от акцепторов электронов – окислителей свойства восстановителей или доноров электронов. Несмотря на широкое использование термин «антиоксидант» не имеет общепринятого определения, что создает определенные сложности в классификации веществ с антиокислительными свойствами.

Согласно Е. Б. Бурлаковой [1], «биоантиоксидантами называют вещества, которые в модельных свободнорадикальных процессах окисления проявляют свойства ингибиторов реакций и сохраняют эти свойства при введении их в живой организм». Ю. А. Владимиров использует более узкое определение: «Антиоксиданты – это соединения, которые препятствуют образованию свободных радикалов» [2]. Наиболее часто в биомедицинской литературе используется определение антиоксидантов, введенное Б. Халливелом и Дж. Гаттериджем [79]: «Антиоксидант – любое вещество, которое, присутствуя [в среде] в низкой концентрации, сравнимой с концентрацией окисляемого субстрата, значительно снижает или предотвращает окисление этого субстрата». Однако позже Б. Халливел и Дж. Гаттеридж из-за ряда противоречий в толковании данного определения ввели более простое, согласно которому «антиоксидант – любое вещество, которое задерживает, предотвращает или удаляет окислительное повреждение молекулы-мишени» [80]. Тем не менее ни одно из данных определений не позволяет однозначно идентифицировать антиоксиданты в биологических многокомпонентных системах. Например, любой ингибитор сборки НАДФН-оксидазы может быть рассмотрен как антиоксидант, поскольку уменьшает образование свободных радикалов, и, следовательно, повреждение биологических мишеней. А ингибитор комплекса III электрон-транспортной цепи митохондрий антимицин А, который увеличивает образование  $\dot{O}_2^-$  и  $H_2O_2$  митохондриями, может быть рассмотрен в качестве «прооксиданта».

Следует также отметить, что так называемые антиоксидантные и прооксидантные свойства веществ зависят от типа выбранных модельной системы и метода определения антиоксидантной активности [15, 124]. Даже широко известные антиоксиданты  $\alpha$ -токоферол и аскорбиновая кислота могут усиливать свободнорадикальные процессы окисления в модельных условиях [55, 106]. С другой стороны, обнаружено, что процессы перекисного окисления липидов ингибируются свободнорадикальной молекулой  $NO$  [86]. В реакции обрыва цепи перекисного окисления липидов в результате взаимодействия  $NO$  и пероксидного радикала  $LOO\dot{O}$  происходит образование органического нитрата –  $LONO_2$  [86, 126]. При гидролизе  $LONO_2$  образуются нерадикальные продукты: липидный алкоксид и нитрит-ион [130]. Способность монооксида азота ингибировать процесс пероксидного окисления в  $10^4$ – $10^5$  раз выше, чем у  $\alpha$ -токоферола [126]. Показано также, что нитрит ( $NO_2^-$ ) является более эффективным ингибитором свободнорадикального повреждения клеток линии HepG2, чем аскорбат, глутатион (GSH) или мочева кислота [167]. Согласно приведенным выше определениям, монооксид азота и нитрит следует относить к антиоксидантам, хотя ряд исследователей относят  $NO$  и ( $NO_2^-$ ) к группе активных форм азота. В первичной культуре кортикальных нейронов ионы железа ( $Fe^{2+}$  и  $Fe^{3+}$ ) в концентрациях выше 2,5 мкМ ингибируют нейротоксическое действие восстановителей (аскорбиновой кислоты, глутатиона, цистеина и др.) [166], при этом ионы железа во многих модельных процессах выступают в качестве катализаторов свободнорадикальных процессов.

В живых организмах в отличие от модельных систем существуют дополнительные связи между компонентами антиоксидантной системы. Известно, что накопление окисленного  $\alpha$ -токоферола в мембранах клеток не происходит до тех пор, пока в цитоплазме есть витамин С, восстановленная форма которого поддерживается за счет переноса электронов от молекулы глутатиона [56]. В свою очередь, глутатион дисульфид (GSSG) восстанавливается за счет молекул НАДФН,

пул которых регулируется в процессах катаболизма и анаболизма [15, 16]. В биологических системах одни и те же вещества в зависимости от их локализации и функциональной активности клетки могут усиливать или уменьшать образование АФК. Например, НАД(Ф)Н – важный компонент антиоксидантной системы клеток – восстанавливает аскорбиновую кислоту, глутатион и тиоредоксин с помощью клеточных редуктаз [15]. Кроме того, НАД(Ф)Н может также вступать в прямые неферментативные реакции с большинством окислителей [105]. С другой стороны, пиридин-нуклеотиды, выступая донорами электронов для ферментов НАДФН-оксидаза и НАДН-убихинол оксидоредуктаза, усиливают образование АФК в клетке.

Многие вещества, проявляющие антиоксидантные свойства в условиях *in vitro*, в живых организмах проявляют активность, не связанную с редокс-регуляцией. Например, показано, что эстрогены в условиях *in vitro* на клеточных моделях осуществляют нейропротекцию, проявляя антиоксидантные свойства [121]. При этом их биологическая активность в многоклеточном организме реализуется при межмолекулярном взаимодействии со специфическими рецепторами. Ретиналь (альдегид витамина А), известный своими антиоксидантными свойствами *in vitro*, в комплексе с белком опсином участвует в фоторецепции, изомерезуясь при поглощении кванта света. Таким образом, отнесение веществ к классам антиоксидантов или прооксидантов не всегда позволяет корректно описать их биологические функции.

Несмотря на неоднозначность интерпретации, понятие «антиоксидант» широко используется в биомедицинской литературе. В реакциях, протекающих в биологических системах, антиоксидант чаще всего выступает акцептором электронов в реакциях с окислителем или в реакциях с продуктами окисления. Поэтому наряду с термином «антиоксидант» также используется термин «восстановитель». В биологических системах, в которых функционирует сложно-взаимосвязанная сеть антиоксидантов, практически любой восстановитель может проявлять свойства антиоксиданта.

Антиоксиданты играют важную роль в реализации физиологических эффектов АФК. Внеклеточный глутатион в концентрациях от 0,1 до 1 мМ защищает клетки от апоптоза, индуцированного  $H_2O_2$  в миллимолярных концентрациях в культуре фибробластов легких человека [159]. Цитотоксическое действие  $H_2O_2$  в культуре клеток также зависит от концентрации внутриклеточного GSH. Гибель 50 % клеток линии HL-60 (концентрация внутриклеточного GSH 4,2 мкг на  $10^6$  клеток) в культуре индуцируется внеклеточным  $H_2O_2$  в концентрации 0,032 мМ, тогда как гибель 50 % клеток глиомы линии KG1C (концентрация внутриклеточного GSH 22,2 мкг на  $10^6$  клеток) – внеклеточным  $H_2O_2$  в концентрации более 3 мМ [88]. Увеличение внутриклеточной концентрации глутатиона является необходимым условием для пролиферации клеток. Обнаружено также, что внутриклеточная концентрация GSH повышается при митозе и  $G_2$ -фазе клеточного цикла в сравнении с другими фазами цикла [59]. Показано, что при увеличении концентрации GSH в фибробластах повышается активность теломеразы, при снижении концентрации GSH активность фермента снижается [51]. Высокая (по сравнению с клетками тканей в норме) внутриклеточная концентрация восстановителей наблюдается во многих типах опухолевых клеток [71, 85]. Наряду с этим в условиях *in vitro* показано, что восстановители участвуют в регуляции ряда биологических функций (табл. 2 и 3).

Т а б л и ц а 2. Физиологические эффекты аскорбиновой кислоты (АК)

Тип объекта	Концентрация АК, мМ	Физиологический эффект
Гипоталамус крысы	0,01–1	Ингибирование действия люлиберина [97, 134]
Эмбриональные стволовые клетки CGR8	0,01–1	Стимуляция дифференцировки в кардиомиоциты [157]
Передняя доля гипофиза крысы	0,01–10	Стимуляция секреции гонадотропина [98]
Клетки-предшественники эмбрионального кортекса мозга крысы	0,2	Стимуляция дифференцировки в нейроны и астроциты [11]
Первичная культура нейронов крысы	0,2	Увеличение частоты и амплитуды возбуждающих постсинаптических токов [11]
Нейтрофилы крови человека	0,3	Стимуляция генерации АФК [146]

Тип объекта	Концентрация АК, мМ	Физиологический эффект
Церебральный кортекс мозга крысы	0,5	Увеличение концентрации глутамата [135]
Клетки карциномы гортани человека линии НEr-2	3–5	Активация выхода ионов Ca <sup>2+</sup> из внутриклеточных депо [116]

Т а б л и ц а 3. Физиологические эффекты глутатиона

Тип объекта	Концентрация GSH, мМ	Физиологический эффект
Синаптическая мембрана нейронов мозга крысы	0,01	Ингибирование NMDA и AMPA рецепторов [162]
Тромбоциты человека	0,01	Стимуляция АДФ-индуцированной агрегации [64]
Тромбоциты человека	0,01-0,05	Стимуляция агрегации с нейтрофилами и с опухолевыми клетками [77]
Тромбоциты человека	0,05	Стимуляция WGA-, ConA-индуцированной агрегации [145]
Тромбоциты человека	0,05	Гиперполяризация плазматической мембраны [27]
Кора мозга крысы	0,2–5	Деполаризация плазматической мембраны [147]
Стриатум мозга мыши	1	Стимуляция высвобождения допамина [89]
Тромбоциты человека	3	Ингибирование Con A- и SNA-индуцированной агрегации [145]
Тромбоциты человека	3	Ингибирование агрегации с нейтрофилами и с опухолевыми клетками [77]
Тромбоциты человека	3	Деполаризация плазматической мембраны [27]
Тромбоциты человека	6	Стимуляция Con A- и SNA-индуцированной агрегации [145]

Многочисленные исследования указывают на сложность и многообразие процессов, протекающих в живых системах с участием окислителей и восстановителей. Активные формы кислорода могут проявлять свойства антиоксидантов, а антиоксиданты, в свою очередь, могут усиливать процессы окисления. Функционирование АФК и антиоксидантов взаимозависимо, поэтому необходимо учитывать влияние одних молекул на действие других.

На современном этапе изучения биологических редокс-процессов возникла необходимость выработки новых способов (и/или форм) описания механизмов действия окислителей и восстановителей. Поэтому в области свободнорадикальной биологии и медицины происходит пересмотр старых представлений и формулировка новых подходов.

**Классический «взгляд» и новые гипотезы о роли АФК в биологических системах.** История изучения свободнорадикальных процессов в живых системах началась в середине прошлого века, когда образование окислителей в организме начали связывать с развитием хронических и дегенеративных заболеваний. В 1954 г. Р. Гершман с соавт. высказал предположение о том, что известные токсические эффекты кислорода обусловлены образованием его активных радикальных интермедиатов [75]. В том же году Б. Н. Тарусов высказал гипотезу о том, что развитие лучевой болезни вызвано индукцией цепной разветвленной реакции окисления липидов, продукты которой являются для клетки токсичными [25]. В 1963 г. Н. М. Эмануэль предположил, что не только радикалы липидов, но и радикалы других веществ (ДНК, белков, углеводов и др.), образующиеся при воздействии радиоактивного излучения, могут вызывать многочисленные повреждения в клетке [28]. В последующем интерес ученых к исследованию роли акцепторов электронов при различной патологии все более возрастал. Развитие исследований в данной области значительно расширило список заболеваний и патологических процессов, объединяемых понятием «свободнорадикальных». В настоящее время участие АФК показано в патогенезе более чем 200 заболеваний и патологических состояний, включая воспалительные и нейродегенеративные процессы, диабет, атеросклероз и др. [17].

В середине 50-х годов прошлого века Д. Харман выдвинул свободнорадикальную теорию старения, согласно которой при участии кислорода, потребляемого при аэробном дыхании, могут образовываться свободные радикалы. Радикальные кислородные интермедиаты индуцируют самые разнообразные повреждения, в том числе и генетического материала, а постепенная аккумуляция последних приводит, в конечном итоге, к старению и смерти [81, 82]. Свободнорадикальная теория лежит в основе целого направления биологии старения, которое связано с иссле-

дованием роли АФК в процессах старения и развития возрастной патологии, а также с попытками воздействовать на процессы старения с помощью антиоксидантных средств [21]. В настоящее время предложено более 300 теорий, объясняющих феномен старения [165]. Однако, оценивая количество людей, охваченных попытками профилактики старения антиоксидантами (сегодня около 30 % американцев принимают пищевые добавки с антиоксидантами), и экономические показатели (только мировой рынок антиоксидантов оценивается в 20 млрд долларов), видно, что свободнорадикальная теория старения на сегодняшний день является доминирующей [17]. Тем не менее данная теория не лишена недостатков. Противники теории считают, что в организме человека эффективно работают системы репарации свободнорадикальных повреждений биомолекул [87]. Кроме того, свободные радикалы участвуют в выработке энергии, регуляции клеточного метаболизма и гомеостаза. Широкое использование антиоксидантов не помогает в борьбе с онкологическими заболеваниями, диабетом, сердечно-сосудистыми заболеваниями и старением [119, 153].

В 90-х годах прошлого века выдвинута свободнорадикальная теория развития, в которой кислородные радикалы уже рассматриваются в качестве регуляторных молекул [35, 36]. Показано, что в условиях гипероксии биохимическая и морфологическая дифференцировка стимулируется во многих тканях различных организмов [36]. С другой стороны, гипоксия ингибирует тканевую дифференцировку [123]. Изменение содержания кислорода, как известно, может влиять на экспрессию генов [78]. Однако предполагается, что действие кислорода на дифференцировку тканей не связано с аэробным метаболизмом [37]. Показано, что гипероксия индуцирует дифференцировку клеток нейробластомы даже в присутствии цианида, ингибирующего аэробный метаболизм [63]. Р. Аллен с коллегами предположил, что кислород-зависимая регуляция генной экспрессии осуществляется с участием АФК. При дифференцировке тканей повышается активность супероксиддисмутазы (преимущественно Mn-SOD), что приводит к увеличению концентрации  $H_2O_2$  [37]. Обнаружено, что введение Cu,Zn-SOD с помощью липосом в клетки эритролейкемии Фрейда стимулирует дифференцировку клеток [46]. Такие антиоксиданты, как аскорбиновая кислота, глутатион,  $\beta$ -каротин и  $\alpha$ -токоферол, напротив, ингибируют дифференцировку клеток эритролейкемии Фрейда [46], а экзогенно добавленные оксиданты стимулируют дифференцировку клеток. Таким образом, согласно свободнорадикальной теории развития тканевая дифференцировка определяется различиями в оксигенации и связанными с содержанием АФК градиентами редокс-параметров в клетках и тканях [36].

Сегодня наличие редокс-зависимой регуляции экспрессии генов у высших организмов рассматривается как закономерный процесс эволюции на Земле [31]. Предполагается, что первые формы жизни на Земле в качестве источника доступной энергии использовали градиент редокс-потенциалов на границе раздела геологических слоев, возникающий в результате геохимических процессов [107, 151]. Редокс-сигнализация рассматривается как первый тип сенсорной регуляции, появившейся в природе [70]. Показано, что при фотосинтезе редокс-состояние пластохинона регулирует фосфорилирование белков светособирающего комплекса II в хлоропластах [30], посредством чего осуществляется перераспределение энергии возбуждения между фотосистемой I и фотосистемой II [34]. Наряду с этим установлена связь между процессами фотосинтеза и регуляцией экспрессии генов в хлоропластах [132]. Д. Аллен предположил, что редокс-регуляция генной экспрессии в энергопреобразующих органеллах (хлоропластах и митохондриях) может быть использована для объяснения сохранения внеядерных систем генов в процессе эволюции. Выдвинутая им гипотеза получила название «сосредоточение для редокс-регуляции» (CoRR – co-location for redox regulation) [32]. Согласно данной гипотезе, наличие генов в энергопреобразующих органеллах необходимо для обеспечения прямого контроля их экспрессии редокс-состоянием продуктов этих генов, осуществляющих преобразование энергии в процессах фотосинтеза и дыхания [33]. Экспериментальным подтверждением данной гипотезы может служить обнаруженная недавно редокс-зависимая сенсорная киназа хлоропластов (CSK – chloroplast sensor kinase), регулирующая переключение между транскрипцией генов для фотосистемы I и фотосистемы II [132].

Известно, что в качестве промежуточного соединения в процессах фотосинтеза и дыхания образуется пероксид водорода. Однако физиологическая роль данного процесса до конца не установлена. Некоторые авторы предполагают, что  $H_2O_2$  явился эволюционным предшественником

H<sub>2</sub>O в качестве донора электронов для фотосистемы II [42, 140] и донора кислорода в современном фотосинтетическом процессе [127]. Г. Г. Комиссаровым обосновывается концепция фотосинтеза, согласно которой источником кислорода (водорода) при фотосинтезе служит не вода, а пероксид водорода экзо- и/или эндогенного происхождения [5].

Под влиянием многочисленных работ в области редокс-регуляции сегодня происходит не только переоценка роли свободнорадикальных процессов в функционировании организмов, но изменяется и понимание ряда основных понятий свободнорадикальной медицины, включая «окислительный стресс». Термин «окислительный стресс» был введен Х. Зисом в 1985 г. Согласно этому определению, окислительный стресс – это нарушение баланса про- и антиоксидантов в пользу первых [149]. В 1991 г. появилась новая редакция термина [150], согласно которой окислительный стресс – это нарушение баланса про- и антиоксидантов в пользу первых, которое может привести к повреждению. Полученные данные о регуляторной роли окислителей, с одной стороны, и неэффективность антиоксидантной терапии в борьбе с последствиями окислительного стресса, с другой стороны, привели к тому, что в 2006 г. Д. Джонс определил окислительный стресс как нарушение редокс-сигнализации и контроля [92]. В соответствии с современным определением окислительный стресс – это дисбаланс между оксидантами и антиоксидантами в пользу оксидантов, ведущий к нарушению редокс-сигнализации и контроля и/или к повреждению макромолекул [148]. Концепция «редокс-сигнализации» объединяет клеточные пути трансдукции сигнала, в которых интегративным элементом выступает серия электрон-транспортных реакций с участием свободных радикалов и нерадикальных окислителей [68, 94].

Следует различать понятия «редокс-сигнализация» и «редокс-регуляция». Часто редокс-регуляцию связывают с регуляцией активности клеток окислителями либо восстановителями. В нашем представлении редокс-регуляция – это регуляция скорости и направления окислительно-восстановительных процессов в биологических системах, осуществляемая при действии различных химических агентов и физических факторов, т. е. в общем случае – тип физико-химической регуляции. В рамках предлагаемого нами определения редокс-регуляция может осуществляться не только с участием окислителей и восстановителей, но и при действии различных модуляторов (химических, физических) активности систем, генерирующих и утилизирующих АФК. Следует также отметить, что редокс-регуляция клеточной активности может осуществляться не только при непосредственном действии на клетки окислителей либо восстановителей, но также и при действии молекул, модифицированных окислителями (рисунок) [3, 20].

В противовес свободнорадикальной гипотезе повреждения биосистем в 2008 г. Д. Джонс выдвинул «редокс-гипотезу», основанную на 4 постулатах [91]: 1) «Все биологические системы содержат редокс-элементы, которые функционируют в клеточной сигнализации, движении макромолекул и физиологической регуляции; 2) организация и координация редокс-активности этих элементов осуществляется через редокс-цепи, включающие общие контролируемые узлы (т. е. тиоредоксина, GSH); 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, нарушения функционирования биомолекул в живых системах связывают не столько со свободнорадикаль-

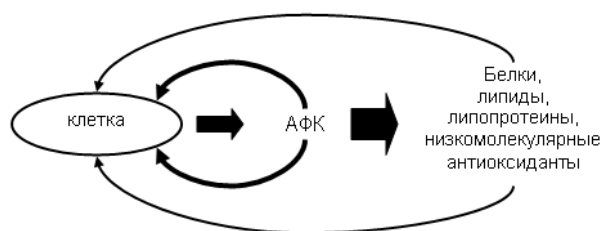


Схема прямого и опосредованного действия АФК на клетки

ным повреждением, сколько с нарушением процессов переноса электронов между макромолекулами и окислителями либо восстановителями. Несмотря на то что «редокс-гипотеза» еще не получила широкого экспериментального подтверждения, появление новых подходов свидетельствует о начале нового этапа в развитии представлений об окислительно-восстановительных процессах в живых системах.

**Современные подходы к описанию механизмов действия окислителей.** Начиная с начала 90-х гг. прошлого века стали появляться обзоры экспериментальных работ, посвященных изучению сигнальной роли АФК [см., например, 22, 62, 122, 141, 156]. В них приводятся многочисленные данные об участии АФК в регуляции общих и специализированных клеточных функций, таких как пролиферация, рост, экспрессия генов, иммунный ответ, синаптическая пластичность, а также контроль метаболизма и гибели клеток. Существенно отметить, что АФК, являются, по-видимому, универсальными биорегуляторами жизненных функций у всех типов живых организмов – от бактерий и простейших до высших растений и животных. Однако в рамках традиционной биохимии, фармакологии и физиологии механизмы регуляции активными формами кислорода широкого спектра биохимических и физиологических процессов, их профилактическое и терапевтическое действие трудно объяснимы. Поскольку АФК участвуют в регуляции практически всех метаболических процессов, включая регуляцию экспрессии генов, их стали относить по аналогии с внутриклеточными сигнальными молекулами, выполняющими информационные функции (цАМФ, цГМФ,  $Ca^{2+}$  и др.), к категории вторичных мессенджеров. Однако между АФК и «классическими» вторичными мессенджерами есть целый ряд существенных различий. Во-первых, у всех классических мессенджеров существуют белковые мишени, имеющие специфические центры связывания, при взаимодействии с которыми мессенджеры и осуществляют свое регуляторное действие за счет изменения конформации белков-мишеней. Во-вторых, скорости образования и утилизации молекулярных мессенджеров гораздо ниже, чем скорости образования и утилизации АФК, что обеспечивает надежное взаимодействие лиганда (мессенджера) с активным центром мишени. Что же касается АФК, то в настоящее время в качестве возможных мишеней действия рассматриваются цистеины, метионины и металлсодержащие группы белков. Взаимодействие вторичных мессенджеров с белками-мишенями вызывает у них как обратимые, так и необратимые структурные модификации. Различные типы обратимого переключения активности белков с участием окислителей и восстановителей представлены в табл. 4.

Т а б л и ц а 4. Механизмы переключения функциональной активности белков

Тип модификации белка	Окислители и восстановители, участвующие в сигнализации	Белки-мишени
Связывание с гемовой группой	$NO$ , $CO$	Гуанилатциклаза, цитохромоксидаза и др.
Окисление-восстановление Fe-S-кластеров	$H_2O_2$ , $NO$ , $O_2^-$	SoxR, FNR и др.
Нитрозилирование цистеинов	$NO$ , $ONOO^-$	NMDA-рецепторы, рианодин-чувствительные $Ca^{2+}$ -каналы и др.
S-глутатиолирование	GSH, RSH, $NO$ , $H_2O_2$	Протеинкиназа С, рианодин-чувствительные $Ca^{2+}$ -каналы и др.
Формирование сульфенатов (окисление тиолатов)	$H_2O_2$ , $NO$ , $O_2^-$	Тирозинфосфатазы, Orp1, и др.
Образование дисульфидных связей	$H_2O_2$ , $NO$ , $O_2^-$	OxyR, Yap 1, рианодин-чувствительные $Ca^{2+}$ -каналы и др.
Окисление метионинов	$H_2O_2$ , $ONOO^-$	Кальмодулин, фосфофоламбан и др.

Указанные модификации иногда рассматриваются в качестве различных типов «переключателей» активности белка. Например, существует мнение, что основная роль в регуляции активности фактора транскрипции OxyR принадлежит не образованию дисульфидной связи между Cys<sup>199</sup> и Cys<sup>208</sup>, а различным окислительным модификациям Cys<sup>199</sup>: R-SOH, R-SNO и R-SSG [83, 104]. Предполагается, что эти модификации активируют OxyR в различной степени, соответ-



ственно, и разные воздействия инициируют разные транскрипционные ответы (модель множественных активных состояний) [104]. Однако взаимодействие сульфенатов, нитрозилированных и S-глутатионированных аминокислотных остатков с тиолами белков приводит к образованию внутрибелковых и межбелковых дисульфидных связей [15]. Таким образом, остается не ясным, каким образом в клетках достигается специфичность действия АФК, выполняющих роль вторичных мессенджеров.

Предполагается, что  $H_2O_2$  вступает в реакции в основном с депротонированными цистеинами ( $-S^-$ ), поэтому специфичность окислительной модификации в составе белковых молекул связывают с наличием тиолат-анионов ( $-S^-$ ) [4, 155]. Для большинства цистеинов, входящих в состав белков, значение  $pK_a$  равно 8,5. При физиологических условиях тиольные группы этих цистеинов находятся в протонированной форме (RSH). В некоторых белках цистеины, расположенные вблизи положительных зарядов аминокислотных групп, имеют значения  $pK_a$ , равные 5,0, и при физиологических pH их тиольные группы находятся в депротонированном состоянии и могут окисляться в сульфеновую кислоту [57, 138]. Тирозинфосфатазы содержат подобные «реакционные» цистеины в активном центре [84]. Механизм переходной активации тирозинфосфатаз основывается на окислении реакционных цистеинов до формы сульфеновой кислоты (R-SOH). В форме сульфената активность фосфатазы значительно снижена или полностью отсутствует [69]. Восстановление сульфеновой кислоты может происходить через образование дисульфидных связей между SH-группами белка и низкомолекулярными тиолами (прежде всего, глутатионом) [58]. Смешанные дисульфиды восстанавливаются до исходной формы в результате действия ферментов глуторедоксина или тиоредоксина [43, 49].

Однако константы скорости реакции второго порядка для  $H_2O_2$  с тиолат-анионами различных белков ( $\sim 10-100 M^{-1} \cdot c^{-1}$ ) на несколько порядков ниже, чем константы скорости реакции второго порядка для пероксида водорода и органических субстратов в присутствии гемсодержащих пероксидаз ( $\sim 10^7 M^{-1} \cdot c^{-1}$ ) [155]. Исключением является тиолат-анион бактериального белка OxyR, константа скорости реакции второго порядка которого с  $H_2O_2$  составляет  $2 \cdot 10^5 M^{-1} \cdot c^{-1}$  [39]. Наибольшее значение константы скорости реакции второго порядка для  $H_2O_2$  с клеточными тиолами наблюдается у водорастворимого трипептида глутатиона, которое в присутствии глутатионпероксидазы составляет  $6 \cdot 10^7 M^{-1} \cdot c^{-1}$  [48]. Для вторичных мессенджеров константа связывания с белком-мишенью, как правило, выше, чем константа связывания с утилизирующими ферментами [26].

При действии классических вторичных мессенджеров активируются белки-мишени, характерные для каждого мессенджера. Таких специфических мишеней для АФК до сих пор не обнаружено. Так, рианодин-связывающие  $Ca^{2+}$ -каналы внутриклеточных  $Ca^{2+}$ -депо, которые рассматриваются как универсальные редокс-сенсоры клеток [129], активируются путем образования внутримолекулярных дисульфидов в результате взаимодействия с различными типами АФК, включая  $H_2O_2$  [67],  $O_2^-$  [101], HOCl [66], NO [29] и ONOOH [65]. Следует отметить, что формирование дисульфидов может происходить в результате прямой реакции цистеинов с  $H_2O_2$  или в результате их взаимодействия с GSSG, который образуется при окислении GSH пероксидом водорода с участием глутатионпероксидазы. Показано, что при увеличении соотношения GSSG/GSH активируются многие белки, включая рианодин-связывающие  $Ca^{2+}$ -каналы [170], OxyR [39] и др. [125].

Несмотря на то что в настоящее время механизмы регуляции специфических клеточных ответов АФК неясны, предполагается, что концентрация, локализация и активность внутриклеточных антиоксидантов – это факторы, играющие важную роль в реализации биологических эффектов АФК [163]. Таким образом, при описании механизма действия АФК необходимо учитывать присутствие антиоксидантов, что не рассматривается в концепции описания АФК как вторичных мессенджеров.

АФК и антиоксиданты следует рассматривать как группу функционально связанных соединений, для характеристики которых нами предлагается использовать термин «редокс-активные молекулы» [115]. Редокс-активные молекулы обладают рядом свойств, не характерных для других классов биологически активных соединений. Во-первых, имеется множество потенциальных внутриклеточных мишеней, не обладающих специфичностью (избирательностью) к веществам данного типа. Например, на препаратах сердца крысы показано, что после обработки тка-

ней  $\text{H}_2\text{O}_2$  сульфеновая кислота формируется у многих белков, включая актин, миозин, тропомиозин, АТФ-синтазу, ацил-СоА-дегидрогеназу, аконитазу, цитохром *c* оксидазу, миоглобин и др. [143]. Во-вторых, одно и то же вещество при разных концентрациях инициирует различные типы клеточных ответов. Например,  $\text{H}_2\text{O}_2$  в клетках одного типа в зависимости от концентрации может стимулировать пролиферацию, вызывать задержку роста и индуцировать апоптоз, что не характерно для действия большинства биологически активных веществ. Таким образом, редокс-активные молекулы следует рассматривать как новый тип регуляторных молекул, для описания механизмов действия которых требуются новые подходы. Это новый тип мессенджеров – мессенджеры, переносящие электроны (обозначим их как редокс-мессенджеры) [11].

В настоящее время на смену концепции, в которой АФК рассматривались как вторичные мессенджеры, приходит концепция «редокс-регуляции», в которой совокупность эффектов АФК рассматривается как определенный «редокс-сигнал» [90, 169]. Считается, что в процессах редокс-регуляции ключевую роль играют внутриклеточные тиолы. При этом основным нерешенным вопросом остается то, как редокс-сигнал воспринимается и передается внутри клетки [169].

В рамках концепции редокс-регуляции выдвинуты две модели для объяснения регуляторного действия АФК: 1) согласно одной из них АФК непосредственно модифицируют белки, окисляя их; 2) согласно другой – изменение внутриклеточной концентрации АФК вызывает изменение редокс-состояния внутриклеточной среды, что сопровождается изменением состояния белков.

В рамках первой модели предполагается наличие специальных редокс-сенсоров, которые избирательно активируются при определенном редокс-сигнале. Сторонники этой модели основываются на экспериментальных данных о том, что лишь небольшая часть белковых тиолов окисляется при различных стрессовых воздействиях, при этом различные наборы белков окисляются при различных типах стрессов [45, 110]. Однако в рамках данного подхода остается не ясным механизм избирательности действия редокс-сигнала и способ оценки вклада различных компонентов группы АФК в соответствующий редокс-сигнал.

Следует отметить, что при различных физиологических условиях состав образующихся в клетке АФК может меняться. Например, в метаболизме ксенобиотиков при участии флавиновых редуктаз образуются в основном  $\dot{\text{O}}_2^-$  и  $\text{H}_2\text{O}_2$ . При атеросклерозе важную роль играют  $\text{OCl}^-$ ,  $\text{ONOO}^-$  и другие АФК. Одни формы активных метаболитов кислорода вступают в реакции с тиолами только в форме тиолат-аниона, другие могут окислять и протонированные тиолы [128]. Первичным продуктом двухэлектронного окисления тиолов является сульфеновая кислота, первичным продуктом одноэлектронного окисления – радикал тиолов. В аэробных условиях тиоловые радикалы могут формировать дисульфидные связи, образуя супероксидный анион-радикал [15].

В качестве одного из критериев отбора сенсорных мишеней предлагается использовать «длину свободного пробега» окислителя и доступность мишени для окислителя [169]. Длина свободного пробега или расстояние, которое пройдет окислитель до взаимодействия с субстратом, определяется концентрацией всех субстратов ( $[S]$ ) и константой скорости реакции с этими субстратами ( $k$ ) на основе выражения [109]

$$\ln\left(\frac{C}{C_0}\right) = l \left( \frac{\sum_{i=1}^n k_i [S_i]}{D} \right)^{1/2}, \quad (1)$$

где  $l$  – расстояние, на котором концентрация окислителя  $C_0$  уменьшается до величины  $C$ ;  $D$  – коэффициент диффузии окислителя. Так, в среде, содержащей 2 мМ GSH, расстояние, на котором концентрация окислителя уменьшается в 10 раз, для  $\text{H}_2\text{O}_2$  составляет 1600 мкм, для  $\text{ONOO}^-$  – 60 мкм, для  $\text{HOCl}$  – 0,3 мкм, а для  $\dot{\text{O}}\text{H}$  – 0,02 мкм.

В растворах, содержащих один восстановитель, для окислителей не существует альтернативы для единственного субстрата. В биологических системах для АФК существует множество мишеней для окисления. Предполагается, что дополнительным критерием избирательности мишени к окислителю может выступать количественный параметр ( $r$ ), учитывающий конкуренцию между субстратами и определяющийся на основе выражения [169]:

$$r_1 = \frac{k_1[S_1]}{\sum_{i=2}^n k_i[S_i]}, \quad (2)$$

где  $k_i$  – константа скорости реакции второго порядка между окислителем и  $i$ -м субстратом;  $[S]$  – концентрация  $i$ -го субстрата. В рамках данного подхода низкая концентрация для мишени является ограничением избирательности, даже если константа скорости реакции достаточно высокая.

Биологическая активность антиоксидантов также определяется их физико-химическими характеристиками. Например, показано, что биологическая активность антиоксидантов зависит от антирадикальной активности ( $k_7$ ), которая определяется как константа обменной реакции радикалов и свободнорадикальных ингибиторов [1]:



Установлена следующая закономерность: вводимые в организм антиоксиданты должны обладать такой антирадикальной активностью  $k_7$ , чтобы произведение  $k_7[S]$  для вводимого экзогенного ингибитора было сравнимо с величиной  $k_7[S]$  для природного, эндогенного ингибитора ( $[S]$  – концентрация антиоксиданта) [6]. Если  $k_7[S]$  экзогенного антиоксиданта ниже  $k_7[S]$  эндогенного, то в свободнорадикальных реакциях, протекающих в условиях *in vitro* и *in vivo*, в первую очередь, расходуется собственный, а не вводимый антиоксидант. Однако механизм избирательности мишени с использованием ее константы скорости реакции с окислителем и внутриклеточной концентрации до сих пор не обоснован.

Несмотря на то что *in vitro* супероксид окисляет редокс-чувствительный железосодержащий центр белка SoxR *E. coli* [2Fe-2S], ответственный за его промотерную активность, концентрация  $\dot{O}_2^-$  *in vivo* никогда не достигает таких уровней, при которых эта реакция может осуществляться [113]. Теоретические оценки, выполненные для ключевых участников редокс-регуляции – тирозинфосфатаз, показывают, что для инактивации фермента необходимо использовать  $H_2O_2$  в миллимолярных концентрациях [155, 169]. В кинетической модели тирозинфосфатазы не способны конкурировать в качестве мишени с глутатионом, который, согласно вышеуказанным критериям, будет выступать главной мишенью для окислителей. При этом механизм передачи информации от глутатиона к белкам не обоснован.

Экспериментально показано, что *in vivo* тирозинфосфатазы инактивируются АФК, образующимися после активации рецепторов факторами роста [108, 112]. По оценкам различных авторов, внутриклеточная концентрация  $H_2O_2$ , образующегося в процессах трансдукции сигнала, не превышает  $10^{-3}$  мМ [156]. Таким образом, окисление тирозинфосфатаз пероксидом водорода, образующимся при стимуляции клеток факторами роста, является маловероятным.

В рамках другой модели редокс-регуляции для объяснения регуляторного действия АФК предлагается рассматривать внутриклеточное редокс-состояние как своего рода преобразователь («транздьюсер»), регулирующий передачу сигналов на различные внутриклеточные эффекторы [12, 114, 144, 152]. Сенсорные системы внутри клеток чувствительны к изменениям параметров внутриклеточного редокс-состояния и с помощью белков-посредников формируют функциональный клеточный ответ. Ключевым вопросом данного подхода является выбор адекватного способа физико-химического описания редокс-состояния.

Количественные изменения внутриклеточного редокс-состояния часто связывают с изменением величины редокс-потенциала глутатиона [95, 144]. По мнению ряда исследователей, глутатион является основным антиоксидантом клеток [95]. Определение редокс-потенциала глутатиона ( $E_{\text{GSSG}/2\text{GSH}}$ ) осуществляется путем измерения концентрации окисленного (GSSG) и восстановленного глутатиона (GSH) и вычисления редокс-потенциала глутатиона по формуле Нернста:

$$E_{\text{GSSG}/2\text{GSH}} = \left( E^0 + \frac{2,3RT}{zF} \lg \frac{[\text{GSSG}]}{[\text{GSH}]^2} \right), \quad (4)$$

где  $E^0$  – стандартный редокс-потенциал глутатиона при pH 7,0;  $R$  – универсальная газовая постоянная ( $R = 8,314 \text{ Дж}\cdot\text{К}^{-1}\cdot\text{моль}^{-1}$ );  $T$  – температура (К);  $F$  – постоянная Фарадея ( $F = 9,6485 \cdot 10^4 \text{ Кл}\cdot\text{моль}^{-1}$ );  $z$  – число перенесенных электронов (для глутатиона  $z=2$ ).

Считается, что при изменении редокс-состояния глутатиона изменяется редокс-состояние белковых тиолов [144]. При этом предполагается, что белковые тиолы являются нанопереклещателями в процессах трансдукции сигналов с участием глутатиона [144]. Нанопереклещатели могут быть двух типов и характеризуются следующими реакциями:



где PSH – тиол белка; PSSG – смешанный дисульфид белка; PSS – дисульфид белка. При изменении редокс-потенциала глутатиона величина отношения  $[\text{PSSH}]/[\text{PSH}]$  для переключателя типа I будет в 2 раза меньше, чем величина изменения отношения  $[\text{PSS}]/[\text{P}(\text{SH})_2]$  для переключателя типа II [144]. Предполагается, что в разных клеточных состояниях активируются различные наборы нанопереклещателей [144]. Использование редокс-потенциала глутатиона в качестве индикатора редокс-состояния клетки явилось основной причиной для критики второго подхода описания механизма редокс-регуляции. Передача информации от глутатиона на белковые тиолы возможна при условии, что все тиол/дисульфидные редокс-пары клетки находятся в состоянии термодинамического равновесия [144, 169]. Однако обнаружено, что изменение окислительного состояния белковых тиолов может происходить без изменения редокс-состояния глутатиона [74]. Наряду с этим показано, что внутриклеточные и внеклеточные тиол/дисульфидные редокс-пары CysSS/Cys и GSSG/GSH не находятся в состоянии равновесия друг с другом [93, 102].

Для количественной оценки редокс-состояния используются также редокс-потенциалы пиридиннуклеотидов и аскорбиновой кислоты [40, 50]. Однако количественная характеристика редокс-состояния с использованием редокс-потенциала только одной редокс-пары недостаточно адекватно отображает окислительно-восстановительный баланс в тканях и его изменение при окислительном стрессе и может приводить к противоречивым выводам относительно величины и направления изменений редокс-состояния клеток [40].

Тиол/дисульфидные редокс-пары участвуют в окислительно-восстановительных реакциях как между собой, так и в реакциях с другими окислителями и восстановителями. На основе ряда экспериментальных данных предполагается, что в цитоплазме формируются электрон-транспортные цепи, осуществляющие перенос электронов с участием редокс-активных молекул независимо друг от друга [91]. При этом структурная организация, механизмы регуляции и функционирования клеточных электрон-транспортных цепей в цитоплазме до сих пор не изучены.

Следует также отметить, что действие редокс-активных молекул определяется не конкретной молекулой, а группой взаимосвязанных участников (электрон-транспортных цепей). АФК взаимодействуют не только с антиоксидантами и мишенями, но и между собой. При этом действие конкретной активной формы кислорода зависит не только от типа внутриклеточных антиоксидантов, но и от типа других АФК, присутствующих в клетке. Например, известно, что  $\text{NO}$  может активировать гуанилатциклазу в результате обратимого связывания с двухвалентным железом ее гема. Однако в присутствии  $\text{O}_2^-$  и  $\text{NO}$  в результате реакции между ними образуется  $\text{ONOO}^-$  [131]. Одновременное образование  $\text{NO}$  и  $\text{O}_2^-$  обнаружено во многих типах клеток, включая нервные, эндотелиальные и иммунокомпетентные клетки. Константа скорости реакции образования пероксинитрит-иона ( $\sim 10^{10} \text{ М}^{-1}\cdot\text{с}^{-1}$ ) в несколько раз превышает константу скорости реакции дисмутации  $\text{O}_2^-$  ферментом супероксиддисмутазой ( $\sim 2 \cdot 10^9 \text{ М}^{-1}\cdot\text{с}^{-1}$ ) и на несколько порядков превышает константу реакций связывания  $\text{NO}$  с гемовым железом ( $\sim 3 \cdot 10^7 \text{ М}^{-1}\cdot\text{с}^{-1}$ ), поэтому образование пероксинитрита в клетке является наиболее вероятным.

Предполагается, что различные клеточные состояния зависят от соотношения концентраций  $\text{NO}$  и  $\text{O}_2^-$  [161]. В состоянии покоя наблюдается высокое соотношение  $\text{NO}/\text{O}_2^-$  ( $> 10$ ), а преобладающим интермедиатом является  $\text{NO}$ . Активация клеток будет наблюдаться при отношении  $\text{NO}/\text{NO}/\text{O}_2^-$

около 2–3, когда преобладающим интермедиатом будет  $\text{NO}^+$ . Максимальной активации соответствует отношение  $\text{NO}/\text{O}_2^-$ , равное 1, при котором преимущественно образуется  $\text{ONOO}^-$ , а при отношении  $\text{NO}/\text{O}_2^-$  менее 0,5 будет происходить повреждение клеточных мишеней в результате образования  $\text{NO}$  и  $\text{HO}$ . Таким образом, в биологической среде редокс-состояние зависит от взаимодействия многих редокс-пар и не может быть охарактеризовано на основе классического уравнения Нернста.

Для количественной характеристики стационарного редокс-состояния многокомпонентной среды нами теоретически и экспериментально обоснованы новые физико-химические параметры – «эффективный редокс-потенциал» и «редокс-буферная емкость», учитывающие вклад основных участников окислительно-восстановительных процессов в клетках [12, 13, 114, 117]. Эффективный редокс-потенциал характеризует «суммарную» способность многокомпонентной внутриклеточной среды в стандартных условиях отдавать электроны [12, 114]. Эффективный редокс-потенциал определяется уравнением

$$E^{\text{эфф}} = \sum_{i=1}^k a_i \cdot E_i^{0'} \quad (7)$$

где коэффициент

$$a_i = \frac{c_i z_i}{\sum_{j=1}^k c_j z_j} \quad (8)$$

представляет собой «удельный вес заряда», перенесенного в реакции  $i$ -й редокс-парой, т. е. величину отношения заряда, перенесенного  $i$ -й редокс-парой, к суммарному заряду, перенесенному во всех реакциях;  $E^{\text{эфф}}$  – эффективный редокс-потенциал клеток;  $E_i^{0'}$  – стандартный редокс-потенциал  $i$ -го донора или акцептора электронов в биологической жидкости при pH 7,0;  $c_i$  – концентрация  $i$ -й редокс-активной молекулы в биологической жидкости;  $z_i$  – число электронов, которые присоединяет молекула окисленной формы вещества, переходя в восстановленную форму;  $k$  – число различных типов редокс-пар, участвующих в формировании редокс-состояния. Физико-химический параметр «редокс-буферная емкость» используется для количественной характеристики способности клеток противодействовать изменению величины эффективного редокс-потенциала внутриклеточной среды при изменении концентраций окислителей или восстановителей [13, 117]. Зависимость величины редокс-буферной емкости от концентрации редокс-активных молекул выражается

$$r = \frac{\sum_{i=1}^k c_i z_i}{z_{\text{ок}} \cdot (E_{\text{ок}}^{0'} - E^{\text{эфф}})} \quad (9)$$

где  $z_{\text{ок}}$  – число электронов, которые присоединяет молекула окислителя, переходя в восстановленную форму.

Показано, что новые физико-химические параметры могут быть использованы не только для описания окислительно-восстановительных процессов, но и для характеристики функционального состояния клеток [10, 139]. Теоретически и экспериментально доказана взаимосвязь параметров гомеостаза, характеризующих кислотно-основное и редокс-состояния клеток [8]. С использованием разработанного нами метода измерения эффективного редокс-потенциала и редокс-буферной емкости показано, что величины указанных параметров редокс-состояния являются также индикаторами окислительных нарушений в клетках при патологии [10]. Показано также, что указанные параметры могут быть использованы при описании механизмов редокс-сигнализации в клетках [115].

Таким образом, обоснована необходимость учета нового типа сигнала в клетках, основанного на регуляции состояния клеточных компонент посредством редокс-зависимого механизма. В на-

стоящее время активно ведется поиск количественных характеристик данного типа информационного сигнала. Центральное место в дальнейших исследованиях окислительно-восстановительных процессов в биологических системах должны занимать исследования физических закономерностей, определяющих свойства взаимодействующих редокс-активных молекул и направления переноса электронов и протонов.

Нет сомнения в том, что дальнейшее изучение редокс-свойств клеток позволит получить данные, важные для понимания общих закономерностей функционирования клетки и регуляции ее функциональной активности, что, помимо фундаментального значения, внесет существенный вклад в решение ряда практических вопросов, включая разработку новых редокс-нанобиотехнологий для медицинских приложений.

## Литература

1. Бурлакова Е. Б. // Рос. хим. журн. (Журн. Рос. хим. об-ва им. Д. И. Менделеева). 2007. Т. LI, № 1. С. 3–12.
2. Владимиров Ю. А. // Вестн. Российской академии медицинских наук. 1998. № 7. С. 43–46.
3. Горудко И. В., Вахрушева Т. В., Мухортова А. В., Черенкевич С. Н. и др. // Биол. мембраны. 2010. Т. 27, № 4. С. 314–324.
4. Зенков Н. К., Меньщикова Е. Б., Ткачев В. О. // Кислород и антиоксиданты. 2009. Вып. 1. С. 3–64.
5. Комиссаров Г. Г. Фотосинтез: физико-химический подход. М., 2003.
6. Кухтина Е. Н., Храпова Н. Г., Бурлакова Е. Б. и др. // Докл. АН СССР. 1983. Т. 272, № 3. С. 729–732.
7. Лойко Е. Н., Самаль А. Б., Шуляковская С. М. // Биохимия. 2003. Т. 69, № 6. С. 1506–1513.
8. Мартинович Г. Г., Мартинович И. В., Голубева Е. Н., Черенкевич С. Н. // Биофизика. 2009. Т. 54, № 5. С. 846–851.
9. Мартинович Г. Г., Мартинович И. В., Голубева Е. Н., Черенкевич С. Н. и др. // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2012. № 2. С. 85–104.
10. Мартинович Г. Г., Мартинович И. В., Черенкевич С. Н. // Биофизика. 2008. Т. 53, № 4. С. 618–623.
11. Мартинович Г. Г., Мартинович И. В., Черенкевич С. Н. // Вестн. ГрГУ им. Я. Купалы. Сер. 2. 2008. № 3. С. 150–155.
12. Мартинович Г. Г., Черенкевич С. Н. // Вестн. Белорус. ун-та. Сер. 1. 2004. № 1. С. 28–36.
13. Мартинович Г. Г., Черенкевич С. Н. // Вестн. Белорус. ун-та. Сер. 1. 2004. № 3. С. 14–19.
14. Мартинович Г. Г., Черенкевич С. Н., Денисов А. А. и др. // Вестн. Белорус. ун-та. Сер. 2. 2003. № 3. С. 17–23.
15. Мартинович Г. Г., Черенкевич С. Н. Окислительно-восстановительные процессы в клетках: Мн., 2008.
16. Мартинович Г. Г., Черенкевич С. Н. // Успехи физиол. наук. 2008. Т. 39, № 3. С. 29–44.
17. Меньщикова Е. Б., Зенков Н. К., Ланкин В. З. и др. Окислительный стресс: Патологические состояния и заболевания. Новосибирск, 2008.
18. Меньщикова Е. Б., Ланкин В. З., Зенков Н. К. и др. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты. М., 2006.
19. Осипов А. Н., Азизова О. А., Владимиров Ю. А. // Успехи биол. химии. 1990. Т. 31. С. 108–208.
20. Панасенко О. М., Горудко И. В., Костевич В. А. и др. // Эфферентная и физико-химическая медицина. 2012. № 1. С. 25–29.
21. Хавинсон В. Х., Баринов В. А., Арутюнян А. В., Малинин В. В. Свободнорадикальное окисление и старение. СПб., 2003.
22. Черенкевич С. Н., Мартинович Г. Г. // Вестн. ГрГУ им. Я. Купалы. Сер. 2. 2008. № 1. С. 109–117.
23. Черенкевич С. Н., Мартинович Г. Г., Мартинович И. В., Голубева Е. Н. // Журн. ГрГМУ. 2009. № 2. С. 9–11.
24. Черенкевич С. Н., Мартинович Г. Г. Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем: Междунар. науч. конф. Минск, 6–8 октября 2004 г.: Сб. статей в 2 частях. Ч. I. Мн., 2004. С. 218–220.
25. Тарусов Б. Н. Основы биологического действия радиоактивных излучений. М., 1954.
26. Ткачук В. А. Введение в молекулярную эндокринологию. М., 1983.
27. Шамова Е. В., Осипенко М. А., Гольтяев М. В. и др. // Эфферентная и физико-химическая медицина. 2011. № 1. С. 34–37.
28. Эмануэль Н. М. // Тр. Моск. об-ва испыт. природы. М., 1963. С. 73.
29. Aghdasi B., Reid M. B., Hamilton S. L. // J. Biol. Chem. 1997. Vol. 272. P. 25462–25467.
30. Allen J. F., Bennett J., Steinback K. E., Arntzen C. J. // Nature. 1981. Vol. 291. P. 25–29.
31. Allen J. F. // Journal of Cosmology. 2010. Vol. 10. P. 3362–3373.
32. Allen J. F. // Phil. Trans. R. Soc. Lond. B. 2003. Vol. 358. P. 19–38.
33. Allen J. F., Raven J. A. // J. Mol. Evol. 1996. Vol. 42. P. 482–492.
34. Allen J. F. // Science. 2003. Vol. 299. P. 1530–1532.
35. Allen R. G. // Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1991. Vol. 196. P. 117–129.
36. Allen R. G., Balin A. K. // Free Radic. Biol. Med. 1989. Vol. 6. P. 631–661.
37. Allen R. G., Venkatraj V. S. // J. Nutr. 1992. Vol. 122. P. 631–635.
38. Andrade F. H., Reid M. B., Allen D. G., Westerblad H. // J. Physiol. (Lond). 1998. Vol. 509. P. 565–575.
39. Aslund F., Zheng M., Beckwith J., Storz G. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1999. Vol. 96. P. 6161–6165.
40. Attene-Ramos M., Kitiphongspattana K., Ishii-Schrade K., Gaskins H. // Am. J. Physiol. Cell. Physiol. 2005. Vol. 289. P. C1220–C1228.

41. Avshalumov M. V., Chen B. T., Rice M. E. // *Brain Res.* 2000. Vol. 882. P. 86–94.
42. Bader K. P. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1994. Vol. 1188. P. 213–219.
43. Barford D. // *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2004. Vol. 14. P. 679–686.
44. Barlow R. S., White R. E. // *Am. J. Physiol. (Heart Circ. Physiol.)* 1998. Vol. 275. P. H1283–H1289.
45. Batty J. W., Hampton M. B., Winterbourn C. C. // *Biochem. J.* 2005. Vol. 389. P. 785–795.
46. Beckman B. S., Balin A. K., Allen R. G. // *J. Cell. Physiol.* 1989. Vol. 139. P. 370–376.
47. Beny J. L., Von der Weid P. Y. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1991. Vol. 176. P. 378–384.
48. Bindoli A., Fukuto J. M., Forman H. J. // *Antioxid Redox Signal.* 2008. Vol. 10. P. 1549–1564.
49. Biswas S., Chida A. S., Rahman I. // *Biochem. Pharmacol.* 2006. Vol. 71. P. 551–564.
50. Bohndiek S. E., Kettunen M. I., Hu D. E. *et al.* // *J. Am. Chem. Soc.* 2011. Vol. 133. P. 11795–11801.
51. Borrás C., Esteve J. M., Vina J. R. *et al.* // *J. Biol. Chem.* 2004. Vol. 279, N 33. P. 34332–34335.
52. Burdon R., Alliangana D., Gill V. // *Free Radic. Res.* 1995. Vol. 23. P. 471–486.
53. Burdon R., Gill V., Alliangana D. // *Free Radic. Res.* 1996. Vol. 24. P. 81–93.
54. Burdon R., Rice-Evans C. // *Free Radic. Res. Commun.* 1989. Vol. 6. P. 345–358.
55. Casciari J. J., Riordan N. H., Schmidt T. L. // *British Journal of Cancer.* 2001. Vol. 84. P. 1544–1550.
56. Chaudiere J., Ferrari-Iliou R. // *Food Chem. Toxicol.* 1999. Vol. 37. P. 949–962.
57. Cho S. H., Lee C. H., Ahn Y. *et al.* // *FEBS Lett.* 2004. Vol. 560. P. 7–13.
58. Claiborne A., Yeh J., Mallett T. *et al.* // *Biochemistry.* 1999. Vol. 38. P. 15407–15416.
59. Conour J. E., Graham W. V., Gaskin H. R. // *Physiol. Genomics.* 2004. Vol. 18. P. 196–205.
60. Davis K. // *IUBMB Life.* 1999. Vol. 48. P. 41–47.
61. Delafontaine P., Ku L. // *Cardiovasc. Res.* 1997. Vol. 33. P. 216–222.
62. Droge W. // *Physiol. Rev.* 2002. Vol. 82. P. 47–95.
63. Erkell L. J. // *Exp. Cell Biol.* 1980. Vol. 48. P. 374–380.
64. Essex D. W., Li M. // *Biochemistry.* 2003. Vol. 42. P. 129–136.
65. Eu J. P., Xu L., Stamler J. S., Meissner G. // *Biochem. Pharmacol.* 1999. Vol. 57. P. 1079–1084.
66. Favero T., Webb J., Papiez M. *et al.* // *J. Appl. Physiol.* 2003. Vol. 94. P. 1387–1394.
67. Favero T., Zable A., Abramson J. // *J. Biol. Chem.* 1995. Vol. 270, N 43. P. 25557–25563.
68. Fernandes C., Bonatto D., Laurindo F. R. // *Studies on Cardiovascular Disorders.* N. Y., Humana Press, 2010. P. 1–41.
69. Fischer E., Charbonneau H., Tonks N. // *Science.* 1991. Vol. 253. P. 401–406.
70. Foyer C. H., Allen J. F. // *Antioxid. Redox Signal.* 2003. Vol. 5. P. 3–5.
71. Friesen C., Kiass S., Debatin K. // *Cell Death Differ.* 2004. Vol. 11. Suppl. 1. P. S73–S85.
72. Galli S., Labato M. I., Bal de Kier Joffe E. *et al.* // *Cancer Res.* 2003. Vol. 63. P. 6370–6377.
73. Gao Y. J., Lee R. // *Br. J. Pharmacol.* 2005. Vol. 146. P. 1061–1068.
74. Go Y. M., Gipp J. J., Mulcahy R. T., Jones D. P. // *J. Biol. Chem.* 2004. Vol. 279. P. 5837–5845.
75. Gerschman R., Gilbert D. L., Nye S. V. *et al.* // *Science.* 1954. Vol. 119, N 3097. P. 623–626.
76. Gorudko I. V., Mukhortava A. V., Caraher B. *et al.* // *Arch. Biochem. Biophys.* 2011. Vol. 516. P. 173–181.
77. Gorudko I. V., Shamova E. V., Shishlo L. M. *et al.* // *Biophysics.* 2012. Vol. 57. P. 76–80.
78. Haddad J. // *Respiratory Research.* 2002. Vol. 3. P. 26.
79. Halliwell B., Gutteridge J. M. C. // *Free Radical Biol. Med.* 1995. Vol. 18, №1. P. 125–126.
80. Halliwell B., Gutteridge J. M. C. *Free Radicals in Biology and Medicine*, 4th edn. Oxford: Clarendon Press, 2007.
81. Harman D. // *Antiox. Redox Signaling.* 2003. Vol. 5. P. 557–561.
82. Harman D. // *Biogerontology.* 2009. Vol. 10. P. 773–781.
83. Hausladen A., Privalle C. T., Keng T. *et al.* // *Cell.* 1996. Vol. 86. P. 719–729.
84. Hecht D., Zick Y. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1992. Vol. 188. P. 773–779.
85. Hedley D., Chow S. // *Methods Cell Biol.* 1994. Vol. 42. Pt B. P. 31–44.
86. Hogg N., Kalyanaraman B. // *Bioch. Biophys. Acta.* 1999. Vol. 1411. P. 378–384.
87. Howes R. M. // *Ann. N Y Acad. Sci.* 2006. Vol. 1067. P. 22–26.
88. Ida M., Sunaga S., Hirota N. *et al.* // *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 1997. Vol. 123. P. 619–622.
89. Janaky R., Dohovics R., Saransaari P., Oja S. S. // *Neurochem. Res.* 2007. Vol. 32. P. 1357–1364.
90. Janssen-Heininger Y. M., Mossman B. T., Heintz N. H. *et al.* // *Free Rad. Biol. Med.* 2008. Vol. 45. P. 1–17.
91. Jones D. P. // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2008. Vol. 295. P. C849–C868.
92. Jones D. P. // *Antioxid. Redox Signal.* 2006. Vol. 8. P. 1865–1879.
93. Jones D. P., Go Y. M., Anderson C. L. *et al.* // *FASEB J.* 2004. Vol. 18. P. 1246–1248.
94. Jones D. P. // *J. Intern. Med.* 2010. Vol. 268. P. 432–448.
95. Jones D. P. // *Methods Enzymol.* 2002. Vol. 348. P. 93–112.
96. Kamsler A., Segal M. // *J. of Neuroscience.* 2003. Vol. 23. P. 269–276.
97. Karanith S., Yu W. H., Walczewska A. *et al.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2000. Vol. 97. P. 1891–1896.
98. Karanith S., Yu W. H., Walczewska A. *et al.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2001. Vol. 98. P. 11783–11788.
99. Katoh S., Mitsui Y., Kitani K., Suzuki T. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1997. Vol. 241. P. 347–351.
100. Katoh S., Mitsui Y., Kitani K., Suzuki T. // *Biochem. J.* 1999. Vol. 338. P. 465–470.
101. Kawakami M., Okabe E. // *Mol. Pharmacol.* 1998. Vol. 53. P. 497–503.
102. Kemp M., Go Y. M., Jones D. P. // *Free Radic. Biol. Med.* 2008. Vol. 44. P. 921–937.
103. Kim B. Y., Han M. J., Chung A. S. // *Free Rad. Biol. Med.* 2001. Vol. 30, No. 6. P. 686–698.

104. Kim S. O., Merchant K., Nudelman R. et al. // Cell. 2002. Vol. 109. P. 383–396.
105. Kirsch M., De Groot H. // FASEB J. 2001. Vol. 15. P. 1569–1574.
106. Kontush A., Meyer S., Finckh B., et al. // J. Biol. Chem. 1996. Vol. 271, № 19. P. 11106–11112.
107. Kornas A., Kuźniak E., Slesak I., Miszalski Z. // Acta Biochimica Polonica. 2010. Vol. 57. P. 143–151.
108. Kwon J., Lee S. R., Yang K. S. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2004. Vol. 101. P. 16419–16424.
109. Lancaster Jr. // Methods Enzymol. 1996. Vol. 268. P. 31–50.
110. Le Moan N., Clement G., Le Maout S. et al. // J. Biol. Chem. 2006. Vol. 281. P. 10420–10430.
111. Lee J. Y., Chang M. Y., Park C. H. et al. // J. Neurosci. Res. 2003. Vol. 73. P. 156–165.
112. Lee S. R., Kwon K. S., Kim S. R., Rhee S. G. // J. Biol. Chem. 1998. Vol. 273. P. 15366–15372.
113. Marshall H. E., Merchant K., Stamler J. S. // FASEB J. 2000. Vol. 14. P. 1889–1900.
114. Martinovich G. G., Cherenkevich S. N., Sauer H. // Eur. Biophys. J. 2005. Vol. 34, № 7. P. 937–942.
115. Martinovich G. G., Martinovich I. V., Cherenkevich S. N. // Biophys. 2011. Vol. 56, N 3. P. 444–451.
116. Martinovich G. G., Martinovich I. V., Cherenkevich S. N. // Bull Exp. Biol. Med. 2009. Vol. 147, № 4. P. 469–472.
117. Martinovich G. G., Martinovich I. V., Cherenkevich S. N., Sauer H. // Cell Biochem. Biophys. 2010, Vol. 58, № 2. P. 75–83.
118. Matoba T., Shimokawa H., Nakashima M., et al. // J. Clin. Invest. 2000. Vol. 106. P. 1521–1530.
119. McCall M. R., Frei B. // Free Rad. Biol. Med. 1999. Vol. 26, N 7/8. P. 1034–1053.
120. Miura H., Bosnjak J. J., Ning G. et al. // Cir. Res. 2003. Vol. 92. P. e31–e40.
121. Moosmann B., Behl C. // Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 1999. Vol. 96. P. 8867–8872.
122. Nathan C. // J. Clin. Invest. 2003. Vol. 111. P. 769–778.
123. Nations C., Allen R. G., Farmer K. et al. // Experientia. 1986. Vol. 42. P. 64–66.
124. Niki E., Noguchi N. // IUBMB Life. 2000. Vol. 50. P. 323–329.
125. Obin M., Shang F., Gong X. et al. // FASEB J. 1998. Vol. 12. P. 561–569.
126. O'Donnell V., Chumley P., Hogg N. et al. // Biochemistry. 1997. Vol. 36. P. 15216–15223.
127. Olson J. M., Blankenship R. E. // Photosyn. Res. 2004. Vol. 80. P. 373–386.
128. Peskin A. V., Winterbourn C. C. // Free Radic. Biol. Med. 2001. Vol. 30. P. 572–579.
129. Pessah I. N., Kim K. H., Feng W. // Front. Biosci. 2002. Vol. 7. P. a72–a79.
130. Pryor W., Castle L., Church D. // J. Am. Chem. Soc. 1985. Vol. 107. P. 211–217.
131. Pryor W., Squadrito G. // Am. J. Physiol. 1995. Vol. 268. L699–L722.
132. Puthiyaveetil S., Kavanagh T. A., Cain P. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 2008. Vol. 105. P. 10061–10066.
133. Rao G., Berk B. // Circ Res. 1992. Vol. 70. P. 593–599.
134. Rebec G. V., Pierce R. C. // Prog. Neurobiol. 1994. Vol. 43. P. 537–565.
135. Rebec G. V., Witowski S. R., Sandstrom M. I. et al. // Neurosci Lett. 2005. Vol. 378. P. 166–170.
136. Reid M. B. // J. Appl. Physiol. 2001. Vol. 90. P. 724–731.
137. Reid M. B., Khawli F. A., Moody M. R. // J. Appl. Physiol. 1993. Vol. 75. P. 1081–1087.
138. Reth M. // Nat. Immunol. 2002. Vol. 3. P. 1129–1134.
139. Rosales-Corral S., Reiter R. J., Tan D. et al. // Antiox. Redox Signal. 2010. Vol. 13. P. 193–247.
140. Samuilov V. D. // Biochemistry (Moscow). 1997. Vol. 62. P. 451–454.
141. Saran M., Bors W. // Free Radic. Res. Commun. 1989. Vol. 7 (3–6). P. 213–220.
142. Sauer H., Wartenberg M., Hescheler J. // Cell Physiol. Biochem. 2001. Vol. 11. P. 173–186.
143. Saurin A. T., Neubert H., Brennan J. P., Eaton P. // Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 2004. Vol. 101. P. 17982–17987.
144. Schafer F. Q., Buettner G. R. // Free Rad. Biol. Med. 2001. Vol. 30. P. 1191–1212.
145. Shamova E. V., Gorudko I. V., Drozd E. S. et al. // Eur Biophys J. 2011, Vol. 40, № 2. P. 195–208.
146. Sharma P., Raghavan S., Saini R., Dikshit M. // J. Leukoc. Biol. 2004. Vol. 75. P. 1070–1078.
147. Shaw C. A., Pasqualotto B. A., Curry K. // Neuroreport. 1996. Vol. 7. P. 1149–1152.
148. Sies H., Jones D. P. // Encyclopedia of Stress. Elsevier, San Diego, 2007.
149. Sies H. Oxidative Stress. London: Academic Press, 1985.
150. Sies H. Oxidative Stress. London: Academic Press, 1991.
151. Sleep N. H., Bird D. K. // Geobiology. 2007. Vol. 5. P. 101–117.
152. Smith J., Ladi E., Mayer-Proschel M., Noble M. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2000. Vol. 97. P. 10032–10037.
153. Stanner S. A., Hughes J., Kelly C., Buttriss J. // Public Health Nutrition. 2004. Vol. 7. P. 407–422.
154. Steinbeck M., Kim J., Trudeau M. et al. // J. Cell Physiol. 1998. Vol. 176. P. 574–587.
155. Stone J. R. // Arch. Biochem. Biophys. 2004. Vol. 422. P. 119–124.
156. Stone J. R., Yang S. // Antioxid. Redox Signal. 2006. Vol. 8. P. 243–270.
157. Takahashi T., Lord B., Schulze P. // Circulation. 2003. Vol. 107. P. 1912–1916.
158. Takahashi Y., Ogra Y., Suzuki K. T. // Life Sciences. 2004. Vol. 75. P. 301–311.
159. Teramoto S., Tomita T., Matsui H. et al. // Jpn. J. Pharmacol. 1999. Vol. 79. P. 33–40.
160. Todt I., Ngezahayo A., Ernst A., Kolb H. A. // J. Membrane Biol. 2001. Vol. 181. P. 107–114.
161. Ullrich V., Kissner R. // J. of Inorganic Biochem. 2006. Vol. 100. P. 2079–2086.
162. Varga V., Jenei Z., Janáky R. et al. // Neurochem. Res. 1997. Vol. 22. P. 1165–1171.
163. Veal E. A., Day A. M., Morgan B. A. // Mol. Cell. 2007. Vol. 26. P. 1–14.
164. Wartenberg M., Deidershagen H., Hescheler J., Sauer H. // J. Biol. Chem. 1999. Vol. 274. P. 27759–27767.
165. Weinert B. T., Timiras P. S. // J. Appl. Physiol. 2003. Vol. 95. P. 1706–1716.
166. White A. R., Barnham K. J., Huang X. et al. // J. Biol. Inorg. Chem. 2004. Vol. 9. P. 269–280.



167. Whiteman M., Rose P., Halliwell B. // Biochem. Biophys. Res. Comm. 2003. Vol. 303. P. 1217–1224.  
168. Wiese A., Pacifici R., Davies K. // Arch. Biochem. Biophys. 1995. Vol. 318. P. 231–240.  
169. Winterbourn C. C., Hampton M. B. // Free Rad. Biol. Med. 2008. Vol. 45. P. 549–561.  
170. Xia R., Stangler T., Abramson J. // J. Biol. Chem. 2000. Vol. 275, N 47. P. 36556–36561.

*S. N. CHERENKEVICH, G. G. MARTINOVICH, I. V. MARTINOVICH, I. V. GORUDKO, E. V. SHAMOVA*

#### **REDOX REGULATION OF CELLULAR ACTIVITY: CONCEPTS AND MECHANISMS**

##### **Summary**

This review covers the current ideas on the reactive oxygen species participation in the regulation of biological systems. A detailed analysis of current approaches to the description of the regulatory mechanisms of the oxidizing and reducing agents in biological systems is made. Oxidizing and reducing agents are considered as a new type of regulatory molecules – messengers that carry the electrons. Special attention is paid to the concept of redox regulation, in which the cumulative effect of reactive oxygen species is described as a certain “redox signal”. The means of its quantitative characteristics are discussed in the article.