

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РФ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ОРЛОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ Н.В. ПАРАХИНА»

Факультет биотехнологии и ветеринарной медицины

Кафедра анатомии, физиологии и хирургии

КУРСОВАЯ РАБОТА

по дисциплине **«Патологическая физиология»**

Тема: «Повреждающее действие активных форм кислорода и продуктов перекисного (свободнорадикального) окисления липидов»

Работу выполнила студентка 3 курса, 381/1 группы

Специальность 36.05.01 - Ветеринария

Квалификация - ветеринарный врач

Зайцева Светлана Алексеевна _____

Ф.И.О

подпись

Работа зарегистрирована: « ____ » _____ 20 __ г.

Лаборант: _____

Работа допущена к защите: « ____ » _____ 20 __ г.

Руководитель _____ к.в.н., зав. кафедрой, доцент Малахова Н.А.

подпись ученая степень, должность, Ф.И.О.

Курсовая работа защищена « ____ » _____ 20 __ г. с

оценкой _____

Руководитель _____ к.в.н. зав. кафедрой, доцент Малахова Н.А.

подпись ученая степень, должность, Ф.И.О.

Орел 2020

Содержание

Введение.....	3
1. Повреждающее действие активных форм кислорода	5
1.1. Активные формы кислорода	5
1.2. Действие активных форм кислорода в организме и процесс перекисного окисления липидов	6
1.3. Механизм образования активных форм кислорода.....	8
1.4. Характеристика системы антиоксидантной защиты организма	11
1.5. Окислительный стресс.....	13
1.6. Реакции образования активных форм кислорода и значение в физиологии и патологии клетки	16
1.7. Использование активных форм кислорода в организме	19
2. Продукты перекисного окисления липидов.....	21
2.1. Радикалы кислорода, образующихся в организме.....	21
2.2. Перекисное окисление липидов и повреждение клеток	22
2.3. Механизм повреждающего действия продуктов перекисного окисления липидов.....	24
Заключение	27
Список используемой литературы	
Приложение	

Введение

Актуальность темы. Большинство всех живых организмов, принадлежащих к сложным экологическим системам, в своей жизнедеятельности не могут обходиться без потребления кислорода, за счет которого способны выполнять разнообразные энергоемкие метаболические функции, а также производить субстраты, богатые энергией, т.е. осуществлять реакции ассимиляции и диссимиляции, поддерживая устойчиво-неравновесное состояние гомеостаза.

На протяжении уже более, чем полувека внимание исследователей привлекает изучение окислительно-восстановительных процессов, протекающих в организме с участием активных форм кислорода[4].

Активные формы кислорода - это высокореакционные химические частицы, возникающие в результате последовательного одноэлектронного восстановления молекулы кислорода и представляющие собой свободные радикалы (кислород, воду, гидропероксильный радикал, оксид азота). К активным формам кислорода можно отнести и другие соединения, легко продуцирующие свободные радикалы (озон, кислород, пероксинитрозная кислота, пероксид водорода, органические гидропероксиды, органические пероксиды).

Длительное время считалось, и до настоящего времени почти все исследователи считают, что активных форм кислорода запускают цепные свободно-радикальные реакции, приводящие к химическим изменениям важных биологических структур таких, как нуклеиновые кислоты, белки, липиды. За эти модификации, прежде всего ответственно перекисное окисление липидов, радикальные и молекулярные продукты которого владеют выраженным повреждающим действием, приводящим к развитию патологических состояний[7].

Активные формы кислорода образуются при функционировании других типов ферментов, иммуноглобулинов, независимо от их класса, а также в ходе постоянно протекающих в организме не ферментативных реакций.

Обнаружение в каждом определенном случае того порога, после которого кардинальным образом меняется роль активных форм кислорода в гомеостазе организма, как раз и представляет важную задачу[4].

Перекисное окисление осуществляется с помощью активных форм кислорода. Кислород является участником множества процессов в организме, необходимых для поддержания жизнедеятельности. Однако его активные формы могут причинять вред. Активные формы кислорода образуются в большинстве клеток организма, благодаря поэтапному присоединению электронов. Процесс происходит не только в липидах, затрагиваются и молекулы белков[5].

Объект исследования: литература по повреждающим действиям активных форм кислорода и продуктов перекисного (свободно радикального) окисления липидов.

Предмет исследования: активных форм кислорода и продукты перекисного (свободно радикального) окисления липидов.

Цель: анализ и изучение литературы по повреждающим действиям активных форм кислорода и продуктов перекисного (свободно радикального) окисления липидов.

Задачи:

1. Изучить повреждающее действие активных форм кислорода;
2. Рассмотреть механизм образования активных форм кислорода;
3. Дать характеристику продуктам перекисного окисления липидов;
4. Рассмотреть механизмы повреждающего действия продуктов перекисное окисление липидов.

1. Повреждающее действие активных форм кислорода

1.1. Активные формы кислорода

Процессы метаболизма кислорода в организме связаны с образованием активных форм кислорода, обладающих выраженной реакционной способностью.

Активные формы кислорода – это понятие собирательное, объединяющее такие соединения, как молекулы – перекись водорода (H_2O_2), озон (O_3) и синглетный кислород (1O_2), гипохлорит ($HOCl$); ионы – HO_2^- , пероксинитрит ($ONOO^-$); свободные радикалы – супероксидный ($O_2^{\cdot-}$), гидроксильный (HO^{\cdot}), пергидроксильный (HO_2^{\cdot}), пероксильный (RO_2^{\cdot}), алкоксильный (RO^{\cdot}) и оксид азота (NO) [1].

Общим для всех этих соединений является их высокая реакционная способность. Активные формы кислорода отличаются друг от друга реакционной способностью, временем жизни и выполняемыми функциями. Активные формы кислорода образуются в результате нормально протекающих процессов в организме и выполняют определенную биологическую функцию.

Свободно радикальное окисление – неотъемлемое звено таких важных биологических процессов, как транспорт электронов в дыхательной цепи, синтез простагландинов и лейкотриенов, пролиферация и дифференциация клеток, метаболизм и синтез катехоламинов, фагоцитоз, метаболизм разных ксенобиотиков. В нормально функционирующем организме они принимают участие в метаболизме структурных компонентов клеточных мембран

(белков, липидов, углеводов) и, следовательно, регулируют не лишь скорость их метаболизма, но и функциональное состояние самой мембраны клетки[2].

С особенностями метаболизма активных форм кислорода связывают изменение мембранной подвижности, текучести, деполяризацию мембран. В физиологических условиях активных форм кислорода образуются преимущественно в следующих системах.

В дыхательной цепи митохондрий в небольшом количестве (до 100 пмоль) вследствие «утечки» 1–5 % электронов с физиологических акцепторов на молекулярный кислород (в этом случае генерируется в основном супероксид кислорода, скорость образования которого находится в прямой зависимости от степени сопряженности дыхательной цепи) ферментативные комплексы дыхательной цепи митохондрий, которые генерируют кислород (зависимая дегидрогеназа, зависимая убихинонредуктаза), могут активироваться при физических нагрузках (мышечное сокращение), энергозависимых процессах в почках, трансмембранных процессах.

Процессе активации оксидазы; экспрессия этого фермента характерна для фагоцитирующих клеток крови (нейтрофилы, эозинофилы, макрофаги), эндотелиальных клеток, хондроцитов и астроцитов; оксидаза катализирует одноэлектронное восстановление кислорода, принимая восстановительный эквивалент от дегидрогеназы или убихинонредуктазы активация оксидазы происходит под действием цитокинов и сопровождается образованием кислорода и воды.

1.2. Действие активных форм кислорода в организме и процесс перекисного окисления липидов

Действие активных форм кислорода в организме фактически направлено на 3 типа клеточных мишеней: белки, нуклеиновые кислоты и липиды. В норме они активно участвуют в их метаболизме, а при патологических состояниях – в их окислительной деструкции[3].

Пероксидация липидов осуществляется в присутствии металлов переменной валентности и сопровождается образованием группы радикальных продуктов – универсальная газовая постоянная, цитотоксических альдегидов типа 4-гидрокси-2,3-транс-ноненаль или менее токсических, как малоновый диальдегид.

Процесс перекисного окисления липидов носит цепной характер, в нем выделяют фазы инициации, развития цепных реакций и обрыва цепей. Основную роль в обрыве цепных реакций перекисного окисления липидов играют компоненты антиоксидантной защиты [6]. В норме содержание радикальных продуктов перекисного окисления липидов регулируется за счет действия антиоксидантной, которая обеспечивает поддержание их на определенном стационарном уровне, обеспечивающем обновление липидов, и в первую очередь липидов мембран, и поддержание структурного гомеостаза. Нарушение этого сбалансированного состояния между процессами перекисного окисления липидов и активностью антиоксидантной защитой приводит к иницированию перекисное окисления липидов в биологических мембранах, что сопровождается расстройством функций клеток. Свободные радикалы липидов способствуют окислительной модификации мембранных белков, ферментов, рецепторов. Наиболее важный результат пероксидации – это уменьшение стабильности липидного слоя[7].

1.3. Механизм образования активных форм кислорода

Существует большое количество данных, свидетельствующих о том, что живые организмы не только приспособились к сосуществованию со свободными радикалами, но фактически развили механизмы для выгодного использования их. Об этом свидетельствуют обнаруженные в последнее время новые функции активных форм кислорода – регуляторные[9].

Ряд ферментных систем, присутствующих в клетках разных типов, начинает синтез активных форм кислорода в ответ на действие факторов межклеточной сигнализации. Активация зависимых от кальция протеаз вызывает протеолитическую трансформацию ксантиндегидрогеназы в продуцирующую кислород ксантинооксидазу. Образование активных форм кислорода митохондриями возрастает в клетках под действием интерлейкина-1 и α -фактора некроза опухолей. Помимо митохондрий основные источники регулируемого синтеза активных форм кислорода – это расположенные на плазматической мембране НАДФН-оксидазы нефагоцитирующих клеток и 5-липоксигеназа[10].

Следует отметить, что образование активных форм кислорода различными изоформами НАДФН-оксидазы играет важную роль в регуляции каскада межклеточной сигнализации в различных типах нефагоцитирующих клеток, включая фибробласты, эндотелиальные клетки, гладкомышечные клетки сосудов, миоциты и клетки тироидной ткани.

Кроме того, установлено, что активные формы кислорода образуются в клетках, стимулированных цитокинами, такими, как трансформирующий фактор роста p-1 (TGF-J31), интерлейкин-1, ФНО- α ; пептидными факторами роста – тромбоцитарный фактор роста PDGF, основной фактор роста фибробластов bFGF (basic fibroblast growth factor); эпидермальный фактор

роста EGF (epidermal growth factor); агонистами рецепторов ангиотензина II, тромбина и лизофосфатидной кислоты. Цитокины стимулируют освобождение активных форм кислорода из многих типов клеток, в том числе фибробласты, эпителиальные и эндотелиальные клетки. Это позволяет рассматривать активные формы кислорода в качестве вторичных мессенджеров, которые участвуют в передаче сигналов в физиологических условиях за счет регуляции обмена ионизированного кальция, стимуляции фосфорилирования белков, активации факторов транскрипции.

Ключевое место занимает участие оксидантов в качестве мессенджеров в метаболизме ионизированного кальция и процессе фосфорилирования белков. Имеются экспериментальные данные о непосредственном влиянии физиологических концентраций оксидантов (кислород, вода, гидропероксильный радикал) на состояние ионизированного кальция - каналов и насосов, что сопровождается освобождением ионизированного кальция из своих клеточных депо или из внеклеточного пространства в цитоплазму клеток. Они увеличивают концентрацию ионизированного кальция в цитозоле и тем самым запускают целый каскад реакций, регулируемых ионизируемым кальцием. Увеличение мобилизации ионизированного кальция из клеточных депо и экстрацеллюлярного пространства не связано с перекисным окислением липидов мембран. Предполагают, что действие оксидантов связано с окислением тиолов, которые играют роль в оксидант, опосредованной индукции. Ионизированный кальций подает сигнала через инозитол-3-фосфатные рецепторы, не влияя на освобождение самого инозитол-3-фосфата. Имеются доказательства ингибирующего влияния активных форм кислорода на активность аденозинтрифосфат-зависимого ионизированного кальция-насоса, что приводит к пассивному поступлению ионизированного кальция в цитозоль [15].

Генерация активных форм кислорода, приводящая к активации протеинкиназ, сопровождается стимуляцией митоген-активируемых киназ (МАРкиназ). Показано, в частности, что вода участвует в активации МАРкиназ. Сигнальная трансдукция МАРкиназного каскада, включающего киназы 1 и 2, регулируемые внеклеточными сигналами, в настоящее время рассматривается как один из основных путей действия активных форм кислорода в качестве мессенджеров.

Известно, что редокс-статус клетки играет важную роль в функционировании многих ферментов, влияя на их активность. Соответственно редокс-статус клетки можно рассматривать в качестве одного из компонентов сигнальных процессов в организме. Одной из основных редокс-чувствительных систем является тиоловая система, и в первую очередь глутатионовая, которая функционирует в виде пары GSH/GSSG. Вода, снижая уровень GSH, изменяет редокс-статус клетки, выступая в качестве сигнальной молекулы.

В настоящее время установлена активация генов глутатионпероксидазы, каталазы, супероксиддисмутазы, гемоксигеназы 1, ферритина, глутатионредуктазы, тиоредоксина, тиоредоксинредуктазы и металлотioneина, а также циклооксигеназы 2 и γ -глутамилцистеинсинтазы. Помимо перечисленных активных форм кислорода активируют экспрессию генов, действие которых не направлено непосредственно на усиление устойчивости клеток к окислительному стрессу. Эти гены функционально объединяют как отвечающие за клеточные взаимодействия[4].

Промоторные области индуцируемых под действием активные формы кислорода генов содержат участки связывания (операторные последовательности) факторов транскрипции AP-1, ATF/CREB, Ets, c/EBP и NF- κ B. В отличие от прокариотических факторов транскрипции, содержащих редокс-чувствительные железосерные (SoxR) либо тиоловые рецепторные группы (OxyR), активирующее действие АФК на факторы транскрипции

эукариотических организмов опосредовано сложными редокс-чувствительными сигнальными системами. В эти системы входят регуляторные ГТ Фазы, фосфолипазы, протеинфосфатазы, ЦГМФ-зависимые, фосфолипидзависимые и MAP-протеинкиназы[2].

Оксиданты в качестве вторичных мессенджеров активируют некоторые факторы транскрипции, которые связываются со специфическими участками ДНК. Наиболее хорошо изученным является регуляторное влияние АФК на факторы транскрипции Ap-1 (Activator Protein 1) и NF-κB.

Показано, что в процесс активации Ap-1 за счет активные формы кислорода включается киназа JNR (сериновая MAP-киназа), которая фосфорилирует и активирует факторы транскрипции c-Jun – ATF-2, входящие в состав Ap-1, и способствует индукции фактора ATF-3. Поскольку в промоторной области гена c-Jun расположено несколько участков связывания Ap-1, фосфорилирование и последующая активация фактора c-Jun приводят к индукции его собственного гена. Подобная регуляция активности c-Jun обуславливает продолжительную (несколько часов) активацию факторов транскрипции Ap-1 и устойчивый рост экспрессии подчиненных ему генов в условиях окислительного стресса.

1.4. Характеристика системы антиоксидантной защиты организма

Свободнорадикальные реакции свойственны нормально метаболизирующей клетке. Биомолекулы окисляются с большой скоростью, но их концентрация продуктов окисления низка, из-за сложной системы взаимодействующих путей регуляции.

Организм обладает многоуровневой стратегией защиты от повреждающего действия активных форм кислорода. Защита осуществляется путем снижения образования первой активной формы кислорода – кислород

и функционирования специальной антиоксидантной системы, выработанной в процессе эволюции аэробных организмов[1].

Супероксид дисмутаза.

В настоящее время выделено несколько типов супероксидов дисмутазы: Cu-Zn-содержащая супероксид дисмутаза цитозоля клеток эукариотов, Mn-содержащая супероксид дисмутаза матрикса митохондрий, Mn-содержащая и Fe-содержащая супероксид дисмутаза микроорганизмов. В межклеточном пространстве обнаружена высокомолекулярная внеклеточная (экстрацеллюлярная) супероксид дисмутаза, обозначаемая как экстра-супероксид дисмутаза (ECSOD), состоящая из 4 субъединиц.

Продуктом реакции, катализируемой супероксид дисмутазой, является один из компонентов активных форм кислорода, поэтому очень важно сбалансированное соотношение активностей супероксида дисмутазы и пероксидаз, в частности, каталазы и глутатионпероксидазы. Каталаза, гемсодержащий фермент пероксисом клеток, катализирует реакцию расщепления воды при высоких ее концентрациях. Она с громадной скоростью – число оборотов более 10^7 с⁻¹, превращает воду в кислород и воду. Поэтому даже в пероксисомах, где перекись водорода непрерывно продуцируется в ходе ферментативных реакций, стационарный уровень воды не превышает 100 нМ, а в цитоплазме он оценивается в диапазоне 10^{-7} – 10^{-9} М [16].

Глутатионпероксидаза эффективно расщепляет не только вода, но и гидроперекисные соединения, образовавшиеся при перекисном окислении липидов.

Роль глутатионпероксидазы в обезвреживании воды в тканях значительно более весома, чем каталазы, так как действие последней ограничено пероксисомами. В некоторых тканях (мозг, сердце, легкие), где низка активность каталазы, ведущую роль в обезвреживании воды занимает глутатионпероксидаза [17].

1.5. Окислительный стресс как неспецифическое патогенетическое звено репродуктивных нарушений

Любая стрессорная реакция организма сопровождается кратковременным подъемом активных форм кислорода и развитием окислительного стресса. Термин «окислительный стресс» не имеет четкого определения. В настоящее время он используется для обозначения широкой группы разнообразных взаимосвязанных явлений, включающих повышенную внутриклеточную генерацию активных форм кислорода и окислительное повреждение молекулярных компонентов клетки. Триггерами окислительного стресса могут быть разнообразные факторы, от наследственных или приобретенных генетических дефектов (мутаций) или экологических факторов, до таких событий, как изменение метаболических потоков и степени восстановленности редокс-компонентов в клетках[4].

Состояние оксидативного стресса развивается при многих экстремальных состояниях, в т. ч. заболеваниях. К ним относятся атеросклероз и сопутствующие ему заболевания, воспалительные процессы любого генеза, радиационные поражения, онкозаболевания, бронхолегочная патология и т. д. Процессы старения организма также развиваются на фоне оксидативного стресса.

Для оксидативного стресса в первую очередь характерно нарушение в соотношении анти- и прооксидантной систем в сторону повышения последней, отсутствие мобилизации активности антиоксидантной защиты и нарушение сбалансированности самих компонентов этой системы. При воспалительных процессах генерация активных форм кислорода связана с состоянием «дыхательного взрыва». При контакте чужеродных агентов с

фагоцитами наблюдается сборка мультиферментного мембранного комплекса НАДФН-оксидазы за счет взаимодействия мембранных и цитозольных ее компонентов. В результате НАДФН-оксидазной реакции происходит образование кислорода. Параллельно включается в процесс фагоцитоза миелопероксидаза, что приводит к генерации HOCl , синглетного кислорода. Уровень воды повышается за счет аминоксидаз. Несмотря на то, что образование этих активных форм кислорода при воспалительной реакции направлено на защиту от чужеродных частиц, патогенных микроорганизмов, сами активные радикалы могут вызвать повреждение ДНК, ферментов и других белков, а также прочих жизненно важных молекул клетки хозяина[15].

Избыточная продукция радикалов фагоцитами характерна также для аутоиммунных заболеваний. Радикалы кислорода могут модифицировать антигены собственного организма таким образом, что они становятся чужеродными и к ним начинают вырабатываться антитела. В результате активации клетки в микроокружении фагоцита концентрируются протеолитические ферменты, миелопероксидазы, активных форм кислорода отмечается снижение рН до 6.0 и ниже. Это усиливает повреждение мембран клеток, коллагена, сухожилий и облегчает образование гидропероксильный радикал, более активного, чем кислород, вызывает выброс железа из трансферрина, что увеличивает образование, гольмий.

Некоторые ткани (мозг, сетчатка глаза, легкие) обладают высокой чувствительностью к окислительному стрессу. В мозговой ткани это обусловлено ее биохимическими, физиологическими и анатомическими особенностями. Метаболические процессы в мозговой ткани отличаются высокой степенью зависимости от насыщения кислородом. Для мозговой ткани характерна высокая скорость метаболизма биогенных аминов, что сопряжено с генерацией активных форм кислорода. В частности, моноаминоксидазная реакция сопряжена с образованием воды. В условиях

окислительного стресса это может являться дополнительным источником генерации реакционноспособных радикальных продуктов, которые в присутствии металлов переменной валентности могут инициировать перекисное окисление липидов[18].

Немаловажным фактором усиления продукции активных форм кислорода при гипоксии является увеличение содержания катион железа (2+) в цитоплазме. Освобождению ионов железа из белок-связанной формы может способствовать с кислородом, оксид азота и ацидоз, возникающий при гипоксии. Кроме того, кислород может восстанавливать катион железа (3+) до катиона железа (2+) и, таким образом, способствовать накоплению катиона железа (2+) в клетке. Он активирует перекисное окисление липидов путем разветвления цепей окисления в присутствии кислорода.

На поздних стадиях ишемического поражения наблюдается приток в ткань нейтрофилов и других фагоцитирующих клеток, продуцирующих АФК, которые можно считать важными источниками образования активных метаболитов кислорода при гипоксии. Гипоксия непосредственно является одной из причин повышения адгезивных свойств гранулоцитов, а повреждение эндотелия сосудов вследствие активации фагоцитирующих клеток крови считают одним из основных факторов патогенеза реперфузионных или реоксигенационных нарушений[15].

При патологических состояниях на фоне интенсивной генерации радикальных продуктов снижается аксидантной защиты. В то же время сами активные формы кислорода могут ингибировать активность ферментов-антиоксидантов. Так, вода тормозит активность супероксида дисмутазы, а кислород– активность каталазы.

В условиях окислительного стресса наблюдается истощение компонентов неферментативной аксидантной защиты, которые при нейтрализации радикальных продуктов переходят в неактивное состояние или образуют радикальные продукты разной степени токсичности[3].

Таким образом, при состоянии оксидативного стресса наблюдаются глубокие изменения в метаболизме белков, липидов, нуклеиновых кислот, углеводов, водно-электролитном обмене, которые могут являться причиной тяжелых поражений тканей при ряде патологических состояний. Оценка интенсивности свободно радикальных процессов при состоянии оксидативного стресса, их роли в патогенезе ряда заболеваний может быть произведена только при комплексном анализе про- и антиоксидантных систем.

1.6. Реакции образования активных форм кислорода и значение в физиологии и патологии клетки

Иммунная система. Активные формы кислорода используются фагоцитарными клетками - тканевыми макрофагами, моноцитами и гранулоцитами крови для разрушения бактерий, вирусов и онкоклеток.

Фагоциты с участием НАДФН2-оксидазы выделяют супероксидный анион-радикал. Под действием супероксид дисмутазы супероксидный радикал превращается в перекись водорода. А под действием миелопероксидазы вода, превращается в гипохлорит – соединение, разрушающее стенки бактериальных клеток. При дефиците в клетках супероксид дисмутаза, ферритина, а в плазме церулоплазмина, трансферрина активируются альтернативные реакции.

Внутриклеточное пищеварение. В пероксисомах образуются активные формы кислорода. Когда пероксисомы сливаются с фагосомами, активные формы кислорода обеспечивают внутриклеточное пищеварение.

Радикалы гидроксила химически исключительно активны и вызывают повреждение белков, нуклеиновых кислот и липидов биологических мембран. Особенно тяжелые последствия имеют повреждение ДНК и

липидов. Радикалы, гидропероксильный радикал вызывают разрыв нитей ДНК, обладая, в зависимости от ситуации, мутагенным, канцерогенным или цитостатическим действием. Радикалы гидроксила инициируют цепную реакцию перекисного окисления липидов, при этом нарушаются физико-химические свойства мембран - проницаемость, рецепторная функция и работа мембранных белков. Повреждение барьера приводит к нарушению регуляции внутриклеточных процессов и тяжелым расстройствам клеточных функций. Свободно-радикальные реакции часто вызывают гибель клеток и целом[8].

Роль активных форм кислорода в патологии клетки.

Митохондрии более всех других органелл подвержены атаке активных форм кислорода и, как следствие, повреждению мембранных липидов, белков, ДНК и даже гибели. Причем для гибели митохондриям не требуется никаких дополнительных белков, кроме тех, которые присутствуют в них самих.

Для защиты от активных форм кислорода митохондрии владеют сильной антиоксидантной системой, которая включает ферменты супероксиддисмутазу (нейтрализация супероксид-аниона в перекись водорода), пероксидазу и глутатионпероксидазу (деградация перекиси водорода), а также глутатион, восстановленную форму коэнзима Q, аскорбиновую кислоту и иные низкомолекулярные антиоксиданты. Когда митохондрии перестают справляться с проблемой детоксикации образуемых ими активных форм кислорода, несмотря на перечисленные механизмы защиты, то в клетке развивается так называемый «окислительный стресс». В результате избыточного образования кислородных радикалов, они начинают выполнять деструктивные функции. Происходят специфические изменения клеточных компонентов: повреждаются мембранные структуры из-за перекисного окисления липидов, происходит окисление белков по остаткам тирозина, цистеина и серина, повреждение ДНК, смещение редокс-

потенциала клетки из-за окисления глутатиона и НАД(Ф)Н. Наблюдается разрушение митохондриальных структур от мембраны до митохондриальных ДНК (мтДНК) [10].

Активные формы кислорода, образующиеся в митохондриях, рассматриваются в качестве основного фактора развития внутриклеточного окислительного стресса под воздействием гипоксии, ишемии и реперфузии. Образование активных форм кислорода с участием митохондрий играет важную роль в индукции апоптоза при патофизиологических процессах в нейронах, кардиомиоцитах, а также в процессе старения [18]. Считается, что предрасположенность нервной ткани к окислительному стрессу связана с высоким уровнем окислительного метаболизма и повышенной генерацией кислородных радикалов, большим содержанием липидов и прооксидантов, относительно низкой активностью антиоксидантных систем и наличием нейронов с высоким содержанием КО-синтазы [9]. Повышение продукции активных форм кислорода в митохондриях при недостатке антиоксидантов, например, при ишемии головного мозга, приводит к повреждению электрон-транспортной цепи митохондрий, к снижению синтеза аденозинтрифосфата связанному с этим понижению активности аденозинтрифосфат-зависимых ферментов.

Активных форм кислорода оказывают повреждающее действие, прежде всего, на мембраны митохондрий. В частности, под действием активных форм кислорода в белке внутренней мембраны митохондрий, который обеспечивает сопряженный перенос аденозинтрифосфат/аденозиндифосфат, происходит окисление, что способствует образованию неспецифического митохондриального канала (mPTP), проницаемого для низкомолекулярных веществ. Активные формы кислорода значительно влияют на концентрацию ионов кальция в матриксе митохондрий и цитоплазме клеток, провоцируя загрузку ионизированного кальция в

цитоплазму извне клеточного пространства и внутриклеточных депо, а в матрикс - из цитоплазмы, путем активации кальциевых транспортеров[13].

Митохондриальная ДНК (мтДНК) является еще одной уязвимой мишенью для патогенного действия активных форм кислорода. Высокая концентрация активных форм кислорода в митохондриях и слабая система репарации этих органелл увеличивают частоту мутаций мтДНК по сравнению с ядерной ДНК. Радикалы кислорода служат причиной специфических замен в молекуле ДНК. Так, гидроксил-радикал оказывает повреждающее действие на ДНК вследствие окисления оснований, их модификации, повреждения хромосом. Установлена четкая корреляция между возрастом и накоплением мутаций в мтДНК, падением эффективности дыхания и увеличением продукции активных форм кислорода, что легло в основу митохондриальной теории старения.

Свободные радикалы кислорода и продукты перекисное окисление липидов, образование которых они индуцируют, играют одну из ведущих ролей в патогенезе отека-набухания головного мозга и метаболических нарушений в мозговой ткани в посттравматический и постишемический периоды.

При перекисном окислении липидов кислородный радикал, чаще всего это бывает гидроксил-радикал, который хорошо проникает в мембраны, будучи незаряженным, отнимает атом водорода от молекулы жирной кислоты с образованием перекисного радикала жирной кислоты. Этот радикал запускает цепную реакцию, взаимодействуя с другой жирной кислотой, в ходе которой образуются перекись кислоты и новый радикал. Такая цепная реакция затрагивает значительное количество клеточных липидов, в результате чего повреждаются мембраны. Кроме того, может происходить и амплификация окислительного повреждения за счет распада гидроперекисей на два новых радикала, каждый из которых запускает свою цепь[12].

1.7. Использование активных форм кислорода в организме

Свойства активных форм кислорода.

Кислородные радикалы, обладая высокой активностью, разрушают органические молекулы в реакциях свободно-радикального окисления. Большая часть этих реакций протекает с полиненасыщенными жирными кислотами липидов, и называется перекисным окислением липидов. Реакции перекисного окисления липидов являются цепными[1].

Гидроксильный радикал - сильнейший окислитель. Время его жизни очень короткое (1 миллиардная доля секунды), но за это время он мгновенно вступает в цепные окислительные реакции в месте своего образования[2].

Супероксидный анион-радикал и перекись водорода более стабильные вещества, могут диффундировать от места образования, проникать через мембраны клеток. Однако, перекись водорода способствует образованию гидроксильного радикала. Ионизированное железо с степенью окисления 2+ вступает в реакцию с перекисью водорода, в результате реакции железо переходит в степень окисления 3+ и образуется вода.

Активные формы кислорода используются фагоцитарными клетками - тканевыми макрофагами, моноцитами и гранулоцитами крови для разрушения бактерий, вирусов и онкоклеток. Фагоциты выделяют супероксидный анион-радикал. В норме супероксидный радикал под действием супероксиддисмутазы превращается в перекись водорода.

Под действием миелопероксидазы перекись водорода, превращается в гипохлорит – соединение, разрушающее стенки бактериальных клеток [17].

В условиях патологии могут произойти нарушения либо системы защитных ферментов (в частности, снижение активности супероксиддисмутазы), либо ферментных систем, связывающих ионы железа

в плазме крови (церулоплазмин и трансферрин) и в клетках (ферритин). В этом случае супероксидные радикалы и перекись водорода вступают в альтернативные реакции: Образование двухвалентного железа из трехвалентного. В результате реакции окисления железа в степени 3+, получается железо в степени окисления 2+ и выделяется кислород.

Таким образом, процесс активных форм кислорода чаще всего ведет к неприятным последствиям в организме – разрушению клеток. Особенно важен процесс окисления липидов мембраны, в ней формируются дефекты.

2. Продукты перекисного окисления липидов

2.1. Радикалы кислорода, и образование их в организме

Радикалы кислорода.

Борьбу с микробами, попавшими внутрь тела, в кровь, ведут специализированные клетки – фагоциты, к которым относятся гранулоциты и моноциты крови и тканевые клетки – макрофаги. Все эти клетки, соприкасаясь с поверхностью клеток бактерий, начинают энергично выделять свободные радикалы в результате переноса электрона от НАДФН-оксидазного ферментного комплекса, встроенного в мембраны фагоцита, на растворенный молекулярный кислород [7].

При этом каждая молекула НАДФН, окисляясь, отдает два электрона в цепь переноса электронов, а каждый из этих электронов присоединяется к молекуле кислорода, в результате чего образуется супероксид – (анион)радикал. Супероксидные радикалы, могут нанести вред как самим

фагоцитам, так и другим клеткам крови и, разумеется, микробам, вызвавшим активацию макрофага. Все эти клетки стараются избавиться от супероксид-радикалов, для чего они вырабатывают ферменты, называемые супероксиддисмутазами[5].

В норме фагоциты используют перекись водорода для синтеза гипохлорита, выделяя специальный фермент - миелопероксидазу.

Гипохлорит разрушает стенку бактериальной клетки и тем самым убивает бактерии. Перекись водорода диффундирует в клетки, но там разрушается в результате активности ферментов каталазы и глутатион-пероксидазы (GSH-пероксидазы) [11].

Реакция цепного окисления липидов.

Реакция цепного окисления липидов играет исключительную роль в клеточной патологии. Она протекает в несколько стадий, которые получили название инициирование, продолжение, разветвление и обрыв цепи. Инициирование цепной реакции начинается с того, что в липидный слой мембран или липопротеинов внедряется свободный радикал. Чаще всего это радикал гидроксила. Будучи небольшой по размеру незаряженной частицей, он способен проникать в толщу гидрофобного липидного слоя и вступать в химическое взаимодействие с полиненасыщенными жирными кислотами, входящими в состав биологических мембран и липопротеинов плазмы крови. При этом образуются липидные радикалы. Гидроксил вступая в реакцию с гидридом, и в результате выделяется вода и свободный липидный радикал.

Липидный радикал (L) вступает в реакцию с растворенным в среде молекулярным кислородом; при этом образуется новый свободный радикал – радикал липоперекиси. Этот радикал атакует одну из соседних молекул фосфолипида с образованием гидроперекиси липида LOOH и нового радикала L:

Образующиеся радикалы LO иницируют новые цепи окисления липидов.

В биологических мембранах цепи могут состоять из десятка и более звеньев. Цепь обрывается в результате взаимодействия свободных радикалов с антиоксидантами (InH), ионами металлов переменной валентности[12].

2.2. Перекисное окисление липидов и повреждение клеток

При воздействии на организм различных вредных факторов (инфекция, интоксикация, гипоксия и др.) процессы перекисного окисления липидов могут принимать патологический характер и в комплексе с нарушением функций других систем вызывать снижение адаптационных возможностей[14].

Изменение свойств биологических мембран - одна из наиболее важных составляющих любого патологического процесса в легких. Острые воспалительные заболевания значительно интенсифицируют процессы перекисного окисления липидов, что угнетает фагоцитарную активность макрофагов. Оксиданты способствуют инактивации ингибиторов эластазы, в результате чего создаются условия для разрушения эластического каркаса легких. Повышенная пероксидация ведет к повреждению фосфолипидов сурфактанта, нарушению подвижности легких и функций мукоцилиарного аппарата [3]. Повреждающему действию перекисного окисления липидов препятствует многокомпонентная антиоксидантная система, которая обеспечивает связывание радикалов, предупреждает образование или инактивирует перекиси.

В условиях аллергии может происходить значительное повышение активности свободнорадикального окисления липидов клеточных мембран с последующей их деструкцией. Активатором процессов перекисного окисления могут быть и метаболиты гельминтов. Например, для хронической стадии описторхоза характерно накопление первичных, вторичных и

конечных продуктов перекисного окисления липидов (диеновые конъюгаты, малоновый диальдегид, шиффовые основания и др.), причем как при обострении, так и в период ремиссии заболевания. У этих же больных отмечено снижение напряженности антиоксидантного ответа: низкий уровень атокоферола, Р-каротина и аскорбиновой кислоты[10].

Повреждение клеток в результате перекисного окисления липидов.

Активные формы кислорода повреждают структуру нуклеопротеидов, белков, фосфолипидов, входящих в различные мембранные структуры клеток. В результате появления в гидрофобном слое мембран гидрофильных зон за счёт образования гидрофильных каналов, образованных гидропероксидами жирных кислот, в клетки могут проникать вода, ионы натрия, кальция, что приводит к набуханию клеток, органелл и к последующему их разрушению. Перекисное окисление активируется также в тканях, подвергшихся сначала ишемии, а затем реоксигенации, что происходит, например, при спазме коронарных артерий и последующем их расширении. Формирование тромба приводит к окклюзии просвета сосуда и развитию ишемии в соответствующем участке миокарда (гипоксия ткани). Если принять быстрые лечебные меры по разрушению тромба, то в ткани восстанавливается снабжение кислородом (реоксигенация) [17].

Таким образом, даже несмотря на быстрое восстановление кровообращения, в соответствующем участке миокарда происходит повреждение клеток за счёт активации перекисного окисления.

2.3. Механизм повреждающего действия продуктов перекисного окисления липидов

В организме свободно радикальному окислению в первую очередь подвергаются полиненасыщенные жирные кислоты, входящие в структуру

мембранных фосфолипидов. Поэтому активация перекисного окисления липидов, которая может быть вызвана самыми различными факторами, прежде всего вызывает структурно-функциональные изменения в клеточных мембранах[6].

Повышение проницаемости наиболее характерным и ранним признаком активации перекисного окисления липидов является повышение проницаемости мембран. Конкретный механизм увеличения проницаемости биологических мембран различен: изменение заряда на поверхности раздела мембрана-раствор; изменение конформации мембранного липопротеидного комплекса; образование молекул - переносчиков ионов, и, наконец, появление гидрофильных зон в сплошном гидрофобном слое мембраны (лизофосфолипидов).

Последняя причина обычно рассматривается в качестве наиболее вероятной. Появление в этой гидрофобной зоне гидрофильных полярных группировок может привести к образованию водных пор, резко нарушить стабильность мембраны вплоть до её полного разрыва[18].

Повышению проницаемости способствует образование лизофосфатидов вследствие отщепления окисленных радикалов полиеновых жирных кислот от молекул фосфолипидов под действием фосфолипазы A_2 .

Повышением проницаемости и снятием мембранного электрохимического потенциала ионов водорода объясняется и резкое разобщение окислительного фосфорилирования в митохондриях, которое всегда имеет место при стимуляции ПОЛ в организме[2].

Образование комплексов. Перекисное окисление липидов влияет и на белковые молекулы. Наиболее важные изменения в белковых молекулах, вызываемые окисленными липидами, заключается в образовании комплекса белок-окисленный липид, полимеризации белковых молекул и полимеризации фосфолипидов.

Образование белок-липидных комплексов может быть обусловлено возникновением прочной химической связи между свободными аминогруппами аминокислот и альдегидными или карбоксильными группами окисленных липидов, либо за счёт гидрофобных взаимодействий. Наиболее важную роль в образовании комплексов играет малоновый диальдегид, один из конечных продуктов перекисного окисления липидов[3].

В образовании шиффовых оснований могут принимать участие фосфолипиды.

Малоновый диальдегид образует шиффовы основания, взаимодействуя с ϵ -аминогруппами лизина или N-концевыми остатками аминокислот в молекуле белка.

Таким образом, малоновый диальдегид может образовывать межлипидные, межбелковые и белок-липидные комплексы. Если такие комплексы образуют функциональные белки (ферменты, рецепторы), активность их резко изменяется. Кроме того, образование комплексов делает клеточные мембраны более ригидными, что резко затрудняет работу ферментов, т.е. активные центры оказываются как бы замурованными, и конформационные изменения, лежащие в основе изменения активности ферментов осуществляются с трудом.

Ригидность мембраны ограничивают и конформационные изменения рецепторных белков, что приводит к нарушению передачи сигналов из окружающей мембрану внешней среды.

Полимерные липид-белковые комплексы могут быть легко обнаружены флуориметрически, так как эти полимеры стабильны. Флуориметрия считается наиболее адекватным методом исследования перекисное окисление липидов. Примером подобных стабильных липид-белковых комплексов может служить старческий пигмент липофусцин[1].

Заключение

Таким образом, изучив источники литературы можно сделать выводы о том, что перекисное окисление липидов имеет как положительные, так и отрицательные аспекты. Этот процесс необходим для организма, так как он защищает от действия чужеродных агентов, а также помогает уничтожать поврежденные клетки, которые уже не способны выполнять свои функции. Однако свободнорадикальное окисление может протекать слишком интенсивно – тогда поражаются здоровые клетки, нарушается их функция, и они погибают.

Многие заболевания связаны с активацией перекисного окисления. Защита от избыточного действия активных форм кислорода помогает сохранять баланс в организме. Чрезмерное снижение интенсивности окисления также нежелательно, так как нарушатся процессы фагоцитоза и удаления нежелательных клеток – важно поддерживать равновесие.

Активные формы кислорода играют важную роль в регуляции физиологических функций в тканях, вызывая стимуляцию различных

сигнальных трансдукционных процессов. В нормально функционирующем организме АФК следует рассматривать с позиций их биологической значимости. С одной стороны, это продукты нормально протекающих окислительно-восстановительных реакций, с другой – специфические регуляторы метаболических процессов.

Активные формы кислорода как сильные и реакционноспособные окислители потенциально могут разрушить и убить клетку.

Они постоянно образуются в растительных и животных клетках в реакциях и процессах, в которых участвует молекулярный кислород, при контакте с клеткой приводят к разрушению мембран, повреждению белков и деградации хлорофилла.

Список литературы

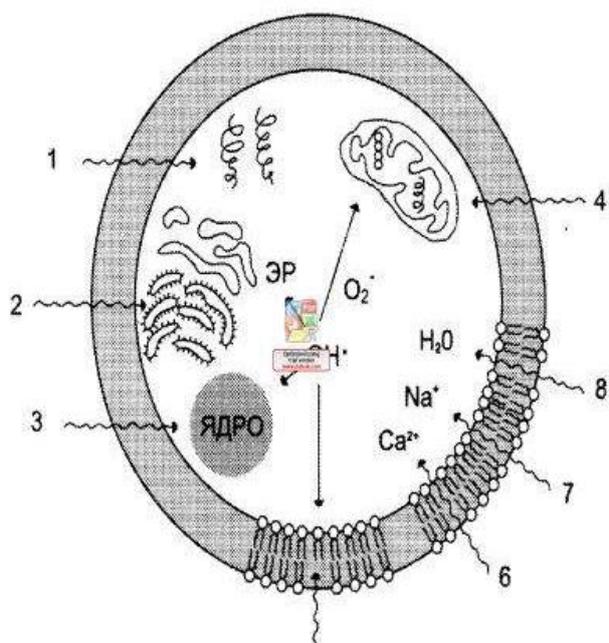
1. Бородин, А. П. Биохимия животных: Учебное пособие // А. П. Бородин. - СПб. Лань. - 2016. - 384 с.
2. Владимиров, Ю. А. Свободные радикалы в биологических системах. Соросовский образовательный журнал // Ю. А. Владимиров - 2018. - 6 (12). - 19 с.
3. Владимиров, Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах // Ю. А. Владимиров, А. И. Арчаков - 2018. - 252 с.
4. Зборовская, И. А. Антиоксидантная система организма, ее значение в метаболизме // И. А. Зборовская, М. В. Банникова / Клинические аспекты. - 2012. - № 6. - 60 с.
5. Зенков, Н. К., Ланкин В. З., Меньшикова Е. Б. Окислительный стресс. Биохимические и патофизиологические аспекты // Н. К. Зенков, В. З. Ланкин, Е. Б. Мельников; - 2017. – 343 с.

6. Клопов, М. И., Максимов В. И. Биологически активные вещества в физиологических и биохимических процессах в организме животного // М. И. Клопов, В. И. Максимов; - 2012. – 448 с.
7. Козлов, Ю. П., Котелевцев С. В., Новиков К. Н. Свободно-радикальные процессы в биологических системах при воздействии факторов окружающей среды // Ю. П. Козлов, С. В. Котелевцев, К. Н. Новиков; - 2011. - 201 с.
8. Кулинский, В. И. Активные формы кислорода и оксидативная модификация макромолекул: польза, вред и защита // В.И. Кулинский / Биология; - 2015. - . - 478 с.
9. Курашвили, Л. В., Косой Г. А., Захарова И. Р. Современное представление о перекисном окислении липидов и антиоксидантной системе при патологических состояниях // Л. В. Курашвили, Г. А. Косой, И. Р. Захарова / Методическое пособие; - 2016. - 32 с.
10. Лабас, Ю.А. Регуляторная роль активных форм кислорода // Ю. А. Лабас, А. В. Гордеева, Ю. И. Дерябина, А. Н. Дерябин, Е.П. Исакова / Успехи современной биологии; - 2010. - № 4. - 334 с.
11. Меньщикова, Е. Б. Окислительный стресс // Е. Б. Меньщикова, В. З. Ланкин Н. К. Зенков, И. А. Бондарь / Проксиданты и антиоксиданты; - 2010. - 556 с.
12. Милентьев, В. Н. Ашихина Л. А. Жучков А. А. Роль пероксидов как активных форм кислорода в жизнеобеспечении организма // В. Н. Милентьев, Л. А. Ашихина, А. А. Жучков. - 2013. - № 1. – 104 с.
13. Пескин, А. В. Взаимодействие активного кислорода с ДНК // Биохимия. - 2017 - . №.62. - 1571 - 1578 с.
14. Пожилова, Е. В. Новиков В. Е. Левченкова О. С. Активные формы кислорода в физиологии и патологии клетки научной // Е. В. Пожилова, В. Е. Новиков, О. С. Левченкова; - СГМУ. - №2. - 2015. - 4 с.

15. Ушакова, Т. М. Патологическая физиология: учебное пособие для студентов факультета ветеринарной медицины часть 1 // Т. М. Ушакова, Т. Н. Дерезина, О. Н. Полозюк; - 2017. - 116 с.
16. Шепелев, А. П. Шестопапов А. В. Ставиский И. М. Перекисное окисление липидов. Учебно-методическое пособие // А. П. Шепелев, А. В. Шестопапов, И. М. Ставиский. - 2016. - 46 с.
17. Эмирбеков Э. З. Свободно радикальные процессы и состояние мембран при гипотермии // Э. З. Эмирбеков, Н. К. Кличханов. - 2011. – 199 с.

Приложение 1

Повреждающее действие АФК на клетку.



1. Повреждение белков
2. Повреждение мембран ЭР
3. Повреждение ядра и ДНК (мутации)
4. Повреждение Мх (деэнергизация клетки) и увеличение образования АФК
5. ПОЛ клеточной мембраны, появление пор проницаемых для ионов и воды
6. 7, 8. Нарушение ионных градиентов и осмолярности (набухание) клетки за счет увеличения проницаемости

Приложение 2.

Общая схема реакций перекисного окисления липидов.

