

УДК 616.233-002

РОЛЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В ПАТОГЕНЕЗЕ ХРОНИЧЕСКОГО ОБСТРУКТИВНОГО БРОНХИТА

¹Идрисова П.А., ¹Халипаева Х.Т., ¹Османова М.М.,

²Изудинова С.М., ²Гаджиева Ш.С.

¹Дагестанский государственный университет, Махачкала, e-mail: ipipk@mail.ru;

²Медико-санитарная часть МВД России по Республике Дагестан, Махачкала, e-mail: mch-05@yandex.ru

В последние десятилетия в связи с ухудшением экологической ситуации во всем мире наблюдается значительный рост числа больных с хроническими заболеваниями дыхательных путей и легких. ХОБ – это заболевание, представляющее собой диффузное неаллергическое поражение воздухоносных путей воспалительной природы, имеющее хронический характер и характеризующееся бронхиальной обструкцией. Среди множества различных факторов, таких как курение, повышенный уровень газов и пыли в воздухе, врожденная недостаточность фермента – α_1 -антитрипсина и инфекционные заболевания, ведущую роль в патогенезе ХОБ играет окислительный стресс. Статья посвящена обзору литературных данных, позволяющих в совокупности оценить роль активных форм кислорода и азота в развитии и патогенезе ХОБ. Осуществлен критический анализ научных исследований, в которых приводятся основные источники свободных радикалов и описана их роль в повреждении молекулярных и клеточных структур при ХОБ. Описываются механизмы окислительных модификаций липидов, белков и нуклеиновых кислот, которые способствуют развитию дисфункции ряда клеточных органелл и гибели мышечных и эпителиальных клеток, а также раскрывается роль антиоксидантной системы органов дыхания в протекции респираторной дисфункции.

Ключевые слова: хронический обструктивный бронхит, свободнорадикальные процессы, перекисное окисление липидов, малоновый диальдегид, супероксиддисмутазы, электронтранспортная цепь, активные формы кислорода, окислительная модификация белков

INTENSITY OF FREE RADICAL PROCESSES IN THE BLOOD OF PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE BRONCHITIS

¹Idrisova P.A., ¹Halipaeva H.T., ¹Osmanova M.M.,

²Izudinova S.M., ²Gadzhieva Sh.S.

¹Dagestan State University, Makhachkala, e-mail: ipipk@mail.ru;

²Medical and Sanitary Unit of the Ministry of Internal Affairs of Russia in the Republic of Dagestan, Makhachkala, e-mail: mch-05@yandex.ru

In recent decades, due to the deterioration of the environmental situation worldwide, there has been a significant increase in the number of patients with chronic respiratory tract and lung diseases. COPD is a disease which is a diffuse non-allergic inflammatory disease of the airways, which has a chronic nature and is characterized by bronchial obstruction. Among many different factors such as (smoking, elevated levels of gases and dust in the air, congenital enzyme deficiency – α_1 -antitrypsin and infectious diseases). The leading role in the pathogenesis of COPD is played by oxidative stress. The article is devoted to the review of the literature data, allowing to estimate the role of reactive oxygen and nitrogen forms in the development and pathogenesis of COPD. A critical analysis of scientific studies is given, in which the main sources of free radicals and their role in the damage of molecular and cellular structures in COPD are presented. The mechanisms of oxidative modifications of lipids, proteins and nucleic acids, which lead to the development of dysfunction of a number of cell organelles and death of muscle and epithelial cells, are described, and the role of antioxidant system of respiratory organs and its role in the protection of respiratory dysfunction is revealed.

Keywords: chronic obstructive bronchitis, free-radical processes, lipid peroxidation, malondialdehyde, superoxide dismutase, reactive oxygen species, electrotransport chain, oxidative modification of proteins

В последнее время обструктивные формы патологии и, в первую очередь, хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ), на долю которой приходится почти 90% хронического обструктивного бронхита (ХОБ), привлекают основное внимание исследователей-пульмонологов. ХОБЛ – это заболевание, представляющее собой диффузное неаллергическое воспалительное заболевание дыхательных путей хронического характера, характеризующееся бронхиальной обструкцией. Заболевание приводит к нарушению легочной вентиля-

ции и газообмена и проявляется кашлем, одышкой и мокротой [1].

В этиологии ХОБЛ наиболее важную роль играют следующие факторы: курение, повышенный уровень газа и пыли в воздухе, врожденный дефицит фермента α_1 -антитрипсина, инфекционные заболевания [2].

Литературные данные свидетельствуют о ведущей роли активных форм кислорода (АФК) в патогенезе ХОБ. Показано, что снижение активности антиоксидантной системы в пожилом возрасте является од-

ной из возможных причин высокой распространенности этого заболевания у пожилых людей. В связи с этим возникает необходимость обобщения и анализа литературных данных, посвященных исследованию роли окислительного стресса в развитии и прогрессировании ХОБ.

Цель исследования: критический анализ современной литературы, посвященной раскрытию роли активных форм кислорода и азота в этиологии и патогенезе хронического обструктивного бронхита.

Были проанализированы статьи из поисковых баз PubMed, академия Google и других баз.

Окислительный стресс в развитии и прогрессировании ХОБЛ

Окислительный стресс играет ключевую роль в патогенезе ХОБЛ [3]. Источниками экзогенных оксидантов являются сигаретный дым, окисляющие газы, ультрамелкие твердые частицы, выхлопные газы и топливо из биомассы для приготовления пищи и отопления домов [4]. Эндогенные оксиданты образуются в основном в результате митохондриального дыхания и воспалительных реакций на вирусы и бактерии. Воспалительный стресс, опосредованный IL-1, TNF- α и интерфероном- γ , генерирует эндогенные АФК. Другими источниками внутриклеточных ROS являются фермент NADPH-оксидаза, XO и гемовые пероксидазы, которые повышены в бронхоальвеолярном лаваже (БАЛ) пациентов с ХОБЛ [4].

Нестабильные по своей природе свободные радикалы вызывают ряд неблагоприятных последствий на клеточном уровне. Например, они активируют ядерный фактор каппа-бета (NF- κ B), увеличивая синтез IL-8 и TNF- α , которые привлекают нейтрофилы, усиливая воспалительный стресс [3].

Окислительный стресс также активирует фосфоинозитид-3-киназу (PI3K), которая фосфорилирует деацетилазу гистонов-2 (HDAC-2) (ключевой анти-фактор). Оксиданты также способствуют дисбалансу, снижая антипротеазную активность [5].

Экспрессия трансформирующего фактора роста бета (TGF- β) (вырабатывается эпителиальными клетками) повышается при ХОБЛ и подавляет активность ферментов каталазы и SOD2. Оба фермента необходимы для нейтрализации ROS, образующихся в митохондриях, и находятся под контролем транскрипционного фактора класса вилочковой головки (FOXO3), дефицит которого был связан с ХОБЛ [5]. Около 200 антиоксидантных и детоксицирующих клеточных ферментов находятся под контролем ядерного фактора, связанно-

го с эритроидом-2 (Nrf2). У больных ХОБЛ экспрессия и активность Nrf2 снижены [6].

Нитративный стресс обусловлен мощным радикалом пероксинитритом, который вступает в реакцию с определенными белками и ферментами (т.е. происходит нитрование), снижая их активность и экспрессию. Например, нитрование HDAC-2 приводит к его неактивности [7]. Карбонильный стресс возникает, когда АФК окисляют белки, липиды, углеводы и ДНК; при этом образуются карбонильные реагенты, которые реагируют с белками (реактивные альдегиды). Это известно как карбонилирование белков, неферментативное явление [8]. Стресс эндоплазматического ретикулума может индуцировать апоптоз митохондрий и гибель клеток [9].

Существенной особенностью ХОБЛ является то, что воспалительные процессы и стресс продолжают продолжаться после прекращения воздействия раздражителей [10]. Вполне вероятно, что за такое поведение ответственны персистирующая инфекция и аутоиммунитет. Модифицированные карбонилами белки являются высокоиммуногенными, они вырабатывают аутоантитела, которые повышены в сыворотке крови пациентов с ХОБЛ [11]. Эти аутоантитела фиксируют комплемент и могут способствовать развитию эмфиземы.

Карбонилированные белки распознаются врожденной иммунной системой через PRRs (Pattern Recognition Receptors); экспрессируются клетками, которые распознают антигены, такие как дендритные клетки и макрофаги [4]. В этих клетках они обрабатываются и повторно экспрессируются в ассоциации с основным комплексом гистосовместимости-2 (HLA-2). Это способствует активации приобретенного иммунного ответа, привлекает и накапливает Th1-клетки в паренхиме легких и дендритные клетки в мелких дыхательных путях [4].

Помимо выработки неантигенов, иммунный ответ также способствует притоку иммунных клеток, необходимых для их распознавания и переработки. Этот стимул вызывает высвобождение CCL2 и CCL20, которые привлекают дендритные клетки, моноциты и лимфоциты. В целях улучшения иммунного ответа повышается уровень IL-17 и IL-18.

Эти интерлейкины активируют и созревают В-клетки, а также способствуют развитию адаптивного иммунного ответа [7].

Респираторные инфекции могут играть определенную роль в развитии и прогрессировании заболевания, а также являются основной причиной острых обострений [8]. Табачный дым и инфекции приводят к диф-

ференциальной активации множества РОП (рецепторы опознавания паттерна). При инфекциях эти рецепторы активируются PAMPs (патоген-ассоциированные молекулярные) и DAMPs (молекулярный фрагмент, ассоциированный с повреждениями) [9].

Существует по крайней мере пять четко определенных групп РОП, которые принимают и обрабатывают эти сигналы: ТОО-подобные рецепторы (TLRs), NOD-подобные рецепторы (NLRs), цитозольные ДНК-сенсоры, RIG-I-подобные рецепторы (RLRs) и лектиноподобные рецепторы С-типа (CLR) [10]. Клетки, экспрессирующие РОПы, генерируют цитокины, интерфероны и хемокины, которые рекрутируют макрофаги, нейтрофилы и активируют эпителиальные клетки – врожденный иммунный ответ. Дендритные клетки, стимулируемые лигандами РОП и связанные с NLA-2, инициируют сигналы, которые привлекают Т-клетки – адаптивный иммунный ответ [11].

*Роль АФК в повреждении
молекулярных и клеточных структур
при хроническом обструктивном бронхите*

Высокие уровни АФК могут вызывать повреждение тканей бронхов и легкого путем модификации различных молекул-мишеней через различные, специфичные для АФК механизмы.

На молекулярном уровне АФК может вызывать перекисное окисление липидов и давать такие продукты, как малоновый диальдегид, который обладает способностью инактивировать многие клеточные белки путем генерации поперечных связей в белках. Это может стимулировать воспаление легких [12], способствуя разрушению альвеолярной стенки и развитию эмфиземы. Другим продуктом перекисного окисления липидов является 4-гидрокси-2,3-ноненаль, который оказывает многие цитотоксические эффекты [13]. Было показано, что он вызывает накопление цитоплазматического Ca^{2+} , индуцирует экспрессию провоспалительных цитокинов и NF- κ B, митохондриальную дисфункцию и апоптоз. Показано, что в конденсате выдыхаемого воздуха и сыворотке пациентов с ХОБЛ повышается концентрация конечных продуктов перекисного окисления липидов, таких как этан, пентан и 8-изопропан [14].

АФК также может вызывать обратимые и необратимые модификации белка. К обратимым модификациям относятся белковое S-сульфирование, S-нитрозилирование, S-глутатионилирование, образование дисульфидов, тиосульфидов, сульфенамидов, сульфинамидов и перисульфидов [15]. Они участвуют в окислительно- восстано-

вительной регуляции функций белка с помощью АФК и АФА. Более того, эти модификации играют важную роль в системе защиты клеток от окислительного стресса.

Белковые карбонилы, нитротирозины, сульфоновые кислоты, сульфокислоты и сульфенамиды являются необратимыми модификациями. Окисление белков может привести к активации транскрипционных факторов NF- κ B, митогенактивируемой протеинкиназы р38 MAPK, индукции воспалительных генов и ингибированию активности эндогенных антипротеаз, что может способствовать патогенезу ХОБ [16]. Хотя необратимо окисленные белки часто являются признаками окислительного стресса и окислительного повреждения и обнаруживаются при заболеваниях легких, они также могут присутствовать при нормальных условиях.

Кроме того, АФК также может вызывать повреждение РНК, ДНК и митохондриальной ДНК. Исследования показывают, что РНК более уязвима для окислительного повреждения, чем другие клеточные компоненты [17]. РНК может обладать повышенной восприимчивостью к окислительной атаке из-за ее широко распространенного цитозольного распределения, одноцепочечной структуры, отсутствия защитных гистонов и отсутствия усовершенствованного механизма восстановления [18]. Было идентифицировано более 20 различных типов повреждения основания гидроксильными радикалами [19].

Наиболее распространенным окисленным основанием в РНК является 8-гидрокси-гуанозин (8-OHG). Высокореактивный гидроксильный радикал сначала вступает в реакцию с гуанином с образованием радикала аддукта С8-ОН. Затем при потере электрона и протона образуется 8-OHG (окисленный РНК-нуклеозид). Следует отметить, что окисление РНК более распространено, чем окисление ДНК в клетках альвеолярной стенки при эмфиземе [20]. Окисление ДНК способствует нестабильности микросателлитов, ингибирует метилирование и ускоряет укорочение теломер. 8-гидрокси-2'-дезоксигуанозин (8-OHdG) является продуктом окисленной ДНК и широко используется в качестве маркера окислительного повреждения клеток. Кроме того, мутация р53, наблюдаемая при раке легких, связана с прямым повреждением ДНК из-за воздействия канцерогенных веществ, содержащихся в сигаретном дыме [21]. Стоит отметить, что пациенты с эмфиземой имеют высокий риск развития рака легких [22]. АФК также являются основным источником повреждения мтДНК и мутагенеза [23].

Основными продуктами повреждения основания мтДНК являются тимингликоль среди пиримидинов и 8-ОНдГ среди пуринов. Первый имеет низкую мутагенность, тогда как последний при репликации может вызывать характерные G → T трансверсии. МтДНК с окислительным повреждением способен привести к дисфункции митохондрий в альвеолярных эпителиальных клетках [24].

Показано, что митохондриальная ДНК обладает высокой чувствительностью к повреждениям, вызванным окислительным стрессом, что связано с близостью к источнику АФК, отсутствием защитных гистонов и относительно неэффективным восстановлением ДНК [25]. Это может вызвать синтез дефектных субъединиц митохондриальной транспортной цепи электронов, что также приведет к снижению трансмембранного потенциала и аномальному перепроизводству АФК, в результате которого клетки повреждаются [26]. Это также способствует нарушению окислительно-восстановительного баланса, что приводит к дисбалансу между окислителями и антиоксидантами в клетке. Наконец, это вызывает дисфункцию митохондрий, увеличивает проницаемость наружной мембраны митохондрий, способствует высвобождению из митохондрий апоптотических белков и гибели клеток [27]. В частности, O₂^{•-} может привести к деполяризации митохондрий, облегчая высвобождение цитохрома c. Кроме того, митохондриальная дисфункция у пациентов с ХОБЛ связана с чрезмерным уровнем митохондриальных АФК, которые способствуют усилению воспаления [28].

Митохондриальная дисфункция была отмечена в клетках гладких мышц дыхательных путей курильщиков и пациентов с ХОБЛ [29]. Эти клетки были не способны обеспечить адекватное дыхание и имели сильно сниженную способность к дыханию. Эпителиальные клетки бронхов, полученные от бывших курильщиков с ХОБЛ, имели поврежденные митохондрии с истощением крист, усилением ветвления, удлинением и опуханием [30].

Поврежденные или дисфункциональные митохондрии удаляются от клеток с помощью митофагии. Митофагия считается гомеостатической программой, которая поддерживает здоровую митохондриальную популяцию и играет важную цитопротективную роль при различных заболеваниях [31].

Однако митофагия может быть возможным эффектором программированной гибели клеток. Недавние исследования показывают, что митофагия связана с гибелью

эпителиальных клеток при ХОБЛ, в частности с некроптозом – формой запрограммированного некроза, в ответ на воздействие сигаретного дыма. В культивируемых клетках легочного эпителия сигаретный дым вызывал митохондриальную дисфункцию, связанную с уменьшением потенциала мембраны митохондрий и повышением продукции митохондриальных АФК. Кроме того, сообщалось, что мягкий и преходящий окислительный стресс, вызванный H₂O₂, не повреждает митохондрии, а скорее инициирует каскад сигналов посредством реактивных форм кислорода, приводя к индукции селективной митофагии [32]. Это, в свою очередь, будет способствовать избирательному удалению поврежденных митохондрий.

Таким образом, митохондриальная дисфункция, вызванная окислительным стрессом, является ключевым фактором патофизиологии ХОБЛ. Поэтому таргетирование митохондриальных АФК представляет собой перспективный терапевтический подход для коррекции этого заболевания.

Антиоксидантная защита от активных форм кислорода

Клетки обеспечивают разнообразную и надежную защиту от АФК, которая включает в себя перекрывающийся набор ферментных действий, специфичных для определенных АФК. Из всех распространенных активных форм кислорода только [•]ОН настолько реактивен, что не существует эффективных ферментных стратегий детоксикации. Поскольку [•]ОН разрушает все без разбора, никакие механизмы в клетке не могут эффективно противостоять ему. Хотя глутатион (GSH) был предложен в качестве общего окислительно-восстановительного буфера против этой и других АФК, последние работы показывают, что GSH оказывает свое антиоксидантное действие в основном через ферментативные пути, такие как глутаредоксины, или как восстановитель для глутатионпероксидазы [33]. Токоферол и аскорбат образуют умеренно стабильные радикалы и поэтому могут действовать как «поглотители» для [•]ОН и других радикалов, хотя [•]ОН будет реагировать с первой встречной молекулой, которая вряд ли будет маленькой молекулой антиоксиданта [34].

Другим радикальным ROS является O₂^{•-}. Супероксид-анион детоксифицируется под действием металлофермента супероксиддисмутазы (СОД), которая преобразует O₂^{•-} в H₂O₂ и O₂ [33].

В результате дисмутации не происходит чистого изменения окислительно-вос-

становительного состояния, следовательно, для сбалансированной реакции не требуется электронов [35]. Существуют различные СОД, которые классифицируются в зависимости от металлов, присутствующих в их активных сайтах, которые у человека представлены Cu-Zn СОД (СОД1; внутриклеточная, СОД3; внеклеточная) и Mn-СОД (СОД2, митохондриальная). Примечательно, что Cu-Zn и Mn-СОД имеют совершенно разные трехмерные структуры, являясь членами разных семейств складок, что свидетельствует о конвергентной эволюции [36].

СОД являются высокоэффективными ферментами, расщепляющими $O_2^{\cdot-}$ с $k_{cat}/K_M \sim 7 \times 10^9 M^{-1} s^{-1}$, что превышает «диффузионный предел» $\sim 10^9 M^{-1} s^{-1}$. Ферменты, работающие на пределе диффузии, успешно катализируют свою реакцию почти каждый раз, когда встречаются субстрат (т.е. они каталитически «совершенны»), что, по-видимому, устанавливает верхний предел для каталитической эффективности фермента [33].

Однако, поскольку $O_2^{\cdot-}$ является анионом, важны электростатические свойства SOD, которые были эволюционно оптимизированы для направления этого отрицательно заряженного субстрата к положительно заряженному участку вблизи активного сайта SOD. Таким образом, SOD электростатически «воронкообразно» направляет субстрат к своему активному сайту и тем самым превышает теоретический диффузионный предел каталитической эффективности [37]. Поэтому SOD замечательно справляется с удалением $O_2^{\cdot-}$, хотя одним из ее продуктов является H_2O_2 , другим – ROS. Внеклеточный $O_2^{\cdot-}$, вырабатываемый нейтрофилами, считается основным источником повреждения альвеолярных и бронхиальных эпителиальных клеток, а система SOD является важным компонентом в легочной защите от гипероксического повреждения [38].

Основными ферментами, которые работают с перекисью водорода, являются пероксиредоксины (Prxs), набор тиолзависимых ферментов, которые превращают перекиси в воду (когда субстратом является H_2O_2) или спирты (когда субстратом являются органические перекиси общей формулы ROOH). Высокая клеточная концентрация и высокая скорость реакции Prxs с пероксидами ($k_{cat}/K_M \sim 10^6-10^7 M^{-1} s^{-1}$) означают, что они, вероятно, являются первыми молекулами в клетке, реагирующими с этим ROS [39]. Поэтому было предположено, что Prxs являются как передовой линией защиты от повышенного уровня перекиси, так и посредниками начальных гомеоста-

тических или пролиферативных сигнальных событий, связанных с перекисью [40]. В дополнение к их роли в непосредственной детоксикации H_2O_2 Prxs также косвенно снижают уровни гипохлорита ($^{\cdot}OCl$) и гидроксильного радикала ($^{\cdot}OH$) путем снижения концентрации перекисного реактива, который генерирует эти вторичные ROS.

У млекопитающих существует шесть Prx, которые делятся на классы 1-Cys или 2-Cys в зависимости от количества критических остатков цистеина в их активных сайтах. Независимо от класса все Prx восстанавливают пероксиды путем первоначального образования цистеинсульфеновой кислоты (Cys-SOH) на высокореактивном, перекисном остатке цистеинового активного сайта. Полученный в результате перекиси атом кислорода промежуточного соединения цистеинсульфеновой кислоты высвобождается в виде воды во время разрешения сульфеновой кислоты в результате атаки второго тиола или пожертвованного другим остатком цистеина в белке (разрешающий цистеин в 2-Cys Prxs) либо из небольших молекулярных тиолов, таких как глутатион (в 1-Cys Prxs). Поэтому катализ Prx приводит к образованию дисульфид-содержащих ферментов, которые должны быть восстановлены тиоредоксином или глутаредоксином для восстановления покоящегося фермента и завершения каталитического цикла. Этот процесс зависит от редуктаз, которые в конечном итоге получают электроны от NADPH, тем самым соединяя Prx-зависимую детоксикацию ROS с пентозофосфатным путем, который генерирует NADPH. Prxs I, II, III и V являются изоформами, которые наиболее высоко экспрессируются в эпителии здоровых легких [41]. Дополнительные данные свидетельствуют о том, что 1-цис Prx VI важен именно для защиты от перекисей липидов в легких [42]. Еще один момент, представляющий особый интерес, заключается в том, что Prx VI также обладает активностью фосфолипазы A2, и считается, что она играет важную роль в метаболизме сурфактанта легких фосфолипидов, которая, по-видимому, не зависит от его пероксидазной функции.

Глутатионпероксидазы (Grxs) представляют собой интригующий класс ферментов защиты от окислительного стресса, которые обычно (хотя и не всегда) имеют остаток селеноцистеина в своих активных сайтах. Селеноцистеин, иногда называемый 21-й аминокислотой, иногда встречается в активных сайтах окислительно-восстановительных ферментов [43]. Grxs детоксицируют пероксиды, используя каталитическую стратегию, в целом сходную с Prxs, включающую

переходное окисление остатка активного сайта (цистеина в Prxs, селеноцистеина в Grxs), до монооксигенированной формы либо цистеинсульфеновой кислоты (Cys-SOH) в Prxs, либо селеноцистеинсульфеновой кислоты (Sec-SeOH) в Grxs. В Grxs эта Sec-SeOH разрешается последовательным действием двух молекул GSH. Первая молекула GSH атакует Sec-SeOH, образуя связь Se-S с ферментом и высвобождая воду. Вторая молекула GSH восстанавливает свободный фермент и производит окисленный дисульфид глутатиона (GSSG) вместе с первой молекулой GSH. Таким образом, активность Grx критически связана с клеточным пулом глутатиона, а высвобожденный GSSG восстанавливается до GSH с помощью NADPH-зависимой глутатионредуктазы.

Интересно, что дефицит Grx1 приводит лишь к скромным фенотипам легких в мышиных моделях; однако было отмечено изменение иммунной функции легких [44]. В целом, вполне вероятно, что многочисленные изоформы Prx и Grx, присутствующие у млекопитающих, обладают значительно перекрывающимися активностями и что в биохимических механизмах удаления перекисей развилась избыточность.

Интерес к клеточной защите от перекисей обусловлен тем, что она содержит много ферментов, по-видимому, предназначенных для этой задачи. Каталазы также являются ферментами детоксикации перекиси водорода, которые, в отличие от Prxs и Grxs, используют редуктазозависимую и гемизависимую химию для преобразования H_2O_2 в O_2 . Гемизависимые пероксидазы являются родственным семейством ферментов, которые превращают H_2O_2 в воду, а некоторые ферменты обладают обеими активностями в одном полипептиде. Каталазы являются быстрыми ферментами со значениями $k_{cat} \sim 10^7 \text{ c}^{-1}$, но также имеют очень высокие значения $K_M \sim 1M$ для пероксида. Поэтому каталазы далеки от своей максимальной скорости, когда им предъявляют нМ-мкМ уровни H_2O_2 , присутствующие в клетках, и, скорее всего, кинетически конкурируют с Prxs. Это может привести к разным кинетическим режимам работы Prxs и каталаз, что позволяет эффективно реагировать на различные перекисные инсульты – от хронического низкого уровня (Prxs) до острого высокого уровня стресса (каталазы) [45]. Каталазы экспрессируются в альвеолярных эпителиальных клетках и могут играть особенно важную роль в остром стрессе, вызванном болюсной генерацией H_2O_2 , которая происходит во время реоксигенационного повреждения легких [46].

Заключение

Результаты проведенного авторами исследования указывают на активацию свободнорадикальных процессов у больных с ХОБ, зависящую от степени тяжести заболевания. Это выражается в следующем: 1) повышении уровня одного из продуктов ПОЛ – МДА в сыворотке крови, что свидетельствует об усилении окислительно-деструктивных процессов, происходящих в липидах эпителиальных мембран бронхов и легких, в которых АФК играют ключевую роль; 2) повышении уровня мочевой кислоты, являющейся маркером интенсификации СРП; 3) повышении содержания карбонильных групп в и снижении сульфгидрильных групп в белках сыворотки крови.

На фоне нарастающей по мере прогрессирования ХОБ интенсификации СРП наблюдается истощение антиоксидантной системы крови, центральным звеном которой является тиол-дисульфидная система. Это выражается в снижении содержания глутатиона – основного низкомолекулярного антиоксиданта крови – и снижении активности фермента – глутатионпероксидазы. Интересно то, что на начальных этапах развития ХОБ активность фермента увеличивается, что свидетельствует об активации антиоксидантной системы в ответ на интенсивную генерацию АФК. Однако по мере прогрессирования заболевания активность глутатионпероксидазы снижается, что, скорее всего, может быть обусловлено окислительной модификацией фермента. В результате этого скорости генерации конечных продуктов ПОЛ могут повыситься, что видно по высокому уровню МДА.

Снижение активности глутатионпероксидазы и концентрации глутатиона при ХОБ средней и тяжелой степени указывает на истощение компонентов антиоксидантной системы, следствием чего будет нарушение прооксидантно-антиоксидантного баланса.

С целью более детального выяснения механизмов генерации АФК при ХОБ авторами было исследовано содержание кислорода и фагоцитирующих клеток в крови больных ХОБ. Оказалось, что по мере прогрессирования ХОБ в крови больных парциальное давление кислорода снижается. Выраженная гипоксемия у больных с тяжелой степенью ХОБ будет обуславливать гипоксию, развивающуюся не только на уровне клеток органов дыхания, но и во всем организме. Снижение концентрации кислорода в тканях может привести к накоплению восстановительных эквивалентов в митохондриальных цепях переноса электронов с последующим образованием супероксид-

ного радикала, а затем – перекиси водорода и гидроксильного радикала.

Однако избыточная генерация АФК при ХОБ может быть обусловлена развивающимся воспалением. Исследование показало, что у больных ХОБ в крови увеличивается содержание нейтрофилов. Нейтрофилы способны генерировать супероксидный радикал в НАДФН-оксидазной реакции с последующим образованием других активных форм кислорода, азота, хлора. Результаты исследования свидетельствуют о высокой степени корреляции между содержанием нейтрофилов в периферической крови и уровнем МДА. Это определяет весомый вклад воспалительной реакции, развивающейся при ХОБ, в интенсификацию свободнорадикальных процессов, превышающий, возможно, вклад развивающейся гипоксемии, поскольку обнаруженная отрицательная корреляция между содержанием кислорода в крови и уровнем МДА не достоверна.

Определенная роль в генерации реактивных форм кислорода при ХОБ, вероятно, принадлежит ксантиноксидазной реакции. На это указывает высокий уровень мочевой кислоты в крови пациентов с умеренной и тяжелой формами ХОБ. Возможно, что причиной повышения уровня мочевой кислоты является быстрая конвертация ксантиндегидрогеназы в ксантиноксидазу в условиях избыточного потребления АТФ и его деградации до аденина и ксантина – субстрата для синтеза мочевой кислоты.

Поскольку все исследованные авторами маркеры окислительного стресса, такие как МДА, мочевая кислота, сульфгидрильные и карбонильные группы белков, зависят от тяжести ХОБ, их можно предложить в качестве диагностических инструментов для оценки степени прогрессирования заболевания наряду со стандартными клиническими показателями.

Список литературы

1. Прибылов С.А., Шабанов Е.А., Алиуллин Р.В., Самосудова Л.В., Юдина Н.В. Эндотелиопротекторные и гемодинамические эффекты сартанов при сочетании артериальной гипертензии, ишемической болезни сердца и хронической обструктивной болезни легких // Актуальные проблемы медицины. Клиническая медицина. 2011. № 5. С. 26-30.
2. Miravittles M.A. Cough and sputum production as risk factors for poor outcomes in patients with COPD // Journal Respiratory Medicine. 2013. Vol. 105. No. 8. P. 223-224.
3. Hirokazu T. Reactive Oxygen Species and Antioxidative Defense in COPD // Respiratory System. 2021. Vol. 5. No. 3. P. 78-80.
4. Barnes P.J. Oxidative stress-based therapeutics in COPD // Redox Biology. 2020. Vol. 33. No. 26.
5. Yao H., Arunachalam G., Hwang J.W., Chung S., Sundar I.K., Kinnula V.L., Crapo J.D., Rahman I. Extracellular superoxide dismutase protects against pulmonary emphysema by attenuating oxidative fragmentation of ECM // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2014. Vol. 107. No. 5. P. 15571-15576.
6. Hwang J.W., Rajendrasozhan S., Yao H., Chung S., Sundar I.K., Huyck H.L., Pryhuber G.S., Kinnula V.L., Rahman I. FOXO3 deficiency leads to increased susceptibility to cigarette smoke induced inflammation, airspace enlargement, and chronic obstructive pulmonary disease. Journal of Immunology. 2011. Vol. 187. P. 987-998.
7. McKelvey M.C., Brown R., Ryan S., Mall M.A., Weldon S., Taggart C.C. Proteases, Mucus, and Mucosal Immunity in Chronic Lung Disease // The International Journal of Molecular Sciences. 2021. Vol. 22. P. 5018.
8. Barnes P.J., Baker J., Donnelly L.E. Cellular Senescence as a Mechanism and Target in Chronic Lung Diseases // American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. 2019. Vol. 200. P. 556-564.
9. Sussan T.E., Rangasamy T., Blake D.J., Malhotra D., El-Haddad H., Bedja D., Yates M.S., Kombairaju P. et al. Targeting Nrf2 with the triterpenoid CDDO-imidazolide attenuates cigarette smoke-induced emphysema and cardiac dysfunction in mice // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2019. Vol. 106. P. 250-255.
10. Barnes P.J. The cytokine network in chronic obstructive pulmonary disease // American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology. 2013. Vol. 41. P. 631-638.
11. Kim H.J., Park Y.D., Moon U.Y., Kim J.H., Jeon J.H., Lee J.G., Bae Y.S., Yoon J.H. The role of Nox4 in oxidative stress-induced MUC5AC overexpression in human airway epithelial cells // American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology. 2015. Vol. 39. P. 598-609.
12. Rahman I., MacNee W. Antioxidant pharmacological therapies for COPD // Current Opinion in Pharmacology. 2014. Vol. 12. No. 3. P. 256-265.
13. Messier E. N-acetylcysteine protects murine alveolar type II cells from cigarette smoke injury in a nuclear erythroid 2-related factor-2-independent manner // American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology. 2013. Vol. 48. No. 5. P. 559-567.
14. Salama S. Nicotine mediates hypochlorous acid-induced nuclear protein damage in mammalian cells. Inflammation. 2014. Vol. 37. No. 3. P. 785-792.
15. Salama S., Snapka R. Amino acid chloramine damage to proliferating cell nuclear antigen in mammalian cell // In Vivo. 2014. Vol. 26. No. 4. P. 501-517.
16. Breitzig M., Bhimineni C., Lockey R. 4-Hydroxy-2-nonenal: a critical target in oxidative stress // American Journal of Physiology Cell Physiology. 2016. Vol. 311. No. 4. P. 537-543.
17. Cai Z., Yan J. Protein oxidative modifications: beneficial roles in disease and health // Journal of Biochemical and Pharmacological Research. 2013. Vol. 1. No. 1. P. 15-26.
18. Kirkham P., Rahman I. Oxidative stress in asthma and COPD: antioxidants as a therapeutic strategy // Pharmacology & Therapeutics. 2016. Vol. 111. No. 2. P. 476-494.
19. Kong Q., Lin C. Oxidative damage to RNA: mechanisms, consequences, and diseases // Cellular and Molecular Life Sciences. 2010. Vol. 67. No. 11. P. 1817-1829.
20. Deslee G. Oxidative damage to nucleic acids in severe emphysema // Chest. 2009. Vol. 135. No. 4. P. 965-974.
21. Gibbons D., Byers L., Kurie J. Smoking, p53 mutation, and lung cancer // Molecular Cancer Research. 2014. Vol. 12. No. 1. P. 3-13.
22. Durham L., Adcock I. The relationship between COPD and lung cancer // Lung Cancer. 2015. Vol. 90. No. 2. P. 121-127.
23. Kim S. Mitochondria-targeted Ogg1 and aconitase-2 prevent oxidant-induced mitochondrial DNA damage in alveolar epithelial cells // The Journal of Biological Chemistry. 2014. Vol. 289. No. 9. P. 6165-6176.

24. Alexeyev M. Is there more to aging than mitochondrial DNA and reactive oxygen species? // *The FEBS Journal*. 2019. Vol. 276. No. 20. P. 5768–5787.
25. Sureshbabu A., Bhandari V. Targeting mitochondrial dysfunction in lung diseases: emphasis on mitophagy // *Frontiers in Physiology*. 2013. Vol. 4. P. 26–32.
26. Madesh M. Execution of superoxide-induced cell death by the proapoptotic Bcl-2-related proteins Bid and Bak // *Molecular and Cellular Biology*. 2009. Vol. 29. No. 11. P. 3099–3112.
27. Wiegman C. Oxidative stress-induced mitochondrial dysfunction drives inflammation and airway smooth muscle remodeling in patients with chronic obstructive pulmonary disease // *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2015. Vol. 136. No. 3. P. 769–780.
28. Hoffmann R. Prolonged cigarette smoke exposure alters mitochondrial structure and function in airway epithelial cells // *Respiratory Research*. 2013. Vol. 14. No. 1. P. 97–105.
29. Mizumura K. Mitophagy-dependent necroptosis contributes to the pathogenesis of COPD // *The Journal of Clinical Investigation*. 2014. Vol. 124. No. 9. P. 3987–4003.
30. Frank M. Mitophagy is triggered by mild oxidative stress in a mitochondrial fission dependent manner. *Biochimica et Biophysica Acta // Molecular Cell Research*. 2013. Vol. 1823. No. 12. P. 2297–2310.
31. Varlamova E. Characterization of some thiol oxidoreductase family members // *Molecular Biology*. 2013. Vol. 47. No. 4. P. 568–582.
32. Amini A., Masoumi-Moghaddam D., Morris M. Bromelain and N-acetylcysteine inhibit proliferation and survival of gastrointestinal cancer cells: significance of combination therapy // *Annals of Oncology*. 2015. Vol. 26. P. 27–37.
33. Alvarado A., Arce I. Antioxidants in respiratory diseases: Basic science research and therapeutic alternatives // *Clinical Research and Trials*. 2016. Vol. 3. No. 1.
34. Berndt C., Lillig C.H., Flohe L. Redox regulation by glutathione needs enzymes // *Frontiers in Pharmacology*. 2014. Vol. 5. No. 10. P. 7.
35. McCord J.M., Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein) // *The Journal of Biological Chemistry*. 2013. Vol. 244. No. 22. P. 6049–6055.
36. Omelchenko M.V., Galperin M.Y., Wolf Y.I., Koonin E.V. Non-homologous isofunctional enzymes: a systematic analysis of alternative solutions in enzyme evolution // *Biology Direct*. 2020. Vol. 5. No. 1. P. 31.
37. Perry J.J., Shin D.S., Getzoff E.D., Tainer J.A. The structural biochemistry of the superoxide dismutases // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Proteins and Proteomics*. 2015. Vol. 1804. No. 2. P. 245–262.
38. Tsan M.F. Superoxide dismutase and pulmonary oxygen toxicity // *Experimental Biology and Medicine*. 2013. Vol. 214. No. 2. P. 107–113.
39. Perkins A., Nelson K.J., Parsonage D., Poole L.B., Karplus P.A. Peroxiredoxins: guardians against oxidative stress and modulators of peroxide signaling // *Trends in Biochemical Sciences*. 2015. Vol. 40. No. 8. P. 435–445.
40. Poole L.B., Hall A., Nelson K.J. Overview of peroxiredoxins in oxidant defense and redox regulation // *Current Protocols in Toxicology*. 2013. Chapter 7. Unit 7.9. DOI: 10.1002/0471140856.tx0709s49.
41. Park J.H., Kim Y.S., Lee H.L. Expression of peroxiredoxin and thioredoxin in human lung cancer and paired normal lung // *Respirology*. 2016. Vol. 11. No. 3. P. 269–275.
42. Manevich Y., Fisher A. B. Peroxiredoxin 6, a 1-Cys peroxiredoxin, functions in antioxidant defense and lung phospholipid metabolism // *Free Radical Biology & Medicine*. 2015. Vol. 38. No. 11. P. 1422–1432.
43. Hondal R.J., Marino S.M., Gladyshev V.N. Selenocysteine in thiol/disulfide-like exchange reactions // *Antioxidants & Redox Signaling*. 2013. Vol. 18. No. 13. P. 1675–1689.
44. Bouch S., O'Reilly M., de Haan J. B., Harding R., Sozo F. Does lack of glutathione peroxidase 1 gene expression exacerbate lung injury induced by neonatal hyperoxia in mice? // *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*. 2017. Vol. 313. No. 1. P. 115–125.
45. Peskin A.V., Low F.M., Paton L.N., Maghzal G.J., Hampton M.B., Winterbourn C.C. The high reactivity of peroxiredoxin 2 with H₂O₂ is not reflected in its reaction with other oxidants and thiol reagents // *The Journal of Biological Chemistry*. 2017. Vol. 282. No. 16. P. 11885–11892.
46. Jackson R. M., Russell W. J., Veal C. F. Endogenous and exogenous catalase in reoxygenation lung injury // *Journal of Applied Physiology*. 2013. Vol. 72. No. 3. P. 858–864.