

**УЧАСТЬ АКТИВНИХ ФОРМ КИСНЮ У ПРОЦЕСАХ  
ВНУТРІШНЬОКЛІТИННОЇ ПЕРЕДАЧІ СИГНАЛУ****В. О. Чайка<sup>1</sup>, Л. І. Остапченко<sup>1</sup>, О. І. Долішняк<sup>2</sup>**

1 - Київський національний університет імені Тараса Шевченка, біологічний факультет, кафедра біохімії,  
НДЛ «Фізико-хімічної біології», e-mail.: rigik1979@mail.ru

2 - Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника, Коломийський інститут,  
e-mail.: oksanamchk@ukr.net

*Проаналізовано дані сучасної літератури щодо можливої участі активних форм кисню у процесах внутрішньоклітинної трансдукції. Показано можливість ліганд-індукованого синтезу АФК, їх основні внутрішньоклітинні джерела. Продемонстровано біохімічні механізми залучення АФК у функціонування різних ланок передачі сигналу, що включають зміни внутрішньоклітинного редокс-статусу та оксидативні модифікації білків.*

**Ключові слова:** оксидативні модифікації білків, активні форми кисню.

**Chayka V.O., Ostapchenko L.I., Dolishniak O.I. Reactive oxygen species in cell signal transduction mechanism.** *It was analyzed the modern literature data concerning possible participation of reactive oxygen species in endocellular transduction processes. The evidence for ligand-induced generation of ROS, its cellular sources, and the signaling pathways that are activated was shown. Emerging concepts on the mechanisms of signal transduction by ROS that involve alterations in cellular redox state and oxidative modifications of proteins are also discussed.*

**Key words:** oxidative modification of protein, active forms of oxygen.

Сьогодні в більшості публікацій із проблем, присвячених активним формам кисню (АФК), основний акцент робиться на їхній токсичній дії й ролі в патофізіологічних процесах, що ґрунтується на численних даних про деструктивну дію процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) на мембрани, нуклеїнові кислоти й білки. Однак починаючи з 1995-1996 р. стало з'являтися усе більше публікацій, автори яких не тільки відзначають, що АФК є нормальними продуктами біохімічних процесів, але й повідомляють про важливу регуляторну роль, що відіграють ці сполуки [1].

До останнього часу вважалося, що шлях одноелектронного відновлення молекули кисню, при якому утворюються його активні форми, не може виконувати функціонально значиму роль, крім антибіотичної захисної функції при дихальному вибуху у фагоцитах. Склалося уявлення, що в нормі внесок одноелектронного відновлення кисню в загальний об'єм окисних процесів надзвичайно малий, а збільшення його інтенсивності - це патологія, "окисний стрес". Дійсно, якщо головним джерелом АФК у клітці вважати "витік" електронів з дихального ланцюга мітохондрій, то в препаратах ізольованих мітохондрій усього лише 1-2% загального електронного потоку йде на одноелектронне відновлення. Показано, що лише 0,1% споживаного кисню відновлюється до супероксид-аніон радикала ( $O_2^-$ ) [1, 2].

Інша картина відкривається при розгляді використання кисню не фрагментами зруйнованої живої системи, а цілісними об'єктами. Мінімально ушкоджені органи й тканини використовують у відносному спокої до 10-15% споживаного організмом кисню для синтезу його активних форм. Так, у деяких рослин при повному пригніченні мітохондріального дихання споживання  $O_2$  знижується лише на 5-30%. У печінці *in situ* (тобто при збереженні її зв'язків із кровоносною й нервовою системами організму) утворюється удвічі більше перекису водню (однієї з форм АФК) у порівнянні з її ізольованими субклітинними фракціями. Ці та інші роботи, у яких було показано, що АФК виділяються клітинами, що не беруть участі в патогенезі та не відіграють фагоцитарних функцій дозволили зробити припущення, що АФК можуть бути задіяними в сигнальних шляхах [1-3].

Теоретично, АФК ідеально підходять для виконання ролі сигнальних молекул. Вони малі за розміром, можуть дифундувати на короткі дистанції, існує ряд механізмів їх синтезу (які є швидкими і регульованими) та їх елімінації.

Як потенційні сигнальні молекули, АФК повинні: синтезуватись клітиною у відповідь на сигнал, тобто бути задіяними у передачі сигналу від первинного ліганду; брати участь у подальшій передачі сигналу у клітині, що їх синтезує; видалятися після закінчення дії сигналу.

Сьогодні відомо, що деякі форми АФК, особливо перекис водню і супероксид-аніон, повністю задовольняють ці вимоги.

Якщо АФК беруть участь у ліганд-рецепторній взаємодії, у клітині повинні існувати спеціалізовані системи синтезу АФК, які активуються у відповідь на дію первинного ліганду внаслідок ліганд-рецепторної взаємодії. Сьогодні відомо, що у клітині існують як ферментативні, так і не ферментативні системи синтезу АФК. З точки зору участі АФК у процесах трансдукції сигналу, особливий інтерес дослідників привертають саме ферментативні.

Єдиним відомим на сьогодні спеціалізованим ферментом синтезу АФК є НАДФН-оксидаза. Цей фермент уперше було виявлено в нейтрофілах, які у відповідь на збудження спричиняють дихальний вибух, що супроводжується викидом супероксиду у фагосому. Пізніше подібні структури було знайдено в нефагоцитарних клітинах - у клітинах всіх трьох шарів аорти, у фібробластах, синоцитах, хондроцитах, у клітках нирок, нейронах і астроцитах кори мозку, клітинах рослин, дріжджів. Основним продуктом цих ферментів є супероксид-аніон. Деякі ферменти, що належать до цієї родини, є конститутивними, тобто функціонують безупинно, інші - індукцйбельні, і їхня активність підвищується або знижується у відповідь на дію на клітину специфічних і неспецифічних подразників [4].

До найвідоміших ферментів, що продукують АФК як побічні продукти своєї діяльності належать ліпооксигенази, циклооксигенази, ксантинооксидаза. Ліпооксигенази - "не гемвісні" діоксигенази, які окислюють поліненасичені жирні кислоти з утворенням біологічно активних лейкотрієнів (як основних продуктів) та АФК як побічних. Циклооксигенази - гемвісні мембранозв'язані ферменти, окислюють арахідонову кислоту (АА) за участю молекулярного кисню. У результаті утворюються простагландини та нестабільні проміжні продукти - ендопероксиди. Існує 2 ізоформи ферменту: СОХ-1, що є конститутивною формою ферменту та СОХ-2, яка індукується у відповідь на різноманітні фактори росту і цитокіни. Ксантинооксидаза - молібден-, залізо- і мідь-вмісний флавопротеїн, який каталізує кінцеву стадію окислення пуринів, а також окисню трансформацію птеридинів і деяких аліфатичних та ароматичних альдегідів. Фермент утворює із ксантину сечову кислоту та перетворює молекулярний кисень на пероксид або супероксид залежно від рівня відновленості ферменту. Цей фермент може також синтезувати NO, що, можливо, показує подвійну роль ферменту у передачі сигналів клітини. У синтезі АФК є задіяними також інші внутрішньоклітинні ферменти - пероксидази, альдегідоксидази, дигідрооротатдегідрогеназ, флавопротеїндегідрогенази, триптофандіоксигенази тощо. Сьогодні показано, що АФК продукують і ферменти, для яких ця функція раніше була невідома. Так, при роботі мембранного ферменту гамма-глутаміл-транспептидази поблизу клітини підвищується вміст пероксиду водню. Пригнічення активності цього ферменту або додавання в середовище каталази (що розщеплює пероксид) блокує розмноження клітин і викликає їх загибель [5, 6].

Показано, що функціонування будь-якої біологічної системи, що передає електрони, може привести до утворення АФК як "побічних продуктів" реакцій передачі електронів. Так, у мітохондрії внаслідок існування дихального ланцюга покоління АФК складає ~1-2 % повного споживання O<sub>2</sub> у нативному стані. Через високі концентрації мітохондріальної супероксиддисмутази, ферменту, що катаболізує супероксид-аніон, внутрішньомітохондріальні концентрації O<sub>2</sub><sup>•-</sup> підтримуються на дуже низькому стаціонарному рівні. Таким чином, на відміну від H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, який здатний транслокуватись крізь мітохондріальну мембрану в цитоплазму, синтезований мітохондрією O<sub>2</sub><sup>•-</sup> не може перейти в цитоплазму. В останні роки з'явилися дані, що мітохондріальні АФК задіяні в регулюванні апоптозу (через систему MAP-кіназ). Також було встановлено, що мітохондріальний супероксид бере участь у передачі сигналу від тканинного некротичного фактора α (TNF α), лептину. Також було запропоновано, що мітохондрія може функціонувати як "датчик O<sub>2</sub>", при регулюванні генної транскрипції, яка викликана гіпоксією [7, 8].

Ендоплазматичний ретикулум (ЕР) - інша мембранна внутрішньоклітинна органела, що, на відміну від мітохондрії, насамперед залучена в ліпідний і білковий біосинтез. Гладенький ЕР містить ферменти, які каталізують ряд реакцій детоксикації жиророзчинних препаратів й інших шкідливих продуктів обміну речовин. Найбільш вивчені з них - цитохром Р-450 й b5-родина ферментів, які можуть окислювати ненасичені жирні кислоти й ксенобіотики. АФК виникають в результаті роботи ферментативного комплексу цитохром Р450, що окислює продукти метаболічної діяльності організму й екзотоксини (ксенобіотики). Прийнято вважати, що O<sub>2</sub><sup>•-</sup> - побічний продукт діяльності цього цитохрому. Але виявилось, що генерація цитохромом Р450 O<sub>2</sub><sup>•-</sup> є необхідною, наприклад, для синтезу стероїдних гормонів у сім'яниках. Сьогодні встановлено існування зв'язку між АФК, продукованими ЕР і сигнальними шляхами факторів росту [9].

Ядерні мембрани містять цитохромоксидази й електронтранспортні системи, які є подібними до тих, що існують в ЕР, проте їх функція невідома. Сьогодні показано, що зазначені системи теж здатні виробляти АФК [10].

Також важливим джерелом генерації АФК може бути автоокислення катехоламінів, флавінів, гідрохінонів. Недавно було висловлене припущення, що прооксидантний ефект автоокислення дофаміну може мати відношення до індукції ним апоптозу нервових клітин [8].

Дуже важливим питанням є роль АФК в рецептор-опосередкованих шляхах передачі сигналів. Якщо розглядати АФК із позицій їхньої дії як вторинних посередників, то вони повинні вироблятись у відповідь на відповідний подразник (ліганд), тобто їх синтез при передачі сигналу повинен бути опосередкованим

ліганд-рецепторною взаємодією. Сьогодні показано, що у якості таких лігандів можуть виступати: гормони (інсулін, ангіотензин, паратиреоїдний гормон, вітамін Д<sub>3</sub>); цитокіни; деякі нейромедіатори.

Утворення таких ліганд-рецепторних комплексів супроводжується утворенням АФК, які активно включаються в сигнальну трансдукцію, впливаючи на ключові ланки метаболічних процесів у клітині. Сьогодні є експериментальні підтвердження участі АФК у передачі сигналу, пов'язаного з дією первинних месенджерів. Первинні месенжери здійснюють регуляцію рівня АФК у клітині за рахунок активації процесів їхньої генерації, з одного боку, і/або зниження активності окремих ланок антиоксидантного захисту (АОЗ), з іншого [1-10].

Розглянемо кілька основних прикладів участі АФК у передачі сигналу за участю мембранних рецепторів. Найбільш типовою є участь АФК у внутрішньоклітинній передачі сигналу від інсуліну. Дія інсуліну починається з його зв'язування зі специфічним глікопротеїновим рецептором на поверхні клітини-мішені. Різні ефекти цього гормону можуть проявлятися через кілька секунд або хвилин (транспорт, фосфорилування білків, активація й інгібування ферментів, синтез РНК), або через кілька годин (синтез білка й ДНК та клітинний ріст). Встановлено, що внаслідок взаємодії інсуліну з його рецептором через подальше фосфорилування певних внутрішньоклітинних білків відбувається опосередкована активація НАДФН-оксидази. Результатом її дії є синтез супероксид-аніону та пероксиду водню, що відіграють корегуляторну функцію у активації інсулінового рецептора, посилюючи сигнали інсуліну і забезпечуючи позитивний зворотний зв'язок. Подібний вплив на інсуліновий рецептор показано і для АФК, що утворюються при активації інших рецепторів. Таким чином, активація синтезу АФК через інсуліновий рецептор зумовлює кооперативність між інсуліновим рецептором і іншими мембранними рецепторами, що ми розглянемо детальніше [8, 9].

АФК залучені у передачу сигналу від ряду цитокінів, зокрема, інтерлейкіну, інтерферону, тромбоцитарного фактору росту, епідермального фактору росту (EGF), трансформуючого фактору росту b - 1, фактору некрозу пухлин (TNF), фактору росту нервів (NGF), епідермального фактору росту і фактору росту тромбоцитів (PDGF). Цитокіни через свої рецептори здатні викликати синтез АФК активуючи НАДФН-оксидазу через сигнальний білок Rac1. Як і в попередньо розглянутому прикладі з інсуліном, АФК є залученими як у внутрішньоклітинну передачу сигналу від цих цитокінів, так і у регуляцію активності їх рецепторів, забезпечуючи позитивний зворотний зв'язок у передачі сигналу. У зв'язку з існуванням багатьох факторів росту, цитокінів, або інших лігандів, які викликають ендогенну продукцію АФК, існує велика ймовірність, що редокс-залежність процесу трансдукції сигналу може сприяти синергічним взаємодіям між різними типами мембранних рецепторів. Ця фізіологічно вигідна кооперативність між різними рецепторами, можливо, була головною рушійною силою у філогенетичному розвитку досить складного механізму редокс-регулювання [8, 10].

Прикладом вищезазначеної кооперативності є взаємодія між 1 типом рецепторів ангіотензину II та EGF- або PDGF-рецепторами. 1 тип рецептора ангіотензину II опосередковує ростові ефекти в судинних гладком'язевих клітинах, кардіоміоцитах, і кардіальних фібробластах. Крім того, показано, що цей рецептор викликає реакції, які зазвичай активізуються рецепторами EGF та PDGF. Трансактивація цих двох рецепторів ангіотензином II опосередковується АФК та інгібується антиоксидантами [11].

Окрім НАДФН-оксидази, у АФК-залежну передачу сигналів від цитокінів можуть бути залучені інші ферменти синтезу. Так, IL-1 активує фактор транскрипції NF- $\kappa$ B 3-ма різними шляхами: через синтез АФК ліпооксигеназою у лімфоїдних клітинах; через АФК- незалежний шлях в епітеліоцитах; через синтез АФК НАДФН-оксидазою в моноцитах [12].

Таким чином, розглянуті дані підтверджують існування спеціалізованих систем синтезу АФК, що активуються у відповідь на дію первинного ліганду.

Перш чим перейти до участі АФК у внутрішньоклітинних процесах сигнальної трансдукції, зупинимось на біохімічних механізмах дії АФК.

Сьогодні показано, що АФК здатні впливати на внутрішньоклітинні системи трансдукції сигналу двома шляхами: через зміну внутрішньоклітинного редокс-статусу клітини та через окисні модифікації білків.

Відомо, що на відміну від позаклітинного середовища, внутрішньоклітинний матрикс значно більш «відновлений» (має більш негативне значення редокс-потенціалу) та характеризується окисно-відновним гомеостазом завдяки буферним властивостям внутрішньоклітинних тіолів, в основному глутатіону (GSH) та тіоредоксину (TRX). У клітині зберігається високе редокс-співвідношення GSH і TRX, що підтримується активністю GSH і TRX редуктаз, відповідно. Обидві тіолові редокс-системи протидіють внутрішньоклітинному оксидативному стресу, зменшуючи вміст H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> і ліпідних пероксидів, через реакції, які каталізуються пероксидазами. Сьогодні встановлено, що крім виконання антиоксидантних функцій, GSH та TRX беруть участь в сигнальних процесах. Так, згідно останніх досліджень, TRX може регулювати активність деяких білків безпосередньо зв'язуючись з ними [2, 6, 8].

АФК можуть змінити структуру й функцію білків, модифікуючи певні амінокислотні залишки, викликаючи білкову димеризацію, і взаємодіючи з Fe-S або іншими комплексами металів. Окисні модифікації амінокислот у межах функціональної області білків можуть відбуватись кількома способами. Сульфгідрильна група (-SH) окремого залишку цистеїну може бути окисненою з утворенням -SOH, -SO<sub>2</sub>H, -SO<sub>3</sub>H та -SSG похідних. Такі альтерації можуть змінити активність ферменту, якщо цистеїн розташований у

межах його каталітичної області або здатність фактора транскрипції зв'язуватись з ДНК, якщо він розміщений у межах його ДНК-зв'язуючої ділянки. Формування внутрішньомолекулярних та міжмолекулярних дисульфідних зв'язків може змінити структуру білків чи спричинити їх димеризацію. Прикладом такого впливу може бути бактеріальний стрес-чутливий білок OxyR, в якому це призводить до його активації. Відновлення критичних цистеїнових залишків у деяких факторах транскрипції, спричинене дисульфід-відновлюючими системами (типу тіоредоксину), викликає їх прикріплення до ДНК і трансактивацію. Пероксид водню може спричинити перехресне зшивання білків через утворення дитиозинових зв'язків. Білки, що містять метали змінної валентності можуть бути окислені АФК, синтезованими оксидазами змішаної функції, які "призначені" для убіквітинування і наступної деградації протеазами. Це – потенційний механізм для АФК – залежної альтерації білкової стабільності [2, 6-10].

Важливим є участь АФК у внутрішньоклітинних процесах передачі сигналу. Сьогодні показано, що АФК можуть бути задіяними як у каскадах, що закінчуються на рівні активування відповідних внутрішньоклітинних білків (тобто на рівні цитоплазми), так і у сигнальних шляхах, що ведуть до індукції експресії відповідних генів (у ядрі).

Важливою ланкою участі АФК у шляхах сигнальної трансдукції є їх роль у процесах фосфорилування білків. Фосфорилування білків здійснюється відповідними протеїнкіназами та призводить до змін (активації чи інгібування) їх активності. Субстратами протеїнкіназ служать численні ферменти, білки – іонні транспортери, скорочувальні білки, білки цитоскелету, білки, що регулюють експресію генів тощо. Звичайно ті протеїнкінази, що активуються в першу чергу, фосфорилують протеїнкінази, які розміщені на більш "нижчих" ланках інформаційного потоку, а ті, в свою чергу – протеїнкінази, які розміщені ще нижче. У багатьох випадках акти послідовного фосфорилування досягають білків, які включають в роботу ті чи інші гени, і тоді зовнішній інформаційний сигнал транслюється в зміни спектра білків, які синтезує дана клітина. Для нормальної роботи сигнальних каскадів необхідно не лише їх включення, а і своєчасне виключення після виконання задачі. Останнє здійснюють протеїнофосфатази, функціонування яких також регулюється численними білковими та іншими факторами [5].

Найбільш точно сьогодні вивчено вплив АФК на функціонування систем тирозинкіназ/фосфатаз та серин/треонінкіназ/фосфатаз.

Високі концентрації пероксиду водню й сильні прооксидантні зміни у внутрішньоклітинному тіол/дисульфідному співвідношенні призводять до підвищення фосфорилування амінокислоти тирозину в численних білках. Цей ефект - до деякої міри, хоч і не виключно, - результат окисного інгібування тирозинових протеїнофосфатаз. Тирозинові протеїнофосфатази протидіють ефекту тирозинових протеїнкіназ. Всі тирозинові протеїнофосфатази мають загальну послідовність із каталітично важливим залишком цистеїну в активному центрі. Інгібування каталітичної активності може відбутися шляхом окиснення цього залишку пероксидом водню або глутатіоном. Таким чином, тирозинова протеїнофосфатаза - типовий приклад регулюючих білків, що відповідають на зміни концентрацій АФК або внутрішньоклітинного тіол/дисульфідного співвідношення [2, 6].

АФК та прооксидантні зміни глутатіонового співвідношення також посилюють активність деяких тирозинових протеїнкіназ. Фізіологічна роль цього все ще не визначена.

Серин/треонінова протеїнкіназа С (PKC) – беруть участь в трансдукції сигналу в різних сигнальних шляхах, які регулюють транскрипцію і контроль клітинного циклу. Ізоформа PKC (PKC $\alpha$ ) активується диацилгліцеролом. Паралельно, цей фермент може бути активізованим пероксидом водню незалежно від диацилгліцерола, шляхом фосфорилування тирозину в каталітичній області. Окисна активація PKC $\alpha$  значно підсилюється вітаміном А та його похідними, які зв'язуються з цинк-кінцевим доменом у консервативній багатій цистеїном регулюючій області. Відомий антиоксидант  $\alpha$ -токоферол (вітамін Е), навпаки інгібує транслокацію PKC у мембрану й фосфорилування її білкового комплексу. Серин/треонінова кіназа cRaf містить аналогічну багату цистеїном область, що зв'язує фосфатидилсерин замість диацилгліцерола. Як і PKC $\alpha$ , cRaf також активізується АФК ретинол-залежним способом [13, 14].

Окрім вищезазначених каскадів у літературі активно обговорюється можлива фізіологічна роль АФК у регуляції Ca<sup>2+</sup>-сигналів. Відомо, що зміни внутрішньоклітинного рівня Ca<sup>2+</sup> задіяні в модуляції кількох внутрішньоклітинних сигнальних шляхів, включаючи PKC- $\alpha$  і кальмомодулін-залежний каскади. Ці сигнальні шляхи також залучені в апоптотичні процеси. АФК-опосередковане зростання внутрішньоклітинного рівня Ca<sup>2+</sup> вносить свій внесок в опосередковану окисним стресом активацію PKC- $\alpha$  і в індукцію регулюючих білків фактору транскрипції AP 1 [2, 8, 15].

АФК-залежне надходження кальцію забезпечується їх здатністю активувати численні трансмембранні іон-транспортні насоси та канали, таким чином впливаючи на трансмембранну сигнальну трансдукцію. Механізм АФК-індукованої активації іон транспортних шляхів включає: окислення сульфгідрильних груп іон-транспортних протеїнів; зміну їх ліпідного оточення внаслідок процесів ПОЛ; інгібування мембранозв'язаних регуляторних ферментів і модифікацію оксидативного фосфорилування та рівня АТФ. АФК збільшують внутрішньоклітинний рівень кальцію у різних типах клітин через мобілізацію внутрішньоклітинних кальцієвих депо й/або через приплив позаклітинного кальцію [2,9].

Супероксид та пероксид водню можуть безпосередньо або опосередковано брати участь у регулюванні вмісту циклічних нуклеотидів (цАМФ та цГМФ) – важливих регуляторних молекул клітини. Показано, що АФК здатні активувати гуанілатциклазу, продукт якої - цГМФ - у свою чергу регулює

активність протеїнкіназ, фосфодіестераз, іонних каналів та інші фізіологічно важливі молекули. Встановлено, що АФК опосередковано здатні опосередковано регулювати синтез цАМФ. Оскільки аденілатциклаза є інтегральним білком плазматичної мембрани, що може також активуватись і комплексом  $Ca^{2+}$ - кальмодулін, АФК через регуляцію рівня  $Ca^{2+}$  здатні впливати на активність цього ферменту. Також можливе АФК-залежне інгібування активності аденілатциклази на рівні блокування проходження сигналу до цього ферменту від рецептора [2, 16].

Сьогодні відомо, що АФК залучені у регуляцію експресії ряду генів. Так,  $H_2O_2$  викликає зростання експресії майже 100 генів (*c-fos*, *стус*, *-jun*, *egr-1*, *JE* ...), та зниження експресії ще ряду. АФК безпосередньо та опосередковано регулюють функціонування MAP-кіназних сигнальних каскадів і, таким чином, є залученими в процеси апоптозу. Через первинні месенджери (TNF- $\alpha$ , інтерлейкін 6 та 2, тощо) при участі ROS процес активації MAP-кіназ здійснюється за рахунок фосфорилування серинового й/або треонінового залишку в активному центрі ферментів. Активовані MAP-кінази переміщуються до ядра, де вони фосфорилують білки-мішені, пов'язані з функціонуванням факторів транскрипції. Оксиданти збільшують активність MAP-кіназ у нейтрофілах, беручи участь у регуляції імунної відповіді організму. Таким чином, оксиданти, збільшуючи активність різних протеїнкіназ, беруть участь у регуляції численних клітинних процесів, таких як клітинна адгезія, проліферація, сигнальна трансдукція, апоптоз і т.д [2, 6, 9, 17].

Сьогодні показано, що АФК є необхідними для активації численних транскрипційних факторів, що беруть участь у експресії генів. Першим виявленим редокс-чутливим фактором транскрипції був NF- $\kappa$ B, який індукуює експресію гена інтерлейкіну 1 $\beta$ , відповідального за численні реакції, в тому числі, запальні процеси, контроль росту та апоптоз. Крім того, через участь NF- $\kappa$ B опосередковується викид інших цитокінів. NF- $\kappa$ B у цитоплазмі перебуває у неактивному стані та складається з 2-х субодиниць (p50 та p65) і інгібіторного білка I $\kappa$ -Ba. Для того, щоб відбулось активування NF- $\kappa$ B та його транслокація до ядра, необхідно, щоб відбулось від'єднання I $\kappa$ -Ba (за участю фосфорилування). Показано, що мікромолярні концентрації  $H_2O_2$  та прооксидантні зміни глутатіонового співвідношення активують NF- $\kappa$ B, тоді як антиоксиданти, навпаки, його інгібують. У основі механізму такої АФК-опосередкованої активації лежить зростання деградації I $\kappa$ -Ba через ROS-опосередковане зростання його фосфорилування. У результаті відбувається дисоціація NF- $\kappa$ B від I $\kappa$ -Ba та транслокація NF- $\kappa$ B до ядра [2, 3, 8].

Таким чином, АФК, синтезовані внутрішньоклітинними системами у відповідь на позаклітинний сигнал, беруть участь у подальшій передачі сигналу у клітині, що їх синтезує. Будь-які сигнальні молекули повинні припинити свою дію по закінченні дії сигналу. У клітині існує ряд механізмів для припинення дії АФК – система антиоксидантного захисту, яка представлена ферментативними й неферментативними компонентами. До ферментативних антиоксидантних систем відносять ферменти, що інактивують вільні радикали і перекиси (СОД, каталаза, глутатіонпероксидаза та інші пероксидази) та відновні ферменти, що відновлюють окислені сполуки (глутатіонредуктаза, глюко-6-фосфатдегідрогеназа та ін.). До неферментативних антиоксидантів відносяться фітонутрієнти; вітаміни С і А, токоферолі ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  і  $\delta$ -сполуки токотрієнолів) каротини, флавоноїди, поліфеноли, мікроелементи, металопротеїни, і інші у тому числі, глутатіон, убіхінон, урати, що підтримують рівновагу між окисленими і відновленими формами кисню. Порушення співвідношення ферментативних компонентів АОЗ може приводити до додаткової генерації АФК й є одним із проявів дихального стресу [1, 6].

На закінчення ми хочемо звернути Вашу увагу, що оскільки АФК беруть участь у регуляції практично всіх метаболічних процесів, включаючи регуляцію експресії генів, їх стали відносити за аналогією із внутрішньоклітинними сигнальними молекулами, які виконують інформаційні функції (сАМР, сGMP, інозитфосфати,  $Ca^{2+}$  й ін.), до категорії вторинних месенджерів. Однак між АФК і класичними вторинними месенжерами є цілий ряд істотних відмінностей. У всіх класичних месенджерів існують білки-мішені, що мають специфічні зв'язуючі центри, при взаємодії з якими регуляторні молекули й здійснюють свою дію за рахунок зміни їх конформації. Швидкість як продукції, так й розпаду істинних месенджерів набагато нижча, ніж швидкість продукції й розпаду АФК, що забезпечує надійну взаємодію ліганду з активним центром мішені. Що стосується АФК, то, завдяки широкій присутності потужних механізмів їхнього перетворення та знешкодження, їхній стаціонарний рівень надзвичайно низький. З огляду на це, а також на те, що вони мають дуже просту структуру, важко уявити наявність специфічних зв'язуючих центрів у біорегуляторних білках, активність яких змінювалась би в результаті зміни «фону» АФК. Якщо ж урахувати, що багато білкових мішеней, чутливих до «фону» АФК, не мають між собою нічого спільного ні в первинній, ні в просторовій структурі, можна передбачити, що механізми регуляторних впливів на вище згадані процеси класичних месенджерів і АФК є різними.

## Література

1. Воейков В. Л. Регуляторные функции активных форм кислорода в крови и в водных модельных системах. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — М., 2003. — 20 с.
2. Thannickal V.J., Fanburg B.L. Reactive oxygen species in cell signaling // Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. - 2000. - V.279, № 6.-P. 1005- 1028.

3. *Hancock J.T., Desikan R., Neill S. J.* Role of reactive oxygen species in cell signalling pathways // *Biochemical Society Transactions.* - 2001. - Vol. 29, part 2. - P.345-349
4. *Thannical V.J., Fanburg B.L.* Activation of an HO-generating NADH oxidase in human fibroblast by transforming growth factor-beta 1 // *J. Biol. Chem.* — 1995. — Vol. 270, №51. — P. 30334—30338.
5. *Зинченко В.П., Долгачева Л.П.* Внутриклеточная сигнализация. - Пушино: Аналитическая микроскопия, 2003. - 328 с.
6. *Залесский В.Н., Великая Н.В.* Механизмы цитотоксических эффектов активных молекул кислорода и развитие апоптоза // *Мед. журн.* - 2003. - №1. - С. 126 – 138.
7. *Camello-Almaraz C., Gomez-Pinilla P.J., Pozo M.J., Camello P.J.* Mitochondrial reactive oxygen species and Ca<sup>2+</sup> signaling // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*- 2006.-Vol.291. - P. 1082 – 1088.
8. *Adli M.* The role of lipid peroxidation and product in cell signaling. - *Sabancı Univ.*, 2002. – 260 p.
9. *Gamaley I. A., Klyubin I. V.* Roles of reactive oxygen species: signaling and regulation of cellular function // *Int. Rev. Cytol.* —1999. — Vol. 188. — P. 203—255.
10. *Wulf D.* Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function // *Physiol. Rev.* – 2002. - Vol. 82. - P. 47-95.
11. *Bac Y. S., Kang S.W., Seo M.S.* Epidermal growth factor (EGF)-induced generation of hydrogen // *J. Biol. Chem.* — 1997. — Vol. 272. — P. 217—221.
12. *Zmijewski J.W., Landar A., Watanabe N. and al.* Cell signalling by oxidized lipids and the role of reactive oxygen species in the endothelium // *Biochem. Soc. Trans.* – 2005.- Vol. 33. - P. 1385–1389.
13. *Safa O., Hensley K., Smirnov M. D.* Lipid oxidation enhances the function of activated protein kinase C // *J. Biol. Chem.* — 2001. — Vol. 276. —P. 1829—1836.
14. *Gopalakrishna R., Jaken S.* Protein kinase C signaling and oxidative stress // *Free Radic. Biol. Med.* — 2000. — Vol. 28. — P. 1349—1361.
15. *Wilson J. M., Brian W.* Lesions and lipids and radicals // *Tex. Heart. Inst. J.* – 2004. - Vol.31, № 2. - P.118–126.
16. *Sée V., Koch B., Loeffler J. P.* C2-ceramide and reactive oxygen species inhibit pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP)-induced cyclic-AMP-dependent signalling pathway // *Journal of Neurochemistry.*- 2001.- Vol. 76, №3. - P. 778.
17. *Rincon V., Flavell R.A., Davis R.A.* The JNK and P 38 MAP kinase signaling pathways in cell-mediated immune responses // *Free Radic. Biol. Med.* — 2000. — Vol. 28. —P. 1328—1337.

Стаття поступила до редакції 16.06.2009 р.;

Стаття прийнята до друку 30.06.2009 р.

**Чайка О. В.** - кандидат біологічних наук, молодший науковий співробітник кафедри біохімії, НДЛ «Фізико-хімічної біології» (Київський національний університет імені Тараса Шевченка, біологічний факультет).

**Остапченко Л. І.** – доктор біологічних наук, професор, зав. кафедри біохімії (Київський національний університет імені Тараса Шевченка, біологічний факультет).

**Долішняк О. І.** – кандидат біологічних наук, доцент (Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника, Коломийський інститут).

**Рецензент:** доктор біологічних наук, професор біології та екології Прикарпатського національного університету імені Василя Стефаника Парпан В. І.