

УДК 577.3

РЕДОКС-ГОМЕОСТАЗ БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ: ТЕОРИЯ И ЭКСПЕРИМЕНТ

С.Н. Черенкевич, д. биол. н., член-корреспондент НАНБ;
Г.Г. Мартинович, к. биол. н.; И.В. Мартинович, Е.Н. Голубева

Белорусский государственный университет, Минск

В работе рассматриваются современные представления о механизмах регуляции редокс-гомеостаза биологических систем. Обсуждаются способы количественного описания редокс-процессов в биологических системах. Показано, что параметры редокс-гомеостаза необходимо рассматривать как регуляторные факторы трансдукции сигналов в клетках.

Ключевые слова: редокс-гомеостаз, редокс-сигнализация, окислительный стресс

Mechanisms of regulation of redox homeostasis of biological systems are analyzed in the present work. Methods of quantitative description of redox phenomena in biological systems are discussed. It has been shown that the redox homeostasis parameters are to be considered as the regulatory factors of signal transduction in cells.

Key words: redox homeostasis, redox signaling, oxidative stress.

На протяжении многих лет в биохимии и медицине доминировала точка зрения об исключительно патогенной роли окислителей, с образованием которых в организме связывали развитие хронических и дегенеративных заболеваний. В то же время, в многочисленных работах, выполненных в течение последних лет, указывается на то, что образование окислителей в организме является неотъемлемым свойством нормальной жизнедеятельности клеток, отсутствие которого может приводить к гибели клеток, также как и чрезмерное образование окислителей в клетке. Показано, что при повышении внутриклеточной концентрации окислителей изменяется активность практически всех классов сигнальных эффекторных белков, участвующих в передаче сигнала от клеточной поверхности к ядру. Активность ряда протеинкиназ, фосфатаз, фосфолипаз, факторов транскрипции, ионных каналов и насосов зависит от внутриклеточной концентрации окислителей и восстановителей.

Редокс-регуляция клеточных процессов рассматривается как один из фундаментальных механизмов регуляции функциональной активности клеток [3, 10]. Согласно современному определению, окислительный стресс – это дисбаланс между окислителями и антиоксидантами в пользу окислителей, ведущий к нарушению редокс-сигнализации и контроля и/или повреждению макромолекул [16]. В клетке функционируют механизмы, в результате работы которых при действии внешних факторов величина отношения между внутриклеточными концентрациями доноров и акцепторов электронов (или восстановителями и окислителями) изменяется только в определенных пределах, т.е. поддерживается редокс-гомеостаз [4]. Сохранение параметров редокс-гомеостаза является жизненно необходимым как для отдельных клеток и органелл, так и для организма в целом.

Изменения параметров редокс-гомеостаза клеток наблюдаются при активации клеток к проли-

ферации, дифференцировке и апоптозу и могут запускаться в результате использования как прооксидантных, так и антиоксидантных лекарственных препаратов. При этом следует отметить, что эффект действия (регуляторный или токсический) прооксидантных и антиоксидантных препаратов зависит от редокс-состояния клеток и тканей.

Многочисленными исследованиями последних лет установлены сложность и многообразие процессов с участием редокс-молекул, что привело к необходимости пересмотра методов анализа и характеристики редокс-свойств тканей и клеток. Несмотря на то, что термин «редокс-состояние» в настоящее время широко используется в свободно-радикальной биологии и медицине, однозначного представления о редокс-состоянии клеток, его количественных характеристиках и методах их измерения до сих пор нет. Для количественной характеристики редокс-состояния клеток и внутриклеточных структур широкое использование получил такой параметр, как редокс-потенциал глутатиона [11]. Определение редокс-потенциала глутатиона осуществляется путем измерения концентрации окисленного (GSSG) и восстановленного глутатиона (GSH) с применением высокоэффективной жидкостной хроматографии и последующего вычисления редокс-потенциала глутатиона по формуле Нернста. Однако глутатион не всегда является основным антиоксидантом в биологической среде. При этом изменения редокс-состояния среды не всегда сопровождаются изменением величины редокс-потенциала глутатиона. Следует также отметить, что величины концентрации GSH и GSSG могут быть модифицированы в течение процедуры изоляции клеток из-за окисления GSH. Таким образом, количественная характеристика редокс-состояния с использованием редокс-потенциала только одной редокс-пары недостаточно адекватно отображает окислительно-восстановительный баланс в тканях и его изменение при окислитель-

ном стрессе и может приводить к противоречивым выводам относительно величины и направления изменений редокс-состояния клеток [6].

При оценке редокс-состояния в биологических системах важно учитывать концентрацию не одного восстановителя, а ряда восстановителей, концентрации которых преобладают в данной среде. Для количественной характеристики редокс-состояния клетки нами теоретически и экспериментально обоснованы новые физико-химические параметры – «эффективный редокс-потенциал» и «редокс-буферная емкость» [4, 13]. Величина эффективного редокс-потенциала используется для характеристики «суммарной» способности многокомпонентной внутриклеточной среды в стандартных условиях отдавать или принимать электроны и позволяет определить преимущественное направление переноса электронов между компонентами среды. Редокс-буферная емкость среды характеризует способность среды противодействовать изменению величины эффективного редокс-потенциала при изменении концентрации окислителей или восстановителей.

В различных тканях концентрации восстановителей и окислителей существенно различаются. Следствием этого являются различия в величинах эффективного редокс-потенциала и редокс-буферной емкости. Окислитель (или восстановитель) при одинаковых по величине концентрациях вызывает различные по величине смещения редокс-потенциала в разных типах клеток. Поэтому в разных типах клеток редокс-молекулы будут активировать различные типы белков. Таким образом, внутриклеточное редокс-состояние можно рассматривать как своего рода преобразователь («трансдьюсер»), регулирующий передачу сигналов на различные внутриклеточные эффекторы. Сенсорные системы внутри клеток чувствительны к изменениям параметров внутриклеточного редокс-состояния и с помощью белков-посредников формируют функциональный клеточный ответ.

На основании существующих данных нами предположено, что в клетках существуют два типа редокс-сенсоров [3]. Редокс-сенсоры первого типа только регистрируют сигнал и затем передает его на специальный преобразователь, сенсоры второго типа совмещают в себе функции сенсора и преобразователя. При этом различные типы окислителей и восстановителей следует рассматривать как новые типы вторичных мессенджеров (редокс-мессенджеры) – мессенджеры, переносящие электроны. В рамках развиваемых нами представлений заключено, что синтез и функционирование редокс-мессенджеров представляет собой новый способ трансдукции, записи и считывания информации в клетках.

На основании имеющиеся данных нами установлено, что функциональная активность клеток

определяется величинами их параметров редокс-гомеостаза. С использованием разработанного нами метода измерения эффективного редокс-потенциала и редокс-буферной емкости [2] показано, что величины указанных параметров существенно различаются в клетках одного типа в норме и при таких патологиях, как рак, острый коронарный синдром и диабет. Например, в эритроцитах больных сахарным диабетом и больных, страдающих острым коронарным синдромом, редокс-буферная емкость снижена на 30-40%, по сравнению с редокс-буферной емкостью эритроцитов здоровых доноров. Однако в эритроцитах больных сахарным диабетом величина эффективного редокс-потенциала выше, чем в эритроцитах больных, страдающих острым коронарным синдромом [2]. Таким образом, параметры редокс-состояния являются также индикаторами окислительных нарушений в клетках при разных патологиях.

Использование новых теоретических подходов при изучении редокс-процессов в клетках позволяет не только описывать механизмы действия окислителей и восстановителей, но и предсказывать тип функционального ответа клеток, индуцируемого этими агентами. Данный подход использован для описания механизмов действия пероксида водорода и аскорбиновой кислоты на кальциевый гомеостаз различных типов клеток.

Регуляция внутриклеточной концентрации несвязанного кальция представляет один из способов передачи внеклеточных сигналов на внутриклеточные эффекторы [7, 9]. Показано, что пероксид водорода индуцирует длительное увеличение внутриклеточной концентрации несвязанного кальция во многих типах клеток, включая нейтрофилы [12], мезенхимальные клетки [14], гладко-мышечные клетки кишечника [7], остециты [15] и другие [1]. Однако величина изменения внутриклеточной концентрации несвязанного кальция при действии пероксида водорода зависит от типа клеток. Нами определено, что изменения кальциевого гомеостаза при действии окислителей опосредованы изменением параметров редокс-состояния клетки. Редокс-молекулы в концентрациях, приводящих к изменению редокс-гомеостаза, способны вызывать изменения кальциевого гомеостаза. Показано, что повышение внутриклеточной концентрации несвязанных ионов кальция, кроме пероксида водорода, может быть также индуцировано аскорбиновой кислотой. Величина изменения внутриклеточной концентрации несвязанного кальция при действии аскорбиновой кислоты также зависит от типа клеток.

Одинаковые по величине изменения эффективного редокс-потенциала, индуцируемые различными агентами, сопровождаются одинаковыми по величине изменениями внутриклеточной концентрации несвязанного кальция. С другой стороны, в

одних и тех же типах клеток с разной редокс-буферной емкостью, одинаковые редокс-молекулы могут вызывать разные по величине изменения внутриклеточной концентрации кальция. Например, показано, что инкубирование эпителиальных клеток линии FL с восстановленным глутатионом приводит к увеличению редокс-буферной емкости клеток. В клетках с повышенной концентрацией внутриклеточной концентрации глутатиона наблюдаемое изменение эффективного редокс-потенциала и, следовательно, выход кальция при действии H_2O_2 значительно меньше, чем в клетках без дополнительной загрузки глутатионом [5].

Также теоретически и экспериментально обоснована взаимосвязь параметров гомеостаза, характеризующих кислотно-основное и редокс-состояния клеток. Обнаружено, что величина параметров редокс-состояния в клетках зависит от внеклеточной и внутриклеточной концентрации ионов водорода. Показано, что пероксид водорода и аскорбиновая кислота индуцируют дозозависимое снижение величины внутриклеточного рН.

Таким образом, при определенных концентрациях ионы водорода участвуют в регуляции редокс-процессов в клетках. Сдвиги в величине внутриклеточного рН могут индуцировать усиление окислительного (восстановительного) стресса. В свою очередь, нарушения редокс-гомеостаза могут инициировать сдвиги величины внутриклеточного рН.

Анализ литературных и собственных данных указывает на то, что функционирование клеток зависит от величины параметров редокс-состояния внутриклеточной среды. При функционировании клеток параметры редокс-состояния могут изменяться в определенном для данного клеточного типа диапазоне значений. Выход значений параметров редокс-состояния за пределы данного диапазона вызывает нарушение «редокс-гомеостаза» и ведет к гибели клеток. Таким образом, к основным составляющим клеточного гомеостаза, включающим мембранный потенциал покоя, ионный гомеостаз, объемный гомеостаз и рН гомеостаз, следует также относить редокс-гомеостаз.

Литература

1. Мартинович Г.Г., Черенкевич С.Н., Денисов А.А., Молчанов П.Г., Глеб С.П. Модификация кальциевого гомеостаза в модель-

ных клетках С6 и PC12 при окислительном стрессе // Весці НАН Беларусі. Сер. мед.-біял. навук. – 2002. – № 4. – С. 70-76.

2. Мартинович Г.Г., Мартинович И.В., Черенкевич С.Н. Количественная характеристика редокс-состояния эритроцитов // Биофизика. – 2008, – Т. 53. – С. 618-623.

3. Мартинович Г.Г., Черенкевич С.Н. Окислительно-восстановительные процессы в клетках. – Мн.: БГУ, 2008. – 159 с.

4. Мартинович Г.Г., Черенкевич С.Н. Редокс-гомеостаз клеток / / Успехи физиологических наук. – 2008. – Т. 39, № 3. – С.29-44.

5. Черенкевич С.Н., Мартинович Г.Г. Активные формы кислорода и регуляция клеточных функций // Вестн. ГрГУ им. Я. Купалы. Серия 2. – 2008. – №1. – С. 109-117.

6. Attene-Ramos M., Kitiphongspattana K., Ishii-Schrade K., Gaskins H. Temporal changes of multiple redox couples from proliferation to growth arrest in IEC-6 intestinal epithelial cells // Am. J. Physiol. Cell. Physiol., – 2005. – Vol. 289. – P. C1220–C1228.

7. Berridge M., Bootman M., Roderick H. Calcium signalling: dynamics, homeostasis and remodelling // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. – 2003. – Vol. 4. – P. 517–529.

8. Bielefeldt K., Whiteis C., Sharma R., Abboud F., Conklin J. Reactive oxygen species and calcium homeostasis in cultured human intestinal smooth muscle cells // Am. J. Physiol. – 1997. – Vol. 272. – P. G1439- G1450.

9. Carafoli E., Santella L., Branca D., Brini M. Generation, control, and processing of cellular calcium signals // Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol. – 2001. – Vol. 36. – P. 107–260.

10. Janssen-Heininger Y.M., Mossman B.T., Heintz N.H., Forman H.J., Kalyanaraman B., Finkel T., Stamler J.S., Rhee S.G., Van der Vliet A. Redox-based regulation of signal transduction: Principles, pitfalls, and promises // Free Rad. Biol. Med. – 2008. – Vol. 45, P. 1–17.

11. Jones D.P. Redox potential of GSH/GSSG couple: assay and biological significance // Methods Enzymol. – 2002. – Vol. 348. – P. 93–112.

12. Giambelluca M.S., Gende O.A. Hydrogen peroxide activates calcium influx in human neutrophils // Mol. Cell. Biochem. – 2008. – Vol. 309, P. 151–156.

13. Martinovich G.G., Cherenkevich S.N., Sauer H. Intracellular redox state: towards quantitative description // Eur. Biophys. J. – 2005. – Vol. 34, –P. 937–942.

14. Meyer T., Gloy J., Hug M., Greger R., Schollmeyer P., Pavenstadt H. Hydrogen peroxide increases the intracellular calcium activity in rat mesangial cells in primary culture // Kidney Int. – 1996. – Vol. 49. – P. 388-395.

15. Nam S., Jung S., Yoo C., Ahn E., Suh C. H₂O₂ enhances Ca²⁺ release from osteoblast internal stores // Yonsei Med. J. – 2002. – Vol. 43, №3. – P.229-235.

16. Sies H., Jones D.P. Oxidative stress. – Elsevier, San Diego, 2007.

Поступила 08.04.09

Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований, грант №Б08-056.