

ОГЛЯДИ

УДК 612.273.2 + 541.515

Т. В. Серебровська, О. С. Сафронова, С. К. Гордій

Вільнорадикальні процеси за умов різного кисневого постачання організму

В клетке в процессе жизнедеятельности имеет место активное образование перекиси водорода, супероксидного аниона и некоторых других активных форм кислорода. Поскольку все процессы свободнорадикального окисления являются кислородзависимыми, возникает вопрос, какие изменения в системе про- и антиоксидантов происходят в условиях измененного кислородного обеспечения тканей. Если при гипероксии однозначно наблюдается повышение образования активных форм кислорода, то различные гипоксические условия неоднозначно влияют на свободнорадикальные процессы в тканях. Обращается внимание на три основных фактора, имеющих отношение к уровню продукции активных форм кислорода, а именно: скорость нарастания гипоксии, степень гипоксии и время экспозиции в гипоксических условиях. Рассматривается гипотеза об участии перекиси водорода в процессах хеморецепции кислорода.

Нині є актуальним вивчення процесів вільнорадикального окислення в організмі та шляхів його регуляції. Найбільш важливі з активних форм кисню (АФК) – супероксидний аніон-радикал (O_2^-), синглетний кисень ($^1\text{O}_2$), гідроксильний радикал (OH^\cdot), а також перекис водню (H_2O_2) та аніон гіпохлориту (OCl^-) – нормальні продукти життєдіяльності клітини і можуть розглядатись як метаболіти, що беруть участь у реалізації різноманітних фізіологічних функцій і залучаються у киснезалежні процеси в клітині [5, 8]. Однак внаслідок своєї високої реакційної здатності, проміжні продукти відновлення кисню можуть призводити до ураження клітин, викликаючи окислення біомолекул та ініціюючи ланцюгові процеси перекисного окислення в мембранних ліпідах, що надає особливого значення вивченню їх ролі у життєдіяльності клітини та при розвитку різноманітних патологій.

Джерела вільнорадикальних продуктів у клітинах. Основним джерелом супероксидного радикала та його стехіометричного продукту H_2O_2 є автоокислення відновлених компонентів мітохондріального електронтранспортного ланцюга. Зазвичай в клітинах відбувається двохелектронне відновлення кисню до води, але існує принаймні дві ділянки, на яких електрони можуть втрачатися дихальним ланцюгом і частково відновлювати кисень. Одна локалізована на рівні НАДН-дегідрогенази [85], друга безпосередньо пов'язана з компонентами, що мають потенціал, близький до 0 (сукцинатдегідрогеназа, убіхінон, цитохром b) [24, 88].

© Т. В. Серебровська, О. С. Сафронова, С. К. Гордій

Інтенсивність продукування перекису водню у мітохондріях визначається мірою відновлення дихальних переносників і є максимальною у контрольованому стані 4, тобто за умов відсутності акцептора фосфату. При цьому на утворення H_2O_2 витрачається 2–4% від загального споживання кисню дихальним ланцюгом [27].

Ще одним істотним джерелом активних форм кисню є активована НАДФН-оксидаза фагоцитуючих клітин, які використовують підвищену генерацію перекису водню та вільних радикалів як механізм природного біологічного захисту. Процес стимуляції сегментоядерних лейкоцитів і макрофагів супроводжується специфічним «дихальним спалахом», нечутливим до ціаніду, за умов якого спостерігається збільшення споживання кисню та метаболізму глюкози, що відображає активацію гексозомонофосфатного шунта [16, 54, 67]. Невелику кількість супероксидного радикала та перекису водню продукують ферменти цитозолу ксантинооксидаза та альдегідоксидаза [21, 43]. Кисневі радикали можуть також утворюватись у реакціях автоокислення феридоксинів і гемопротейнів [65, 69, 80]. Виділення перекису водню відбувається також у процесі окисного дезамінування моноамінів, у тому числі таких біологічно активних, як норадреналін, адреналін, дофамін і серотонін. Цей процес каталізується системою ферментів, відомих під загальною назвою моноаміноксидаза, що локалізована на зовнішній мембрані мітохондрій [48].

Слід відмітити, що супероксидний радикал залучається до стадії ініціації перекисного окислення ліпідів (ПОЛ). За умов його гіперпродукції, відновлення феритинзв'язаного Fe^{3+} до Fe^{2+} за допомогою $\cdot O_2^-$ призводить до переходу заліза від зв'язаного стану у вільний [17, 18]. Таке залізо здатне каталізувати реакцію Фентона, в результаті якої відбувається утворення одного з найбільш потужних оксидантів — гідроксильного радикала [41]. Внаслідок свого сильного окисного потенціалу $\cdot OH$ може атакувати структурні макромолекули [58] і бути причиною розриву ДНК [50], ініціювати вільнорадикальну ланцюгову реакцію ПОЛ, що призводить до втрати належної структури та функції мембрани. Вільне залізо є ще і причиною відновного лізису кисень-кисневого зв'язку в молекулі гідроперекису ліпідів, що дає вихід ліпідному алкоксильному радикалу ($LO\cdot$), який є ініціюючим радикалом для ПОЛ.



Перекис водню, супероксидний радикал та інші метаболіти кисню — нормальні продукти життєдіяльності клітини. Однак внаслідок високої токсичності АФК, в організмі існує система регулювання їх вмісту. Концентрація цих продуктів знаходиться під біохімічним контролем, а також модулюється постачанням субстратів та кисню.

Субстрати, що нейтралізують потенційно небезпечний ефект вільних радикалів, групуються [34] до так званої системи антиоксидантного захисту: 1) антиоксидантні сполуки неферментативної природи — вітаміни А, Е та С, глутатіон і сечова кислота і 2) антиоксидантні ферменти, такі як супероксиддисмутаза (СОД), каталаза та пероксидази. Таким чином, вміст окисних процесів в організмі є результатом взаємодії двох різноспрямованих про-

цесів: утворення вільнорадикальних продуктів та елімінація їх надмірного вмісту системою антиоксидантного захисту.

Гіперпродукція вільних радикалів при гіпероксії та гіпербарії. З підвищенням парціального тиску кисню збільшується відновлення компонентів дихального ланцюга та, як наслідок, збільшується продукування вільних радикалів внутрішньоклітинними системами [86, 87], з наявністю яких традиційно пов'язується токсичність кисню [13]. При цьому спостерігається майже лінійна залежність утворення $\cdot\text{O}_2^-$ від рівня $p\text{O}_2$ у мітохондріях [20]. У той же час у мікросомах вміст H_2O_2 практично не змінюється за гіпербаричних умов [22]. Поява надмірної кількості вільних радикалів при $p\text{O}_2$ більше ніж 2 атм створює умови для зменшення співвідношення НАДФН/НАДФ⁺ у клітині, звільнення окисленого глутатіону та активації ПОЛ, що призводить до низки вторинних змін, які виводять з ладу основні функціональні показники життєдіяльності клітини. Як показано на культурі фібробластів хом'ячка, хронічна гіпероксія (95% O_2 , 15 міс) спричинює до збільшення метаболізму 4-гідрокси-2-ноненалу, токсичного продукту ПОЛ. На цьому фоні спостерігається збільшення вмісту сумарного глутатіону та активності глутатіон-S-трансферази та глутатіонпероксидази. Передбачається, що ферментативна утилізація НАДФН цією системою бере участь у механізмах утилізації альдегідних побічних продуктів ПОЛ [84]. Перебування тварин за гіпербаричних і гіпероксичних умов також збільшує вміст та активність ферментів антиоксидантного захисту, таких, як каталаза, Mn-СОД, Zn, Cu-СОД [28, 68, 84]

Пролонгована нормобарична гіпероксія внаслідок підвищення концентрації кисневих вільних радикалів негативно впливає на систему регуляції дихання, призводить до специфічного ослаблення кисневої хеморецепції у каротидному тілі. При цьому каротидні хеморецепторні відповіді на гіпоксію та ціанід послаблюються, а на гіперкапнію збільшуються [64]. Разом з тим реакція аортальних хеморецепторів на гіпоксичний, гіперкапнічний стимули дихання, а також на ціанід і нікотин залишається однаковою в контрольних тварин і тварин, що зазнали впливу гіпероксії [64]. Ймовірно, аортальні тіла, що мають меншу капіляризацію і, в зв'язку з цим, менше постачання кисню порівняно з каротидними, меншою мірою піддаються вільнорадикальній атаці, що виникає при високому вмісті кисню. Таким чином, добре відомий токсичний ефект високих концентрацій кисню, що проявляється як на клітинному, так і на організменному рівні, значною мірою опосередкований вільнорадикальними формами його метаболізму.

Вільнорадикальні процеси при гострій гіпоксії та адаптації до гіпоксії. Незважаючи на те, що фізіологічні зміни, які спостерігаються при адаптації до дефіциту кисню, досліджені досить добре, дані, що стосуються ролі прота антиоксидантних процесів, досить неоднорідні. Оскільки за умов гіпероксії однозначно спостерігається підвищення вільнорадикального окислення, можна очікувати, що гіпоксія буде знижувати утворення АФК [28]. Це дійсно буває в деяких випадках. Наприклад, при зменшенні $p\text{O}_2$ знижується утворення $\cdot\text{O}_2^-$ та H_2O_2 оксидазами чи автоокисленням компонентів електронтранспортних ланцюгів [42, 51]. Однак при відсутності кисню як акцептора електронів, компоненти клітини стають більш відновними та можуть

передавати електрони прямо на кисень чи на низькомолекулярні посередники, що ініціюють вільнорадикальні процеси [51]. Таким чином, гіпоксія за певних умов здатна посилювати ПОЛ та інші вільнорадикальні реакції, активуючи кисень до АФК [36]. Більше того, біологічні зміни при гострій гіпоксії можна розглядати як відновний стрес, що робить клітини особливо чутливими до оксидативного пошкодження [36, 51]. У роботі Khan та O'Brien [53] показана здатність гіпоксії стимулювати внутрішньоклітинне виділення вільного заліза. Враховуючи, що збільшення рівня НАДН/НАД⁺ за умов дефіциту кисню само собою може також сприяти збільшенню внутрішньоклітинного виділення заліза, логічно передбачити активацію ПОЛ. Дійсно, у мозку, аорті та сироватці крові щурів, які перебували під впливом гострої чи короткочасної гіпоксії, збільшений рівень ПОЛ [55, 63, 91].

Аналіз сучасних літературних даних наводить на думку про те, що різні гіпоксичні умови неоднозначно впливають на вільнорадикальні процеси, котрі відбуваються в тканинах. Слід звернути увагу на три основні фактори, які мають відношення до рівня продукції АФК, а саме: швидкість наростання гіпоксії, ступінь гіпоксії та час експозиції за гіпоксичних умов.

При нормоксії максимальне значення pO_2 in vivo реєструється в легенях та в магістральних артеріях і становить близько 100 мм рт.ст. Однак у більшості тканин pO_2 значно нижчий. Для печінки, наприклад, характерні коливання pO_2 від 1 до 60 мм рт.ст, з середнім значенням 20 мм.рт.ст. [35, 52]. Вплив помірної гіпоксії спочатку призводитиме до зниження продукції АФК. Методом люміноліндукованої хемілюмінесценції зареєстровано зниження АФК в ізольованих легенях щурів за умов зниження перфузійного pO_2 від 140 до 40 мм рт.ст [15]. Під час подальшого зниження парціального тиску кисню реакція прооксидантної системи стає прямо протилежною. У випадку ПОЛ, індукованого галогенними алканами, спостерігається збільшення утворення АФК при зниженні pO_2 між 1 та 10 мм рт. ст [37, 38]. Аноксичний стрес також викликає збільшення кількості вільнорадикальних форм кисню, що передують гіпоксичній смерті клітин у культурі. Аналогічні результати були отримані на нейронах новонароджених щурів методами специфічного відновлення ацетилцитохрому С [33] і забарвленням нітросинім тетразолієм [75]. Таким чином, залежно від рівня гіпоксії, зниження pO_2 може впливати на вільнорадикальне ушкодження клітин як запобігаючи, так і сприяючи активації кисню до вільнорадикальної форми.

Нині актуальною є проблема адаптації до **хронічної гіпоксії**, впливу якої піддаються організми за умов високогір'я, а також при хронічних легеневих і серцевих захворюваннях. Існує думка, що основні симптоми гірської хвороби можуть опосередковуватися вільними радикалами кисню [74]. Успішне застосування в цих випадках неферментативних антиоксидантів, наприклад таких, як кортикостероїди та манітол, є непрямим підтвердженням даного припущення. В дослідженнях Озереденко з співавт. [4] показано посилення ПОЛ у плазмі крові щурів наприкінці 30-добового перебування на висоті 3 200 м над рівнем моря. Однак дослідження, що були проведені на висоті 2 100 м над рівнем моря, показали протилежні результати [2]. Після місячного строку адаптації до цієї висоти концентрація продуктів, що реагують з тіобарбітуровою кислотою (ТБКП), зменшувалась у серці, печінці та

мозку щурів, при цьому спостерігалось зниження активності СОД і каталази. Часткова втрата антиоксидантної активності, на думку авторів, відбулася за принципом «атрофія від бездії». У зниженні рівня окисних процесів відіграє роль і зменшення активності ферментів, що відповідають за киснезалежні механізми бактерицидності нейтрофілів, НАДФН-оксидази та мієлопероксидази, що спостерігається за умов 25-добового перебування на висоті 2 100 м [78].

Не вирішують проблеми і експерименти з використанням **барокамери** для моделювання умов високогір'я. Зниження продукції вільних радикалів реєструвалось у печінці щурів, які протягом двох місяців перебували під впливом гіпобаричної гіпоксії, яка відповідала висоті 4 400 м [31]. З іншого боку, показано, що пролонгована експозиція щурів на висоті 5 500 м є причиною значного посилення ПОЛ у сироватці крові, серці, печінці та нирках щурів [66]. Подібні дані, отримані раніше Yoshikawa та співавт. [91], свідчать про збільшення оксидативного стресу.

Зміни активності антиоксидантних ферментів за умов хронічної гіпоксії проявляють високу тканинну специфічність та, за даними деяких авторів, є неоднаковими в різних органах. Наприклад, наприкінці 21-добової адаптації до умов високогір'я в барокамері, що відповідають 5 500 м, активність Mn-СОД та глутатіонпероксидази (ГПО) підвищується в сироватці та серці щурів, тоді як у печінці спостерігається її зниження [66]. Очевидно, зміни активності антиоксидантів наступають після посилення ПОЛ і спрямовані на припинення активації вільнорадикальних процесів. Звідси, збільшення активності ГПО та каталази в серці і легенях, що відбувається паралельно зі збільшенням ПОЛ, свідчить про більшу резистентність цих органів до оксидативного стресу, що продукується гіпобаричною гіпоксією, порівняно, наприклад, з гладенькими м'язами стінки шлунка. З іншого боку, зниження активності Mn-СОД, каталази та ГПО в печінці доводить, що цей орган найбільш уразливий до дії вільних радикалів [66]. Разом з тим в роботах Kretzschmar та співавт. [55] та Yoshikawa та співавт. [91] наведені дані про відносну резистентність печінки до гіпоксичного стресу та ішемії, яку автори пояснюють високою потужністю антиоксидантних механізмів гепатоцитів.

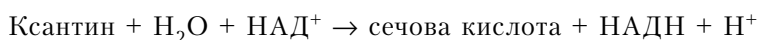
Інтерпретуючи результати дослідження процесів адаптації до хронічної гіпоксії з використанням барокамери, необхідно враховувати наступне. Протягом усього строку дії гіпобарії умови експерименту переривались: кілька разів на тиждень для годування тварин, зміни води та прибирання кліток [31]. За цей період відбувалася реоксигенація, яка викликала спалах продукції АФК, і зареєстровані коливання активності антиоксидантних ферментів та концентрації ТБКП могли відповідати цим періодам. Від моменту взяття тварин з барокамери і до забору тканин для аналізу також необхідний певний час, коли досліджувані матеріали піддавалися реоксигенації, що могло вносити похибку в результати експерименту.

Таким чином, суперечливість літературних даних можна пояснити різною тканинною та видовою специфічністю, різними умовами експерименту та тривалістю гіпоксичного впливу.

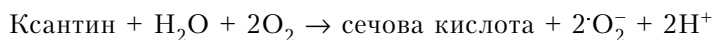
Продукція активних форм кисню в умовах реоксигенації тканин, які попередньо перебували під впливом гіпоксії. Нині є актуальною проблема

реперфузійного чи, більш точно, реоксигенаційного ушкодження, якого зазнають практично всі постішемичні тканини, включаючи тканини трансплантованих органів, а також тканини, що з будь-яких причин піддавалися дії аноксії. На основі експериментів як за умов *in vivo*, так і проведених на ізольованих органах і культурах клітин, можна зробити висновок, що процес цей значною мірою опосередкований вільними радикалами [44, 62, 82]. Безсумнівним підтвердженням даного припущення є протекторна дія таких антиоксидантних ферментів, як СОД, каталаза та ГПО, які вводились у перфузійне середовище безпосередньо перед реоксигенацією [62, 73, 76]. Найбільш повно розвиток оксидативного стресу при ішемії та реперфузійному ушкодженні досліджений на міокарді [3, 56, 61]. Згадаємо кілька основних механізмів, за допомогою яких реоксигеновані тканини здатні продукувати супероксидний радикал. Це система ксантин – ксантинооксидази, синтез простагландинів і дихальний ланцюг мітохондрій [47].

На клітинному рівні гіпоксія та ішемія супроводжуються швидким гідролізом внутрішньоклітинних джерел енергії, таких як креатин фосфат та АТФ. Продукти такого перетворення – гіпоксантин та ксантин – елімінуються *in vivo* дією ферменту ксантинооксидаза, який представлений двома ізоформами та локалізований в ендотелії судин, серці, легенях, кишечнику, печінці та нирках. За умов нормоксії домінуючою є дегідрогеназна ізоформа, що каталізує перетворення ксантину до сечової кислоти, відновлюючи при цьому НАД⁺ до НАДН [59].



При гіпоксії виснажується внутрішньоклітинний пул АТФ, необхідний для підтримання іонного градієнта через мембрану, та, внаслідок зміни рівня Ca²⁺, збільшується активність кальпаїнів та кальційзалежних протеаз [83]. Усе це сприяє перетворенню ксантиндегідрогенази у ксантинооксидазу. Значення такого перетворення не з'ясовано, однак у більшості тканин відбувається дво-десятиразове збільшення оксидазної фракції як результат сульфгідрильного окислення чи обмеженого протеолізу [39; 70]. При реоксигенації ксантинооксидаза каталізує деградацію ксантину до сечової кислоти, використовуючи молекулярний кисень замість НАД⁺ і продукуючи супероксидний радикал [26, 39, 83]



Існує велика тканинна та видова мінливість у вмісті ксантиндегідрогенази/ксантинооксидази. Наприклад, вміст цього ферменту в серці щурів та собак на декілька порядків вище, ніж у тому ж органі кішки, свині чи людини [40, 45, 70], а кишечник і нирки людини містять більшу кількість ксантинооксидази, ніж серце [70].

Експерименти із застосуванням аллопуринолу, інгібітора ксантинооксидази, показали, що він захищає серце кролика від реоксигенаційного ушкодження, на відміну від захисної дії СОД. Цей факт передбачає існування незалежного від ксантинооксидази механізму супероксидної продукції, який найбільш імовірно є результатом ішемичного ушкодження мітохондрій [89]. Дані різних дослідників узгоджуються з наступним припущенням: під час

ішемії виникає внутрішньоклітинний енергетичний дефіцит, що порушує цитоплазматичну концентрацію іонів таких, як Na та Ca. При реоксигенації мітохондрій єдиною органелою, яка може нівелювати зміни цитоплазматичного Ca^{2+} за допомогою електронтранспортного процесу під час якого споживаються кисень (низька концентрація АТФ робить інші АТФ-залежні транспортні системи недіючими). Перевантаження мітохондрій кальцієм активує фосфоліпазу A_2 , що призводить до підвищення вмісту вільних жирних кислот і роз'єднування окислення та фосфорилування, а також до інгібування зв'язку між комплексами I та III у дихальному ланцюгу. Як наслідок збільшується міра відновності НАДН-дегідрогенази, яка за таких умов здатна переносить електрони прямо на кисень, генеруючи $\cdot O_2^-$ [89].

Слід зазначити, що *in vivo* ішемія / реперфузійне ушкодження незмінно включає до себе наступний запальний процес [60], проте вільних радикалів, що утворюються ксантиноксидазою та мітохондріями може бути недостатньо, щоб самостійно призвести до масивних клітинних ушкоджень. Поясненням даного явища може служити ініціювання інфільтрації нейтрофілів внаслідок активації супероксидзалежного хемоатрактанта [71]. Останній ще більше активується першою «хвилею» нейтрофілів і, таким чином, генерується відповідно більший вміст супероксиду. Беручи до уваги усе вищевикладене, можна легко пояснити пригнічення постішемичного ушкодження за допомогою засобів, що зменшують лейкоцитарну інфільтрацію, в тому числі антинейтрофільного фільтра [19; 46].

Вплив періодичної гіпоксії на процеси перекисного окислення ліпідів. Особливої уваги заслуговує метод періодичної гіпоксії, який застосовується для профілактики та лікування різноманітних захворювань. Основна відмінність між безперервною високогірною та періодичною гіпо- та нормобаричною гіпоксією в тому, що, за аналогією з процесами реперфузії, які описані вище, при періодичній гіпоксії також існують періоди реоксигенації внаслідок повернення до нормального вмісту кисню у оточуючому середовищі після кожного гіпоксичного впливу. Повторні сеанси реоксигенації і, отже, активації ПОЛ можуть призводити до вироблення захисних механізмів, які запобігають такій активації вільнорадикальних процесів. Показано, що періодичні гіпоксичні тренування запобігають активації вільнорадикального окислення, яке спостерігається при запальних захворюваннях і стресі [1, 7, 9]. Були отримані дані, які свідчать про зниження рівня спонтанної та ініційованої хемілюмінесценції у сироватці крові, а також про зниження концентрації малонового діальдегіду в результаті гіпоксітерапії [10, 79]. При цьому зміни вільнорадикальних процесів корелювали з характером вентиляційної відповіді на гіпоксичний стимул. Інші дослідження не показали прямого впливу періодичної гіпоксії на вміст продуктів ПОЛ [6, 9], однак спостерігалось підвищення лабільності систем активації та гальмування ПОЛ [1]. Внаслідок багаторазового впливу гіпоксії та помірної реоксигенації, яка проковує активацію ПОЛ, процес цей може ефективно компенсуватися збільшенням активності антиоксидантної системи, що не спостерігається за умов адаптації до безперервної гіпоксії [2]. Збільшення стійкості до індукції ПОЛ може бути також зумовлене зменшенням вмісту ненасичених жирних кислот у ліпідному бішарі мембран чи іншими його структурними перебудовами [7].

Можлива участь вільних радикалів в процесах хеморецепції кисню. Відома достатньо велика кількість фізіологічних процесів, у яких вільні радикали або індуковані ними продукти окислення виконують роль кінцевих або проміжних месенджерів. До них відносяться: модуляція апоптозу [23, 81]; кілерна активність макрофагів, яка супроводжується «дихальним спалахом» [25]; регуляція тону м'язової мускулатури; проліферація та диференціювання клітин [65]; регуляція проникності різних каналів у біомембранах [77]; а також хеморецепція кисню. Механізми хеморецепції у каротидному тілі, що призводять до зміни імпульсації у каротидному синусовому нерві, все ще остаточно не з'ясовані. Останнім часом у літературі обговорюються дві точки зору на сигнальні зміни, що спричиняють зміни в іонній провідності мембрани та передбачають участь вільнорадикальних продуктів. Згідно з однією гіпотезою, за умов гіпоксії спостерігаються зміни продукції NO у каротидному тілі [49]. Зниження pO_2 буде призводити до зниження продукції NO внаслідок pO_2 -залежної NO-синтазної активності і, таким чином, до зміни концентрації цГМФ. Оскільки останній регулює внутріклітинну концентрацію Ca^{2+} як елемент негативного зворотного зв'язку, такі зміни можуть збільшувати хемосенсорну імпульсацію [30, 72].

Автори іншої гіпотези [11, 12, 32] припустили, що цитохром b_{558} у складі НАДФН-оксидази є первинним сенсором гіпоксії. Згідно з цією моделлю, НАДФН-оксидаза опосередковує продукцію H_2O_2 , яка буде знижуватись при гіпоксії. Знижена продукція H_2O_2 призводить до зміни співвідношення відновленого та окисленого глутатіону, що, в свою чергу, буде знижувати кількість калієвих каналів у відкритому стані та деполяризувати клітину, таким чином збільшуючи хемосенсорну імпульсацію. Можлива участь цитохрому b_{558} як кисневого сенсора була описана також у роботі Maly та Schurer – Maly [57]. На участь перекису водню у рецепції pO_2 також вказувалось у двох інших системах, а саме в гіпоксичній вазоконстрикції легених судин [14, 29] і в продукції еритропоєтину в клітинах нирок [90].

Висновок

Аналіз даних, які стосуються проблеми впливу різного кисневого забезпечення організму на систему про- та антиоксидантів, дозволяє частково відповісти на питання, яким чином гіпоксичні умови впливають на процеси продукції вільних радикалів. Рівень цієї продукції не тільки є специфічним у різних тканинах, але і залежить від швидкості наростання гіпоксії, ступеня гіпоксії та часу експозиції за гіпоксичних умов. Розв'язання поставленої проблеми вимагає подальших досліджень і відкриває перспективи для нових досягнень у даній галузі.

T. V. Serebrovskaya, O. S. Safronova, S. K. Gordiy

FREE RADICAL PROCESSES UNDER DIFFERENT OXYGEN SUPPLY CONDITIONS. THE REVIEW

Free radical processes (FRP) in mammalian organism are oxygen-dependent. The review is devoted to the analysis of pro- and antioxidant processes in mammalian tissues under different oxygen supply conditions. There are described: sources of free radicals; hyperproduction of FRP under hyperoxia and hyperbaria; the role

of free radicals in the adaptation to chronic hypoxia (high altitudes, barochamber, chronic heart and lung diseases); production of active oxygen species during the reoxygenation of preliminarily hypoxic tissues; FRP under intermittent hypoxic training; role of FRP in the chemoreception of oxygen. The special attention is paid to three main factors underlined the FR production in hypoxic conditions: the speed of hypoxia increase, the degree of hypoxia and the time of hypoxic exposure.

*A.A. Bogomoletz Institute of Physiology,
National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev;*

I. Franko University, Ministry of Education of Ukraine, L'viv

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Мальшев В.В., Васильева Л.С., Белогоров С.Б., Нефедова Т.В.* Адаптация к высотной гипоксии позволяет ограничить активацию перекисного окисления липидов при воспалении и стрессе // Биол.эксперим. биологии и медицины. — 1995. — **116**, №6. — С.590-593.
2. *Меерсон Ф.З., Архипенко Ю.В., Рожницкая И.И. и др.* Противоположное влияние адаптации к непрерывной и периодической гипоксии на антиоксидантные ферменты // Там же. — 1992. — **114**, №7. — С.14-15.
3. *Меньшикова Е.Б., Зенков Н.К., Сафина А.Ф.* Механизмы развития окислительного стресса при ишемическом и реперфузионном повреждении миокарда // Успехи соврем. биологии. — 1997. — **117**, №3. — С. 362-373.
4. *Озереденко В.Г., Федорова Л.П., Рысалиева З.К. и др.* Антиоксидантная защитная система в условиях высокогорья // Патол. физиология и эксперим. терапия. — 1991. — 1. — С.37-39.
5. *Прайор У.* Роль свободнорадикальных реакций в биологических системах. — В кн.: Свободные радикалы в биологии. — М.: Мир, 1979. — Т.1. — С. 13-67.
6. *Сазонтова Е.Г., Архипенко Ю.З., Меерсон Ф.З.* Адаптация к периодической гипоксии и диета с полиненасыщенными жирными кислотами w-3 класса повышают устойчивость Ca^{2+} — транспорта саркоплазматического ретикулула миокарда к свободнорадикальному окислению // Биол. эксперим. биологии и медицины. — 1995. — **120**, №7. — С.42-45.
7. *Салтыкова В.А., Устинова Е.Е., Меерсон Ф.З.* Влияние адаптации к гипоксии на резистентность изолированного предсердия к аритмогенному действию индуктора свободнорадикального окисления // Патол. физиология и эксперим. терапия. — 1987. — 5. — С.19-21.
8. *Сейланов А.С., Попов Г.А., Конев В.В.* Связь перекисного окисления липидов с дыханием и окислительным фосфорилированием // Журн. эксперим. и клин. медицины. — 1983. — 23, №2. — С. 108-112.
9. *Семенов В.Л., Ярош А.М.* Влияние гипоксии на окислительное фосфорилирование и перекисное окисление липидов митохондрий печени крыс при воспалении легких // Укр. биохим. журн. — 1991. — **63**, № 2. — С.95-101.
10. *Серебровская З.А., Серебровская Т.В., Афонина Г.Б.* Хемилюминесценция, перекисное окисление липидов крови и активность нейтрофилов при гипоксической тренировке у лиц, подвергшихся воздействию ионизирующего излучения // Радиц. биология и радиоэкология. — 1996. — **36**, №3. — С. 394-399.
11. *Acker H., Bolling B., Delpiano M.A. et al.* The meaning of H_2O_2 generation in carotid body cells for pO_2 chemoreception // J. Auton. Nerv. Syst. — 1992. — **41**, 1-2. — P.41-51.
12. *Acher H., Xue D.* Mechanisms of O_2 sensing in the carotid body in comparison with other O_2 -sensing cells // NIPS. — 1995. — **10**. — P. 211-216.

13. *Ahotupa M., Mantyla E., Peltola V., Puntala A., Toivonen H.* Pro-oxidant effects of normobaric hyperoxia in rat tissues// *Acta Physiol. Scand.* — 1992. — **145**, №2 (Jun). — P. 151-157.
14. *Archer S.L., Huang J., Henry T. et al.* A redox — based O₂ sensor in rat pulmonary Vasculature// *Circ. Res.* — 1993. — **73**, 6. — P. 1100-1112.
15. *Archer S.L., Hampl V., Nelson D.P. et al.* Dithionite increases radical formation and decreases vasoconstriction in the lung. Evidence that dithionite does not mimic alveolar hypoxia// *Ibid.* — 1995. — **77**, 1 Jul. — P.174-181.
16. *Babior B.M.* Oxygen — dependent microbial killing by phagocytes// *N. Eng. J. Med.* — 1978. — **298**. — P. 659-668 and 721-725.
17. *Biemond P., van Eijk H.G., Swaak A.J.C. et al.* Iron mobilization from ferritin by superoxide derived from stimulated polymorphonuclear leukocytes. Possible mechanism in inflammation diseases// *J. Clin. Invest.* — 1984. — **73**. — P. 1576-1579.
18. *Biemond P., Swaak A.J., Beindorff C.M. et al.* Superoxide — dependent and -independent mechanisms of iron mobilization from ferritin by xanthine oxidase. Implications for oxygen — free — radical — induced tissue destruction during ischaemia and inflammation// *Biochem. J.* — 1986. — **239**. — P. 169-173.
19. *Bolling K.S., Halldorsson A., Allen B.S. et al.* Prevention of the hypoxic reoxygenation injury with the use of a leukocyte — depleting filter// *J. Thorac. Cardiovasc. Surgery.* — 1997. — **113**, 6. — P. 1081-1089; discussion 1089-1090.
20. *Boveris A.* Mitochondrial production of superoxide radical and hydrogen peroxide. — In: *Tissue hypoxia and ischemia*/ Ed. M. Reivich. — New-York.: Plenum Press, 1977. — P. 67-84.
21. *Boveris A., Oshino N., Chance B.* The cellular production of Hydrogen peroxide// *Biochem. J.* — 1972. — **128**. — P. 617-630.
22. *Boveris A., Chance B.* Optimal rates of hydrogen peroxide production in hyperbaric oxygen. — In: *Alcohol and aldehyde metabolizing systems*/ Ed. R. Thurman et al. — New-York: Acad. Press, 1974. — P.207-214.
23. *Buttke T.M., Sandstrom P.A.* Oxidative stress as a mediator of apoptosis// *Immunol. Today.* — 1994. — **15**, 1. — P. 7-10.
24. *Cadenas E., Boveris A.* Enhancement of hydrogen peroxide formation by protophores and ionophores in antimycin — supplement mitochondria// *Biochem. J.* — 1980. — **188**. — P. 31-37.
25. *Carreras M.C., Pargament G.A., Catz S.D. et al.* Kinetics of nitric oxide and hydrogen peroxide production and formation of peroxynitrite during the respiratory burst of human neutrophils// *FEBS Lett.* — 1994. — **341**, 1. — P. 65-68.
26. *Chambers D.E., Parks D.A., Patterson G. et al.* Xanthine oxidase as a source of free radical damage in myocardial ischemia// *J. Mol. Cell. Cardiol.* — 1985. — **17**. — P.145-152.
27. *Chance B., Boveris A., Oshino N. et al.* The nature of the catalase intermediate in the biological function. — In: *Oxidases and related redox systems* / Ed. I.E. King et al. — Baltimore: Univ. Park Press, 1973. — P. 350-353.
28. *Chance B., Sies H., Boveris A.* Hydroperoxide metabolism in mammalian organs// *Physiol. Rev.* — 1979. — **59**, 3. — P. 527-605.
29. *Cherry P.D., Omar H.A., Farrell K.A. et al.* Superoxide anion inhibits cGMP associated bovine pulmonary relaxation// *Amer. J. Physiol.* — 1990. — **259**. — P.H1056-H1062.
30. *Chunh D.K., Katayama M., Mokashi A. et al.* Nitric oxide related inhibition of carotid chemosensory nerve activity in the cat// *Resp. Physiol.* — 1994. — **97**. — P.147-156.
31. *Costa L.E., Llesuy S., Boveris A.* Active oxygen species in the liver of rats submitted to chronic hypobaric hypoxia// *Amer. J. Physiol.* — 1993. — **264** (Cell Physiol. 33). — P. C1395-C1400.
32. *Cross A.R., Henderson L., Jones O.T.J. et al.* Involvement of an NADPH oxidase as a pO₂ sensor protein in the rat carotid body// *Biochem. J.* — 1990. — **272**. — P.743-747.

33. *Daval J.L., Grersi-Egea J.P., Oillet J., Koziel V.* A simple method for evaluation of superoxide radical production in neural cells under various conditions: application to hypoxia// *J. Cereb. Blood Flow et Met.* — 1995. — **15**, 1. — P.71-77.
34. *Davies K.J.A.* Proteolytic systems as secondary antioxidant defenses. — In: *Cellular Antioxidant Defense Mechanisms*/ Ed. by: C.K. Chow. — Boca Raton, FL: CRC, 1988. — P.25-67.
35. *deGroot H., Littauer A., Noll T.* Metabolic and pathological aspects of hypoxia in liver cells. — In: *Oxygen sensing in tissues*/ Ed. Acker H. — Heidelberg: Springer Verlag, 1988. — P. 49-64.
36. *de Groot H., Littauer A.* Hypoxia, reactive oxygen, and cell injury// *Free Rad. Biol. Med.* — 1989. — **6**, 5. — P.541-551.
37. *de Groot H., Noll T.* The crucial role of low steady state oxygen partial pressures in haloalkane free — radical — mediated lipid peroxidation. Possible implications in haloalkane liver injury// *Biochem. Pharmacol.* — 1986. — **35**. — P. 15-19.
38. *de Groot H., Noll T.* The role of physiological oxygen partial pressures in lipid peroxidation. Theoretical considerations and experimental evidence// *Chem. Phys. lipids.* — 1987. — **44**. — P. 209-226.
39. *Della Corte L., Stripe F.* The regulation of rat liver xanthine oxidase. Involvement of thiol group in the conversion of the enzyme activity from dehydrogenase (type D) into oxidase (type O) and purification of the enzyme// *Biochem J.* — 1972. — **126**. — P.739-745.
40. *Eddy L.J., Stewart J.R., Jones H.P., et al.* Free radical — producing enzyme, xanthine oxidase, is undetectable in human hearts// *Amer. J. Physiol.* — 1987. — **253**, Heart 22. — P. H709-H711.
41. *Fenton H.J.H.* Oxidation of tartaric acid in the presence of iron// *J. Chem. Soc.* — 1894. — **65**. — P. 899-903.
42. *Forman H.J., Boveris A.* Superoxide radical and hydrogen peroxide in mitochondria. — In: *Free radicals in biology*/ Ed. Pryor W.A. — New-York: Acad. Press, 1982. — P. 65-90.
43. *Fridovich I.* Superoxide dismutase// *Adv. Enzymol.* — 1974. — **41**. — P. 35-94.
44. *Greene E.L., Paller M.S.* Calcium and free radicals in hypoxia/ reoxygenation injury of renal epithelial cells// *Amer. J. Physiol.* — 1994. — **266**, 1. — P.F13-F20.
45. *Grum C.M., Ragsdale R.A., Ketai L.H. et al.* Absence of xanthine oxidase or xanthine dehydrogenase in rabbit myocardium// *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 1986. — **141**. — P.1140-1108.
46. *Hernandez L.A., Grisham M.B., Tzohig B. et al.* Role of neutrophils in ischemia — reperfusion — induced microvascular injury// *Amer. J. Physiol.* — 1987. — **253**, HCP 22. — P.H699-H703.
47. *Horakova L., Stols S., Chromikova Z. et al.* Mechanisms of hippocampal reoxygenation injury. Treatment with antioxidants// *Neuropharmacology.* — 1997. — **36**, 2. — P.177-184.
48. *Hortia A.* Comparative pharmacology of hydrazine analogues clinically useful as monoamine oxidase inhibitors// *Clin. Med.* — 1959. — **80**. — P. 590-595.
49. *Iadecola C., Faris P.L., Hartman B.K., Xu X.* Localization of NADPH diaphorase in neurones of the rostral ventral medulla: possible role of nitric oxide in central autonomic regulation and oxygen chemoreception// *Brain Res.* — 1993. — **603**, 1. — P.173-179.
50. *Imlay J.A., Linn S.* DNA damage and oxygen radical toxicity// *Science.* — 1988. — **240**. — P. 1302-1309.
51. *Jones D.P.* The role of oxygen concentration in oxidative stress: hypoxic and hyperoxic models. — In: *Oxidative stress*/ Ed. Sies H. — New-York.: Acad. Press, 1985. — P. 151-195.
52. *Kessler M., Hoper J., Harrison D.K. et al.* Tissue oxygen supply under normal and pathological conditions. — In: *Oxygen transport to tissue*/ Ed. Lubbers D.W., Acker H. et al. — New-York: Plenum Press, 1984. — P. 69-80.

53. *Khan S., O'Brien P.J.* Modulating hypoxia – induced hepatocyte injury by affecting intracellular redox state// *Biochim. Biophys. Acta.* – 1995. – **1269**, 2. – P.153-161.
54. *Klebanoff S.J.* Oxygen metabolism and the toxic properties of phagocytes// *Ann. Intern. Med.* – 1980. – **93**. – P. 480-489.
55. *Kretzschmar M.R., Glockner R., Klinger W.* Glutathione levels in liver and brain of newborn rats: investigations of the influence of hypoxia and reoxygenation on lipid peroxidation// *Physiol. Bohemoslov.* – 1990. – **39**. – P. 257-260.
56. *Kukreja R.C., Hess M.L.* The oxygen free radical system: from equations through membrane-protein interactions to cardiovascular injury and protection// *Cardiovasc. Res.* – 1992. – **26**. – P. 641-655.
57. *Maly F. E., Schurer-Maly C.S.* How and why cells make superoxide: the «phagocytic» NADPH oxidase// *NIPS.* – 1995. – **10**. – P.233-238.
58. *McCord J.M.* Free radicals and inflammation: Protection of synovial fluid by superoxide dismutase// *Science.* – 1974. – **185**. – P. 529-531.
59. *McCord J.M.* Oxygen free radicals in postischemic tissue injury// *N. Eng. J. Med.* – 1985. – **312**. – P.159-163.
60. *McCord J.M.* Oxygen – derived radicals: A link between reperfusion injury and inflammation// *Fed. Proc.* – 1987. – **46**. – P.2402-2406.
61. *McCord J.M.* Free radicals and myocardial ischemia: overview and outlook// *Free Rad. Biol. Med.* – 1988. – **4**, 1. – P.9-14.
62. *Michiels C., Arnould T., Houbion A., Remacle J.* Human umbilical vein endothelial cells submitted to hypoxia – reoxygenation in vitro: implication of free radicals, xanthine oxidase, and energy deficiency// *J. Cell. Physiol.* – 1992. – **153**, 1. – P.53-61.
63. *Minyailenko T.D., Pozharov V.P., Seredenko M.M.* Severe hypoxia activates lipid peroxidation in the rat brain// *Chem. Phys. Lipids.* – 1990. – **55**. – P. 25-28.
64. *Mokashi A., Lahiri S.* Aortic and carotid body chemoreception in prolonged hyperoxia in the cat// *Resp. Physiol.* – 1991. – **86**, 2. – P. 233-243.
65. *Murrel G.A.C., Francis M.J.O., Bromley L.* Modulation of fibroblast proliferation by oxygen free radicals// *Biochem. J.* – 1990. – **265**. – P. 659-665.
66. *Nakanishi K., Tajima F., Nakamura A. et al.* Effects of hypobaric hypoxia on antioxidant enzymes in rats// *J. Physiol.* – 1995. – **489**, 3. – P.869-876.
67. *Noseworthy J., Karnovsky M.L.* Role of peroxide in the stimulation of the hexose monophosphate shunt phagocytosis by polymorphonuclear leukocytes// *Enzyme.* – 1972. – **13**. – P. 203-210.
68. *Oshio N., Jamieson D., Chance B.* The properties of hydrogen peroxide production under hyperoxic and hypoxic conditions of perfused rat liver// *Biochem. J.* – 1975. – **146**. – P.53-65.
69. *Paine A.J.* Exited states of oxygen in biology// *Biochem. Pharm.* – 1978. – **27**. – P.1805-1813.
70. *Parks D.A., Granger D.N.* Xantine oxidase: Biochemistry, distribution and physiology// *Acta Physiol. Scand.* – 1986. – **126**, Suppl 548. – P.87-99.
71. *Petrone W.F., English D.K., Wong K.* Free radicals and inflammation: Superoxide – dependent activation of a neutrophil chemoattractant factor in plasma// *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1980. – **77**. – 1159-1163.
72. *Prabhakar N.R., Kumar G.K., Chang C.G. et al.* Nitric oxide in the sensory function of the carotid body// *Brain Res.* – 1993. – **625**. – P.16-22.
73. *Quaife R.A., Kohmoto O., Barry W.H.* Mechanisms of reoxygenation injury in cultured ventricular myocytes// *Circulation.* – 1991. – **83**, 2. – P.566-577.
74. *Roche E., Romero-Alvira D.* Role of oxygen free radicals in altitude – related disorders// *Med. Hypotheses.* – 1994. – **42**, 2 (Feb.). – P. 105-109.
75. *Rosenbaum D.M., Kalberg J., Kessler J.A.* Superoxide dismutase ameliorates neuronal death from hypoxia in culture// *Stroke.* – 1994. – **25**, 4. – P.857-862.
76. *Ryma B., Wang J.-F., de Groot H.* O₂⁻ release by activated Kupffer cells upon hypoxia – reoxygenation// *Am. J. Physiol.* – 1991. – **261**, 24. – P.G602-G607.

77. Sakai H. Takeguchi N. A GTP-binding protein inhibits a gastric housekeeping chloride channel via intracellular production of superoxide// J. Biol. Chem. — 1994. — **269**, 38 (Sep 23). — P. 23426-23430.
78. Serebrovskaya T.V., Krasiuk A.N., Guseva S.A. et al. Respiratory reactivity and the immune defence during adaptation to high altitudes system in humans residing in radiation contaminated areas// Hypoxia Med. J. — 1994. — **3**. — P.22-24.
79. Serebrovskaya T., Serebrovskaya Z., Afonina G., Minyailenko T. Effect of intermittent hypoxic training on human respiration, free radical processes, and immune system. — In: High altitude medicine/ Ed. by G. Ueda et al. — Shinshu University Press, Japan, 1992. — P.77-82.
80. Singal P.K., Kapur N., Dhillon K.S. et al. Role of free radicals in catecholamine — induced cardiomyopathy// Can. J. Physiol. Pharmacol. — 1982. — **60**. — P. 1390-1397.
81. Skulachev V.P. Why are mitochondria involved in apoptosis? Permeability transition pores and apoptosis as selective mechanisms to eliminate superoxide-producing mitochondria and cell// FEBS Let. — 1996. — **397**, 1. — P. 7-10.
82. Smith D.R., Stone D., Darley-Usmar V.M. Stimulation of mitochondrial oxygen consumption in isolated cardiomyocytes after hypoxia — reoxygenation// Free Rad. Res. — 1996. — **24**, 3. — P.159-166.
83. Southorn P.A., Powis G. Free radicals in medicine. I. Chemical nature and biological reactions// Mayo. Clin. Proc. — 1988. — **63**. — 381-389.
84. Sullivan S.J., Oberley T.D., Roberts R.J., Spitz D.R. A stable O₂-resistant cell line: role of lipid peroxidation byproducts in O₂-mediated injury// Amer. J. Physiol. — 1992. — **262**, 6. — P.L748-L756.
85. Turrens J.F., Boveris A. Generation of superoxide anion by the NADH dehydrogenase of bovine heart mitochondria// Biochem. J. — 1980. — **191**. — P. 421-427.
86. Turrens J.F., Freeman B.A., Levitt J.G., Crapo J.D. The effect of hyperoxia on superoxide production by lung submitochondrial particles// Arch. Biochem. Biophys. — 1982. — **217**. — P. 401-410.
87. Turrens J.F., Freeman B.A., Crapo J.D. Hyperoxia increases hydrogen peroxide formation by lung mitochondria and microsomes// Ibid. — 1982a. — **217**. — P. 411-419.
88. Turrens J.F., Alexandre A., Leninger A.L. Ubisemiquinone is the electron donor for superoxide formation by complex III of heart mitochondria// Ibid. — 1985. — **237**. — P. 408-414.
89. Turrens J.F., Beconi M., Barilla J. et al. Mitochondrial generation of oxygen radicals during reoxygenation of ischemic tissues// Free Rad. Res. Comms. — 1991. — 12-13. — P.681-689.
90. Ueno M., Brookins J., Beckmann B.S., Fischer J.W. Effects of reactive oxygen metabolites on erythropoietin production in renal carcinoma cells// Biochem. Biophys. Res. Commun. — 1988. — **154**. — P.773-780.
91. Yoshikana T.Y., Furukawa Y. Wakamatsu Y. et al. Experimental hypoxia and lipid peroxide in rats// Biochem. Med. — 1982. — **27**. — P. 207-213.

*Ин-т фізіології ім. О.О.Богомольця
НАН України, Київ;*

*Львів. нац. ун-т ім. Івана Франка
М-ва освіти України*

*Матеріал надійшов
до редакції 31.03.99*