

АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА

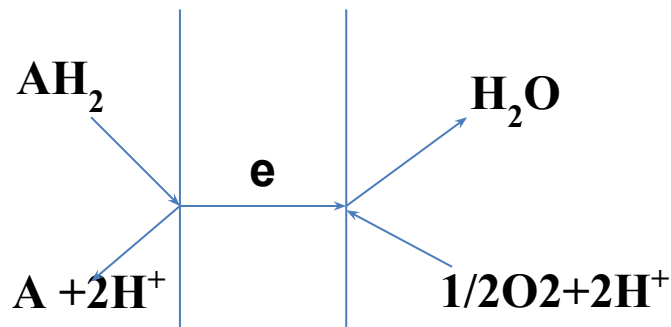
Антиоксиданты

Их физиологическая роль

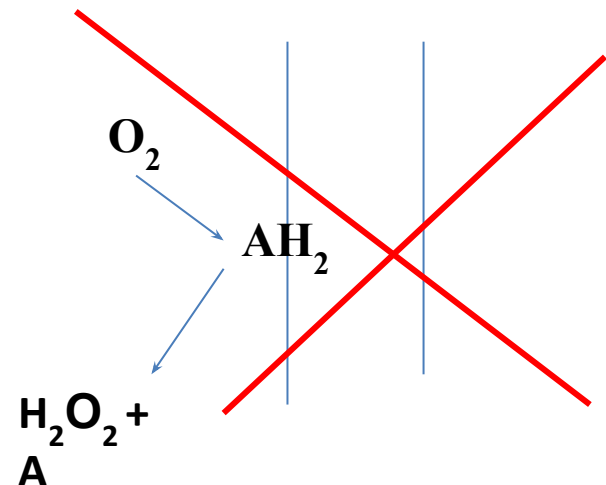
АЭРОБНЫЕ ОРГАНИЗМЫ

При гликолитическом расщеплении одной молекулы глюкозы образуется 2 молекулы АТФ. При клеточном дыхании – 36 молекул АТФ. Следовательно, клеточное дыхание *эффективнее* гликолиза в 18 раз.

Но кислород — высокоэффективный окислитель — способен окислять *клеточные структуры*. Поэтому аэробные организмы должны иметь эффективные защитные системы против непосредственного окисления кислородом.



Да



Активные формы кислорода (АФК)

Встречающиеся соединения кислорода в живых тканях (АФК) имеют большую химическую активность, чем молекулярный кислород.

К ним относятся:

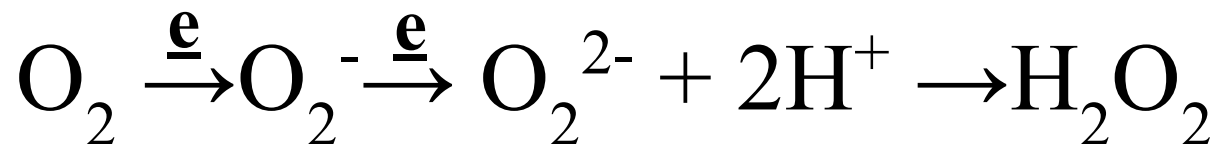
O_2^- - супероксидный анион радикал;

$OH\bullet$ - гидроксильный радикал;

H_2O_2 - перекись водорода.

Эти соединения продуцируются в тканях аэробных организмов или образуются в

Супероксидный анион-радикал



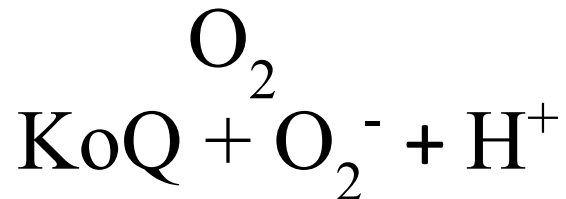
Относится к свободным радикалам, короткоживущий (от миллисекунд до секунд), способен спонтанно дисмутировать в кислород и пероксид водорода. Обладает парамагнитными свойствами.

Супероксид образуется, когда молекула кислорода захватывает один дополнительный электрон и при этом частично восстанавливается (полностью восстановленный кислород находится в молекуле воды)

Образование супероксидного анион-радикала

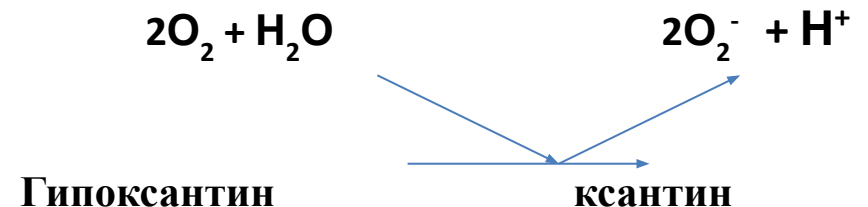
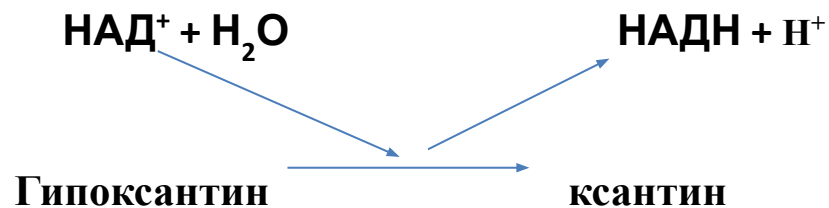
Одним из основных путей образования O_2^- является непосредственное взаимодействие с кислородом звеньев цепи переноса электронов. Коэнзим Q принимает от доноров последовательно по одному электрону, превращаясь в форму семихинона – $CoQH\bullet$.

Этот радикал может непосредственно взаимодействовать с кислородом, образуя O_2^- .



Образование супероксид-анион-радикала

Ксантиноксидоредуктаза содержится в молоке (как антибактериальный фермент), в клетках печени и тонкого кишечника. В организме ксантиноксидоредуктаза находится в дегидрогеназной форме и катализирует окисление ксантина с участием НАД в качестве акцептора электронов с образованием мочевой кислоты. Однако при некоторых патологических состояниях (ишемия органов) активируются внутриклеточные кальций-зависимые протеазы, и ксантиндегидрогеназа подвергается протеолизу с отщеплением короткого пептида и необратимо превращается в оксидазную форму. Акцептором электронов в реакции выступает кислород



Образование супероксид-анион-радикала

НАДФ-оксидаза Наряду с ксантиноксидазой мощным продуцентом супероксидного анион-радикала является НАДФН-оксидаза фагоцитирующих клеток. НАДФН-оксидаза — мультикомпонентная система. Состоит из цитозольных и мембраносвязанных ферментов. При стимуляции фагоцитов происходит быстрая самосборка цитозольных и мембранных компонентов в НАДФН-оксидазный комплекс, осуществляющий перенос электронов с цитозольного НАДФ на молекулярный кислород с образованием супероксидного анион-радикала.

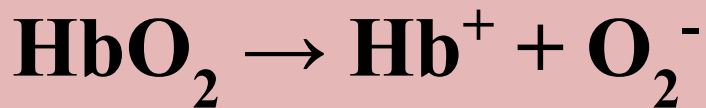
$$\text{НАДФ}\cdot\text{Н} \text{ (внутриклеточный)} + 2 \text{ O}_2 \text{ (внеклеточный)} \rightarrow \text{НАДФ}^+ \text{ (внутриклеточный)} + \text{H}^+ \text{ (внутриклеточный)} + 2 \text{ O}_2^{\cdot-} \text{ (внеклеточный)}$$

Образование супероксид-анион-радикала

В норме эритроцитарный гемоглобин обратимо связывает кислород:



В каком-то проценте случаев происходит сбой, и один электрон Fe (II)-гема гемоглобина переходит на кислород:



В результате образуется метгемоглобин (Hb^+) и супероксидный анион – радикал (O_2^-).

В норме до 2% гемоглобина в эритроците может быть в состоянии метгемоглобина

Супероксидный анион-радикал

Стандартный восстановительный потенциал пары O_2/O_2^- равен – 137 мВ.

Супероксид, как на $\frac{1}{4}$ восстановленный кислород, обладает большим восстановительным потенциалом и меньшим окислительным, чем O_2 .

Время жизни O_2^- в живых тканях - 10^{-6} с.

Супероксид быстро дисмутирует с образованием перекиси водорода:

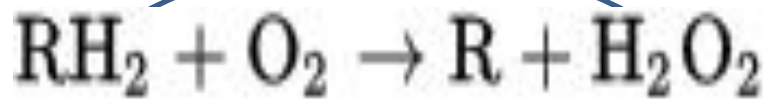


Пероксид водорода

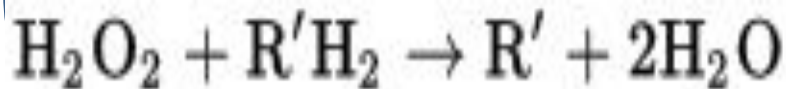
Перекись водорода образуется при дисмутации супероксидов, а также при окислении молекулярным кислородом различных органических субстратов, катализируемых оксидазами.

Наибольшее её количество содержится в т.н. пероксисомах: органеллах эукариотической клетки, ограниченных мембраной, и содержащих большое количество оксидаз, продуцирующих супероксид и перекись. Имеет размер от 0,2 до 1,5 мкм

O_2



оксидаза

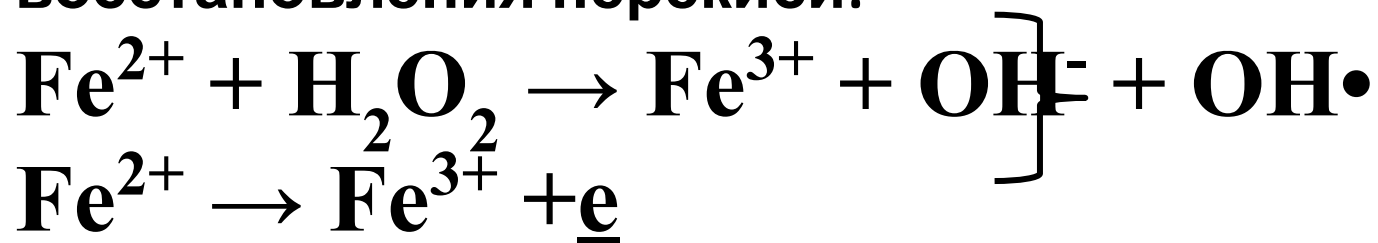


пероксидаза

Функции пероксисом в клетках разных типов различны: окисление жирных кислот, разрушение токсичных соединений. Наряду с митохондриями пероксисомы являются главными потребителями O_2 в клетке. Ферменты пероксисом используют молекулярный кислород для отщепления атомов водорода от органических субстратов с образованием перекиси водорода

$$E_0([H_2O_2] [H^+] / [H_2O] [OH\bullet]) = +320 \text{ мВ}$$

В перекиси водорода кислород восстановлен наполовину. Поэтому у неё преобладают окислительные свойства. Ферменты, катализирующие окисление пероксидом различных веществ, называются *пероксидазами*. Так, до молекулярного йода, окисляются фенолы, формальдегид, иодид-ион. Токсичность H_2O_2 заключается в способности окислять физиологически значимые соединения (гормоны, отдельные аминокислоты). Но главным образом, токсичность вызвана возможностью её распада с образованием гидроксильного радикала $OH\bullet$, что происходит в процессах одноэлектронного восстановления перекиси:



Гидроксильный радикал $\text{OH}\bullet$

$$E_0([\text{HO}\bullet] [\text{H}^+]/[\text{H}_2\text{O}]) = +2180$$

$$E_0([\text{HO}\bullet]/[\text{OH}^-]) = +1900 \text{ мВ}$$

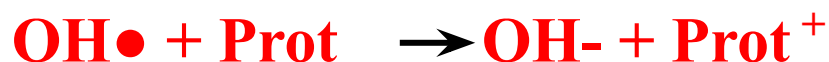
мВ

Самый реакционноспособный радикал среди АФК.

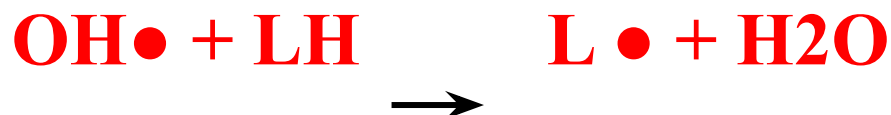
Время жизни в биологической среде от 10^{-9} с.

Гидроксильный радикал способен окислять углеводы, нуклеиновые кислоты (что может привести к мутации или повреждению генов), липиды (вызывая перекисное окисление липидов) и аминокислоты

$\text{OH}\bullet$ окисляет аминокислоты белков:



$\text{OH}\bullet$ окисляет липиды:



В присутствии кислорода в биомембранах развивается перекисное окисление липидов



-



-

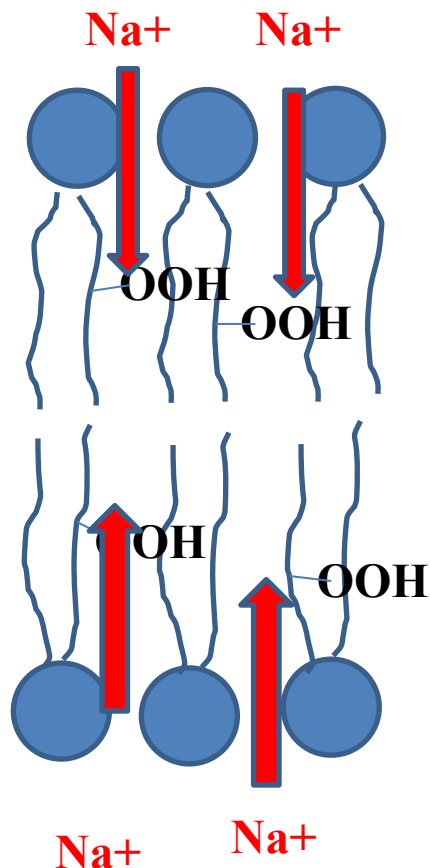


инициация

разветвление цепи

обрыв цепи

Повреждение клеток в результате развития перекисного окисления липидов (ПОЛ)



В результате появления в гидрофобном слое мембран гидрофильных зон за счёт образования гидропероксидов жирных кислот в клетки могут проникать ионы натрия, кальция, что приводит к набуханию клеток, органелл и их разрушению

Активация перекисного окисления характерна для многих заболеваний: дистрофии мышц (болезнь Дюшенна), болезни Паркинсона. ПОЛ разрушает нервные клетки в стволовой части мозга при атеросклерозе, развитии опухолей. Перекисное окисление активируется в тканях, подвергшихся сначала ишемии, а затем реоксигенации, что происходит, например, при спазме коронарных артерий и последующем их расширении

Та же ситуация — при образовании тромба в сосуде, питающем миокард. Формирование тромба приводит к окклюзии просвета сосуда и развитию ишемии в соответствующем участке миокарда (гипоксия ткани). Если принять быстрые лечебные меры по разрушению тромба, то в ткани восстанавливается снабжение кислородом (реоксигенация). Показано, что в момент *реоксигенации* резко возрастает образование АФК, повреждающих клетку. Таким образом, несмотря на быстрое восстановление кровообращения, в соответствующем участке миокарда происходит повреждение клеток за счёт активации перекисного окисления.

Изменение структуры тканей в результате ПОЛ можно наблюдать на коже: с возрастом увеличивается количество пигментных пятен на коже, особенно на дорсальной поверхности ладоней. Этот пигмент называют **липофусцин** (смесь липидов и белков, связанных между собой поперечными ковалентными связями и денатурированными в результате взаимодействия с химически активными группами продуктов ПОЛ). Пигмент фагоцитируется, но не гидролизуются ферментами лизосом, и поэтому накапливается в клетках, нарушая их функции

Защита клеток и тканей организма от АФК

Прежде всего, необходимо минимизировать возможность образования гидроксил-радикала $\text{OH}\bullet$. Для этого нужно эффективно удалить вещества, способствующие его образованию, т.н. «антиокислительные ферменты»:

Супероксид-дисмутаза;

Каталаза;

Глутатион-пероксидаза;

Гемовые пероксидазы

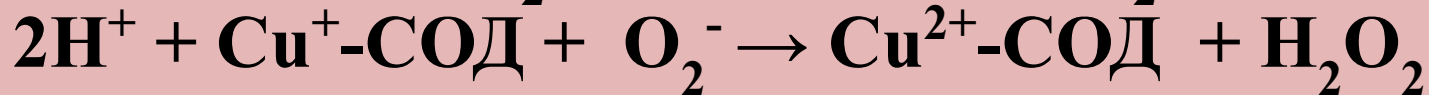
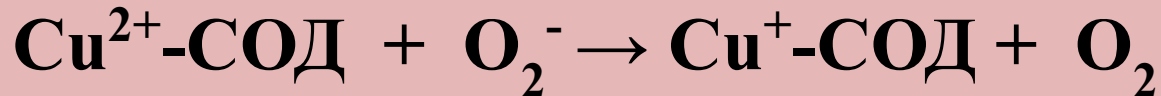
Супероксид-дисмутаза (СОД)

Катализирует дисмутацию супероксидов до перекиси водорода.



Есть несколько изоферментов. Наиболее известный – Cu-Zn содержащий фермент.

Катализ осуществляется следующим образом:



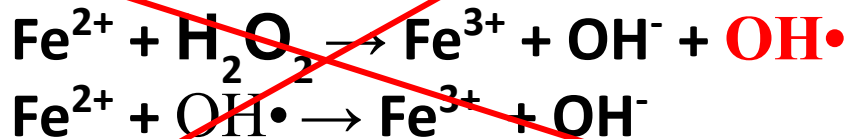
СОД на 3 порядка увеличивает скорость дисмутации супероксидов до перекиси водорода.

СОД – внутриклеточный цитозольный фермент.

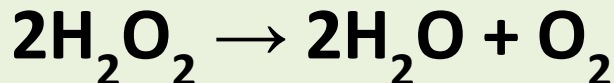
Разложение пероксида водорода

Перекись водорода – продукт полувосстановления кислорода (степень окисления: -1). В связи у H_2O_2 – сильно выраженная окислительная активность. Наибольшая её концентрация в живых клетках – в пероксисомах и в водянистой влаге глаза (десятки микромоль, при катаракте – до миллимоля). Но в целом, концентрация в живых тканях не достаточна для эффективного окисления веществ без участия катализатора. Основная опасность перекиси водорода – возможность распада с образованием высокореакционноспособного гидроксил-радикала $\text{OH}\cdot$.

Задача организма – ликвидировать перекись без образования свободнорадикальных продуктов

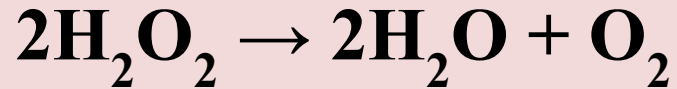


не
т



да

Разложение перекиси водорода. Каталаза

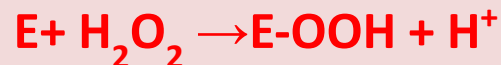


Четырехсубъединичный гем-содержащий фермент каталаза обеспечивает разложение перекиси водорода на кислород и воду по указанной схеме без образования свободнорадикальных форм кислорода. По сути, это окисление одной молекулой H_2O_2 другой такой же молекулы. Для этого необходимо, чтобы одна молекула H_2O_2 на какой-то момент приобрела более высокий окислительный потенциал, чем другая. Разность потенциалов должна быть такой, чтобы выполнялось равенство:

$$2F\Delta\phi = 2G^0\text{H}_2\text{O} - 2G^0\text{H}_2\text{O}_2$$

$$\text{То есть: } \Delta\phi = 2(G^0\text{H}_2\text{O} - G^0\text{H}_2\text{O}_2)/2F$$

Это достигается образованием т.н. соединения I (E-OOH, где E-субъединица фермента):

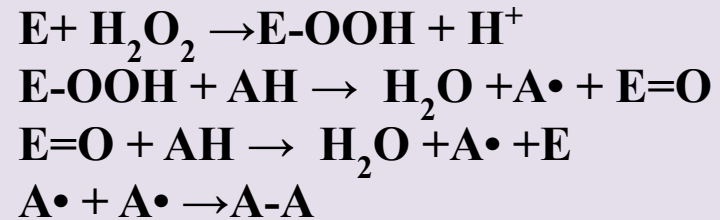
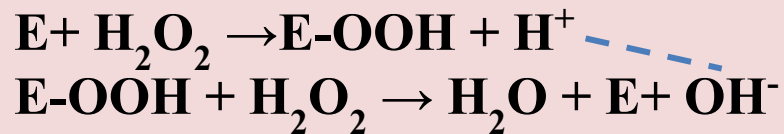
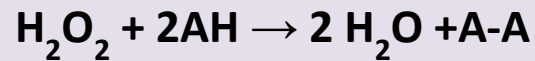
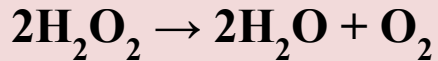


Соединение I имеет окислительный потенциал выше, чем перекись, который выступает по отношению к ней как двухэквивалентный окислитель



Разложение перекиси водорода

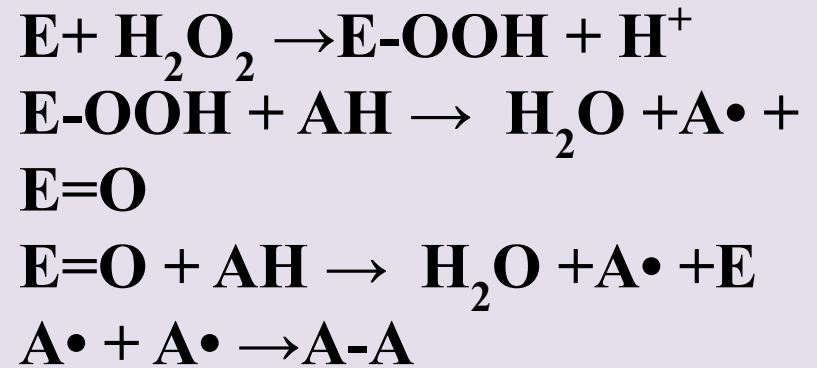
Гем-содержащие пероксидазы



Каталаза эффективна при сравнительно большой концентрации перекиси, поскольку соединению I также необходима молекула перекиси. Каталаза очень специфичный к субстрату фермент. Гем-содержащие пероксидазы катализируют окисление перекисью водорода веществ, концентрация которых в живых тканях многократно больше перекиси.

Вначале образуется такое же соединение I, как и у каталазы. Оно имеет больший окислительный потенциал, чем свободная перекись. Так как большинство окисляемых субстратов – одноэквивалентные доноры, то соединение I пероксидазы сначала присоединяет один электрон, превращаясь в соединение II (E=O), которое, являясь уже одноэквивалентным окислителем, окисляет вторую молекулу субстрата.

Каталаза – исключительно внутриклеточный фермент. Защиту от



Гем-содержащие пероксидазы специфичны к окислителю, но не специфичны к субстрату. Многие физиологически значимые вещества синтезируются в реакциях, катализируемых гем-содержащими пероксидазами.

Меланин – продукт окисления и последующей полимеризации тирозина.

Тиреоидные гормоны – продукты взаимодействия тирозина и атомарного йода, являющегося, в свою очередь, продуктом окисления йодида ($\text{I}^- \rightarrow \text{I}\cdot$)

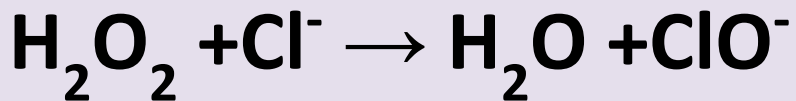
Защитный секрет насекомых – продукт пероксидазного окисления ряда соединений

Разложение пероксида водорода. Гем-содержащие пероксидазы

В молоке **лактопероксидаза** окисляет тиоцианат до высокореакционноспособных свободнорадикальных продуктов. Эта реакция играет большую роль в *антибактериальной защите молока.*

Миелопероксидаза лейкоцитов

катализирует окисление галоид – ионов:

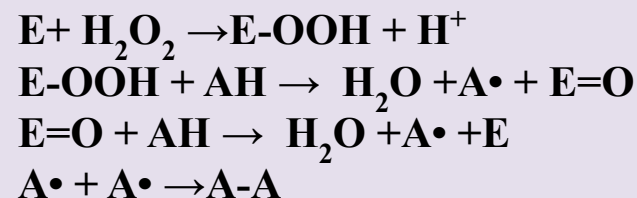
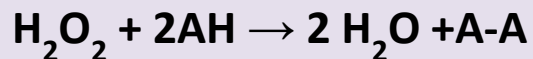


Образующийся гипохлорит – мощный окислитель и эффективный антибактериальный

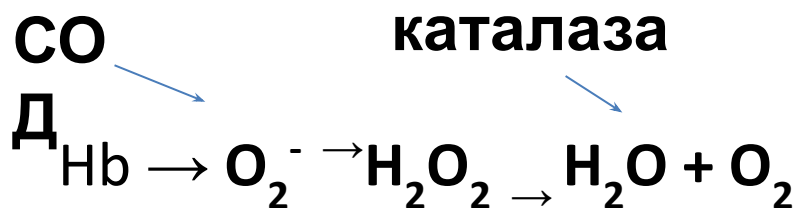
Метгемоглобин — эффективная гем-содержащая пероксидаза — не специфичен к окисляемому субстрату. Его субстратом становятся аминокислоты и полипептиды — части структурных и ферментативных белков, аскорбат, стероидные гормоны. Поэтому содержание метгемоглобина более 2% от общего числа гемоглобина, считается неприемлемым, ведущем к нарушению структуры эритроцита и к гемолизу.

Не так опасна свободная перекись, как перекись, связанная с метгемоглобином, т.к. она приобретает большой окислительный потенциал. Очень опасен метгемоглобин, вышедший из эритроцита в кровяное русло. Для его связывания есть фермент **гаптоглобин**.

Функции эритроцита



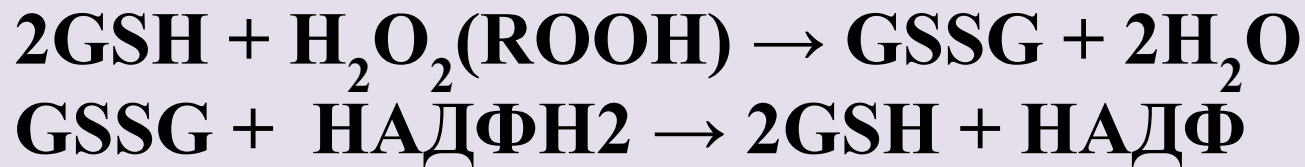
1. Предотвращение окисления гемоглобина



СОД и каталаза, присутствующие в эритроците, эффективно разрушают постоянно возникающие АФК, защищают гемоглобин от окисления. Восстановление метгемоглобина осуществляет эритроцитарная метгемоглобинредуктаза.

2. Предотвращение попадания метгемоглобина в кровяное русло

Глутатион-пероксидаза



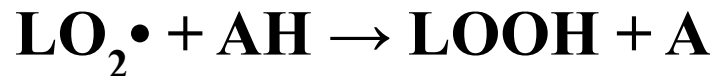
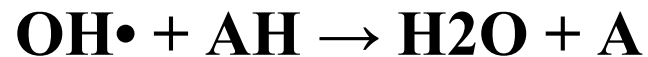
Глутатион — пероксидаза, специфичная к окисляемому субстрату и не специфичная к окислителю, которым могут быть и перекись водорода и липидные гидроперекиси.

Известны **мембранная** и **цитозольная** формы. Окисленный глутатион восстанавливается глутатион-редуктазой, использующей в качестве донора НАДФН₂.

Таким образом, глутатион-пероксидазный путь разложения перекиси, в отличие от каталазного, энергозатратен

Мембранные антиоксиданты

Аскорбат, токоферол, дибунол, нафтолы, танины



Последний рубеж защиты клеточных структур от АФК. Взаимодействуют непосредственно с уже образовавшимися свободными радикалами. В результате чего образуются соединения с низкой

В присутствии кислорода в биомембранах развивается перекисное окисление липидов



•

цепи



разветвление

обрыв цепи

**Окисление мембранных липидов — цепной
самоускоряющийся процесс:
распад гидроперекисей порождает ещё
большее количество гидроперекисей,
которые, распадаясь, порождают новые
гидроперекиси. Следовательно, относительно
малые концентрации соединений,
эффективно нейтрализующих гидроксил-
радикалы, алкильные, алкоксильные и
алкил-пероксидные радикалы, могут
предотвратить развитие цепи**