

УДК 576.3, 577.3

АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА В КЛЕТКАХ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

А. Д. НАДЕЕВ¹, Н. В. ГОНЧАРОВ^{2,3}

¹ *Институт биофизики клетки Российской академии наук, Пущино, Россия*

² *Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека
Федерального медико-биологического агентства России, Санкт-Петербург, Россия*

³ *Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова
Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия*

В обзоре представлены данные о сигнальных и токсических свойствах активных форм кислорода (АФК) в клетках кровеносных сосудов. Высокие концентрации АФК в норме являются характерной функцией так называемых профессиональных фагоцитов – клеток врожденного иммунитета; в других клетках высокие концентрации АФК – признак оксидативного стресса. В то же время низкие концентрации АФК постоянно образуются практически во всех клетках организма и выполняют сигнальные функции в качестве вторичных посредников в редокс-чувствительных сигнальных путях. Эндотелий сосудов играет важнейшую роль в поддержании гомеостаза, он же, как правило, является мишенью и одним из источников АФК. По некоторым данным, локальная концентрация как эндогенных, так и экзогенных АФК может достигать 500 мкМ. Оксидативный стресс повышает проницаемость гематотканевых барьеров; так, АФК вносят решающий вклад в развитие патологии легких и мозга при гипероксии и гипоксии. Нарушение проницаемости эндотелия может быть связано с воздействием активных форм кислорода или азота на ключевые ферменты метаболизма, а также на различные звенья сигнальных и эффекторных путей. Какие агонисты обеспечивают первичное возмущение внутриклеточного гомеостаза, каковы механизмы модуляции первичного возмущения, какова роль эндогенных и экзогенных источников АФК в нарушении гомеостаза клеток – это важнейшие вопросы, от решения которых во многом зависит эффективность диагностики и терапии сердечно-сосудистых заболеваний.

Ключевые слова: активные формы кислорода, кровеносные сосуды, пероксид водорода, эндотелиальные клетки, гладкомышечные клетки, внутриклеточная сигнализация.

REACTIVE OXYGEN SPECIES IN THE CELLS OF CARDIOVASCULAR SYSTEM

A. D. NADEEV¹, N. V. GONCHAROV^{2,3}

¹ *Institute of Cell Biophysics, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia*

² *Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology,
Federal Medical Biological Agency, Saint Petersburg, Russia*

³ *Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry,
Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia*

The data on toxic and signaling properties of reactive oxygen species (ROS) in the cells of blood vessels are presented in this review. High concentrations of ROS are naturally characteristic properties of so-called professional phagocytes, the cells of innate immunity, whereas in other cells, the high concentrations of ROS is a sign of oxidative stress. At the same time, low concentrations of ROS are permanently generated in almost all the cells of an organism and perform signaling functions as the secondary messengers in redox-sensitive signaling pathways. Vascular endothelium plays a very important role in maintenance of homeostasis, and as a rule, it is a target and one of the sources of ROS. According to some data, the local concentration of both exogenous, and endogenous ROS can reach 500 μM . Oxidative stress enhances a permeability of blood-tissue barriers, and ROS contributes significantly to development of pulmonary and brain pathologies in hypoxia and hyperoxia. Disturbance in endothelial permeability can be associated with the influence of reactive oxygen or nitrogen species on key metabolic enzymes, as well as on various units of signaling and effector pathways. Which agonists cause the primary disturbance of intracellular homeostasis? What are the mechanisms of modulation of the primary disturbance? What is the role of endogenous and exogenous sources of ROS in disturbance of intracellular homeostasis? These are the most important questions, on the solution of which the efficacy of diagnostics and treatment of cardiovascular diseases largely depend.

Key words: reactive oxygen species, blood vessels, hydrogen peroxide, endothelial cells, smooth muscle cells, intracellular signaling.

Введение

В начале 1930-х был впервые описан феномен окислительного (дыхательного) взрыва при фагоцитозе [10]. Эта работа положила начало много-

численным исследованиям роли активных форм кислорода (АФК) в биологических процессах и системах. К АФК относят супероксид-анион (O_2^-), пероксид водорода (H_2O_2), гидроксил-радикал

(•OH), пероксил-радикал (ROO•), алкоксил-радикал (RO•), озон (O₃) и синглетный кислород (¹O₂). Супероксид-анион является предшественником большинства АФК в клетке, дисмутируя в пероксид водорода (H₂O₂) либо спонтанно, либо посредством супероксид дисмутаза (СОД). АФК принимают участие во множестве внутри- и межклеточных процессов. Высокие концентрации АФК в норме являются характерной функцией так называемых профессиональных фагоцитов – клеток врожденного иммунитета; в других клетках высокие концентрации АФК – признак оксидативного стресса и причина гибели клеток. Последствия оксидативного стресса, обусловленного АФК, включают в себя перекисное окисление липидов клеточных мембран, разрыв нитей ДНК, окисление белков. Эти повреждения могут быть сведены к минимуму благодаря наличию молекул-восстановителей и ферментов антиоксидантной защиты: цистеина, глутатиона (GSH), тиоредоксина (Trx), супероксиддисмутаза (СОД), каталазы и других [143]. Низкие концентрации АФК постоянно образуются практически во всех клетках организма и выполняют сигнальные функции в качестве вторичных посредников в редокс-чувствительных сигнальных путях [174, 217]. Наиболее стабильной и интересной АФК с точки зрения сигнализации является H₂O₂. Сигнальное действие H₂O₂ направлено главным образом на посттрансляционную модификацию белков, в первую очередь за счет окисления тиоловых групп цистеина. Внеклеточная H₂O₂ может проникать в клетку посредством диффузии, но при наличии аквапориновых каналов данный путь является предпочтительным, кроме того, он обуславливает локализацию и специфичность действия H₂O₂ [156].

О сигнальных эффектах АФК известно давно. Впервые о том, что АФК могут выполнять функции особых посредников, заявил Проктор в 1972 г. [179]. За прошедшие 40 лет этой теме посвящено множество публикаций и немало первоклассных обзоров, первым из которых был обзор того же Проктора [1, 124, 180]. Данная работа не претендует на раскрытие всех аспектов этой многогранной темы, но представляет собой попытку обобщения сведений о путях генерации АФК, их взаимодействия с метаболическими путями и «классическими» сигнальными системами в клетках сердечно-сосудистой системы в норме и патологии.

Источники АФК. Внутриклеточными источниками АФК являются митохондрии, пероксисомы, ксантиноксидаза, миелопероксидаза, разобщенная NO-синтаза, циклооксигеназы, липоксигеназы, цитохромы P450 и NADPH-оксидазы, которых

в настоящее время насчитывается семь (NOX1-5 и DUOX1-2) [1, 126, 232].

NADPH-оксидазы (NOX) – главные источники супероксид-аниона в различных патологических состояниях сердечно-сосудистой системы. Принципиальное отличие NADPH-оксидаз от других источников АФК состоит в том, что генерация АФК этими ферментными системами является их основной функцией [48]. Впервые они были обнаружены в нейтрофилах, где во многом определяют неспецифический иммунный ответ [195]. При ишемии-реперфузии NADPH-оксидазы в значительной степени определяют поражение тканей, генерируя АФК в эндотелиальных и гладкомышечных клетках сосудов. NOX1 имеется в плазматической мембране гладкомышечных и эндотелиальных клетках кровеносных сосудов, располагаясь главным образом в мембране кавеол, рядом с кавеолином [97]. NOX1 регулирует пролиферацию и подвижность гладкомышечных клеток, участвует в регуляции кровяного давления [77]. Показано участие NOX1 в развитии гипертензии, индуцируемой ангиотензином II [76, 151]. Повышенный уровень активности NOX1 в ГМК сосудов приводит не только к повышению уровня супероксид-аниона, но также в результате окисления тетрагидробиоптерина к разобщению эндотелиальной eNOS, которая становится дополнительным источником супероксида [47]. Кроме того, супероксид, генерируемый NOX, переводит ксантин-оксидоредуктазу в ксантиноксидазную форму [154]. Спектр экспрессии NOX1 и других NADPH-оксидаз в различных клетках представлен в таблице 1.

NOX2 – наиболее изученная NADPH-оксидаза, которая осуществляет образование супероксид-аниона в профессиональных фагоцитах и многих других клетках. В фагосомах под каталитическим контролем миелопероксидазы супероксид взаимодействует с хлорид-ионами с образованием гипохлорита [61]. Эксперименты с нокаутными NOX2^{-/-} или p47^{phox}^{-/-} мышами показали важную роль этого фермента в генерации АФК в различных органах: сердце, легких, печени, мозге [140, 205]. Активация липоксигеназного сигнального пути при взаимодействии лигандов (CD154 или CD40L) с CD40 В-лимфоцитов сопряжена и с активацией NOX2 [87, 235]. В этом сигнальном пути также задействованы ассоциированный фактор TNF-рецептора (TRAF), PI3-киназа и малый G-белок Rac1. Синергизм в действии лигандов CD40 и связанного с этим оксидативного стресса вследствие активации NOX при ишемии/реперфузии обуславливает гибель гепатоцитов и, возможно,

Клеточная и внутриклеточная локализация изоформ NADPH-оксидаз

Изоформа NOX	Обнаружена в клетках и тканях	Внутриклеточная локализация	Источники
NOX1	ГМК сосудов, эндотелий сосудов, эпителий толстого кишечника, остеокласты, репродуктивные органы	Внутриклеточные мембраны вблизи ЭР, эндосомы, сигнасомы, кавеолы	[37, 95, 127]
NOX2	Нейтрофилы, макрофаги, ГМК сосудов, эндотелий сосудов, фибробласты, скелетные мышцы, гепатоциты, кардиомиоциты	Клеточная мембрана, фагосома, перинуклеарное пространство	[11, 159]
NOX3	Внутреннее ухо (вестибулярный аппарат, улитка), кости черепа, мозг, эмбриональные ткани	Плазматическая мембрана	[133, 161]
NOX4	ГМК сосудов, эндотелий сосудов, почки, фибробласты, гематопозитические стволовые клетки, остеокласты, нейроны, адипоциты	Мембраны ЭР, ядро, митохондрии, межклеточные контакты	[88, 97, 184, 198]
NOX5	ГМК сосудов, эндотелий сосудов, клетки костного мозга, лимфоузлы, селезенка, репродуктивные ткани, желудок, поджелудочная железа, эмбриональные ткани	Плазматическая мембрана, мембраны ЭР	[55, 110, 116]
DUOX1/2	Щитовидная железа, эпителий дыхательных путей, предстательная железа, пищеварительная система (DUOX2)	Апикальная мембрана	[39, 49, 79]

эндотелиальных клеток, также экспрессирующих CD40 в условиях стресса [14, 238].

Для активации NOX1 и NOX2 требуется взаимодействие с другими регуляторными субъединицами: Ncf1/p47^{phox} (NOX1 и NOX2), Cyba/p22^{phox}, Noxa1, Noxol (гомолог p47^{phox}, NOX1), малым G-белком Rac (NOX1 и NOX2) [195]. В отличие от NOX1 и NOX2, функционально активная NOX4 состоит из двух белков – NOX4 и p22^{phox} [206]. Располагается NOX4 в мембранах эндоплазматического ретикулума и ядре [97, 123]. NOX4 обнаружена в эндотелиальных клетках, где она является основным источником АФК, а также во многих других клетках: фетальной печени, ГМК сосудов, остеокластах, гематопозитических стволовых клетках (ГСК), адипоцитах и кардиомиоцитах [19, 34]. Предполагается, что NOX4 является частью сенсорной системы кислорода в проксимальных канальцах почек, клетках каротидного тельца (тип 1), ГМК легочной артерии, клетках нейроэпителиального тельца легких, фибробластах сердца и, возможно, в других клетках [97, 131, 211]. Сначала предполагали, что NOX4 эндотелия генерирует супероксид, который может нейтрализовать NO, продуцируемый в тех же клетках [123]. Однако позже было установлено, что NOX4 генерирует пероксид водорода [95, 148]. Механизм регуляции NOX4 изучен очень слабо. Активаторы других изоформ NADPH-оксидаз не влияют на активность NOX4, а образование H₂O₂ в клетках зависит от уровня экспрессии NOX4, т. е. фермент обладает конститутивной активностью и не требует для своей активации регуляторной субъединицы [148]. В то же время регуляция NOX4 возможна. Так, инсулин в течение минут активи-

рует NOX4 в фибробластах линии 3T3-L1, генерируемый H₂O₂ ингибирует тирозиновые фосфатазы и тем самым усиливает фосфорилирование по тирозину [144]. 7-Кетохолестерол, основной компонент LDL, стимулирует экспрессию NOX4 и апоптоз в ГМК сосудов [171]. TGF-beta индуцирует трансформацию и пролиферацию ГМК и ЭК сосудов посредством АФК и NOX4 [104, 204]. Toll-подобные рецепторы 4 (TLR4) также активируют NOX4 при ишемии/реперфузии; эта активация играет ключевую роль в развитии воспаления и служит одной из главных причин поражения почек и мозга [12, 210].

NADPH-оксидазы группы DUOX (DUOX1 и DUOX2) также образуют H₂O₂ [78]. DUOX1/2 – источники H₂O₂ для лактопероксидазы, фермента, играющего важную роль в антибактериальной активности слюны, молока, слезной жидкости и секретиции воздухопроводящих путей [78]. DUOX2 (и, вероятно, DUOX1) функционально связаны с тиропероксидазой (ТРО) и участвуют в биосинтезе тиреоидных гормонов, генерируя H₂O₂ посредством внутримолекулярной дисмутации супероксида [242]. ТРО использует йодид-ионы и H₂O₂ для генерации молекулярного йода, который необходим при биосинтезе тиреоидных гормонов Т₃ и Т₄. NOX4 наряду с DUOX2 служит источником H₂O₂ в щитовидной железе. Недостаточное количество H₂O₂ является одной из причин гипотиреоза, тогда как повышенный синтез H₂O₂ наблюдается при папиллярной тиреоидной карциноме [164].

В митохондриях происходит одно- и даже двух-электронное восстановление кислорода с образованием супероксида и H₂O₂ соответственно

[82]. Основным источником супероксид-аниона в результате одноэлектронного восстановления кислорода в митохондриях является дыхательная цепь: с комплекса I электроны переходят исключительно на кислород матрикса, с комплекса III – на кислород матрикса и межмембранного пространства. Кроме того, митохондриальными источниками супероксида могут быть моноаминоксидаза и цитохром- b_5 -редуктаза (расположены на внешней митохондриальной мембране), глицерол-3-фосфатдегидрогеназа и цитохромы P450 (расположены во внутренней митохондриальной мембране), аконитаза, пируватдегидрогеназа, α -кетоглутаратдегидрогеназа (ферменты матрикса). Двухэлектронное восстановление кислорода в митохондриях с образованием H_2O_2 происходит благодаря взаимодействующим цитохрому C (cytC) и адапторному белку p66shc. Супероксид матрикса митохондрий дисмутирует с образованием H_2O_2 благодаря Mn-SOD матрикса (SOD2), супероксид межмембранного пространства – Cu, Zn-SOD цитозоля (SOD1) [18].

Фермент ксантин-оксидоредуктаза (XOR) катализирует две последние стадии распада пуринов (гипоксантин $\rightarrow$ ксантин $\rightarrow$ мочевая кислота). Исходным продуктом транскрипции одного гена является NAD-зависимая ксантиндегидрогеназа (XDH, КФ 1.17.1.4). Молибден-содержащий кофактор XDH переносит электроны от субстрата через Fe/S центры на FAD-содержащий кофактор с последующим восстановлением NAD: ксантин + NAD^+ + $H_2O \rightleftharpoons$ мочевая кислота + NADH + H^+ . Однако посттрансляционная окислительная модификация остатка цистеина или необратимая протеолитическая модификация преобразуют XDH в кислород-зависимую ксантиноксидазу (XO, КФ 1.17.3.2) [6, 229]. В результате аффинность к NAD снижается, а к кислороду повышается, электроны от субстрата переходят через молибденовый кофактор на FAD-кофактор и кислород с образованием H_2O_2 : гипоксантин + $H_2O + O_2 \rightleftharpoons$ ксантин + H_2O_2 ; ксантин + $H_2O + O_2 \rightleftharpoons$ мочевая кислота + H_2O_2 ; в определенных условиях происходит одноэлектронное восстановление кислорода с образованием супероксид-аниона: $RH + H_2O + 2O_2 \rightleftharpoons ROH + 2O_2^- + 2H^+$; более того, XDH также может генерировать супероксид в условиях дефицита NAD^+ (например, при воспалении и сопутствующем гипоксическом микроокружении фермента, но еще до того как XDH преобразуется в XO) [92].

Цитохромы P450 (CYP) – это большая группа (суперсемейство) гем-содержащих ферментов, которые долгое время считались флавиносодержащими монооксигеназами эндоплазматического

ретикулума исключительно печени, функция которых состоит в кислород- и NADPH-зависимом окислении и/или восстановлении холестерина, витаминов, стероидов и многих других соединений. Однако позже выяснилось, что определенные ферменты этого суперсемейства экспрессированы во многих тканях за пределами печени, в том числе в клетках сердечно-сосудистой системы [97]. Ферменты CYP, метаболизирующие арахидоновую кислоту (семейства CYP2 and CYP4A), участвуют в регуляции тонуса сосудов, генерируя вазоактивные производные жирных кислот и АФК. Так, в ГМК сосудов благодаря активности CYP4A образуется 20-НЕТЕ, а CYP2C8/9 эндотелиальных клеток продуцирует эпоксиэйкозатриеновые кислоты (EET), которые отвечают за NO- и простаглицлин-независимую эндотелий-зависимую релаксацию сосудов, обусловленную гиперполяризующим фактором [97; 66]. Подобно другим ферментам CYP, CYP2C ингибируется NO и, следовательно, может работать в окружении с минимальным содержанием NO.

Установлено, что ферменты CYP сосудов могут продуцировать супероксид-анион, H_2O_2 и гидроксил-радикал. Это происходит при NADPH-зависимом переносе электронов, предназначенных для восстановления гемового железа, на молекулу кислорода [67]. Так, в эндотелиальных клетках CYP2C участвует в генерации EDHF и при этом является источником АФК [68]. Поскольку CYP2C может продуцировать как EDHF (вазодилатор), так и АФК (вазокострикторы в случае инактивации NO и вазодилаторы в случае образования H_2O_2), модуляция активности CYP2C не всегда предсказуема, особенно с учетом активности других источников АФК в клетках. Например, супероксид-анион, продуцируемый CYP2C, ослабляет NO-зависимую релаксацию сосудов, повышает активность редокс-чувствительного ядерного фактора NFkB и экспрессию VCAM-1 [68]. Ингибирование CYP2C9 сульфafenозолом нормализует эндотелий-зависимую NO-опосредованную дилатацию у людей с коронарной болезнью сердца [64]. Показана триггерная роль CYP-генерируемых АФК в провоспалительном действии TNF-а, в результате чего повышается экспрессия генов адресина (MAdCAM-1) и некоторых других адгезионных белков высокого эндотелия венул; ингибиторы CYP (кетоконазол и др.) блокировали действие TNF-а [191]. В то же время экспрессия эндотелием Е-селектина (CD62), ICAM-1 (CD54), VCAM-1 (CD106) зависит от АФК, продуцируемых NOX, митохондриями, XO, eNOS [29, 191]. Экспрессия

и активность эндотелиальных CYP стимулируется циклическим растяжением сосудов, гормонами, ингибиторами HMG-CoA редуктазы [13, 66], что обуславливает повышение как АФК, так и EDHF. Экспрессия CYP повышена при гипертензии и гиперхолестеринемии. Интересно отметить, что окисленные LDL (oxLDL) понижают уровень экспрессии семейства CYP2 в эндотелии посредством ПВ, которую производит NOX-4 и которая снижает экспрессию транскрипционного регулятора NF-1, связывающегося с промотором CYP [219]. Поскольку действие oxLDL сопряжено с поражением сосудов, блокада лектиноподобных рецепторов-1 к oxLDL (LOX-1) может оказаться действенным средством терапии в том числе за счет восстановления уровня активности CYP.

NO-синтазы – это гомодимерные оксидоредуктазы, в которых происходит перенос электронов с С-концевого редуктазного домена на N-концевой оксидазный домен. С редуктазным доменом связаны кофакторы FAD и FMN для переноса электронов от NADPH, с оксидазным доменом связана простетическая гемовая группа, тетрагидробиоптерин (BH₄), кислород и L-аргинин, также имеется сайт для связывания кальмодулина. Редуктазный домен по своей структуре напоминает CYP-ферменты, поэтому в случае «разобщения» NOS продуктом реакции является супероксид-анион вместо NO [190, 225]. BH₄ обеспечивает сопряжение двух процессов: восстановление молекулярного кислорода и окисление аргинина; кроме того, BH₄ обеспечивает стабильность димерной структуры NOS [115]. АФК окисляют TH₄ с образованием дигидробиоптерина, который конкурирует с TH₄ за связывание с NOS, в результате происходит разобщение и усиление производства АФК. Ключевым фактором разобщения является отношение TB₄ к общему биоптерину: при концентрации последнего выше 1,5 мкМ разобщенная eNOS может одновременно продуцировать NO и O₂⁻, которые взаимодействуют с образованием пероксинитрита, который также является разобщителем NOS [115].

Пероксидазы (КФ 1.11.1.x) широко распространены в мире животных и растений, они катализируют реакции одно- или двухэлектронного окисления разнообразных субстратов по общей схеме: ROOR' + донор электронов (2e⁻) + 2H⁺ → ROH + R'OH. Относительно недавно были определены филогенетические отношения основных линий эволюции гем-содержащих пероксидаз животных: миелопероксидазы (MPO), эозинофилпероксидазы (EPO), лактопероксидазы (LPO) и тиреоидной пероксидазы (TPO) [243]. На основании анализа

их распространенности и двух типов ферментативной активности, присущих этим белкам, было классифицировано новое суперсемейство пероксидаз-циклооксигеназ, представители которого были разделены на семь подсемейств, первое из которых включает в себя гемовые пероксидазы позвоночных. Ферменты этого подсемейства являются компонентами врожденного иммунитета (MPO, EPO, LPO), а также участвуют в биосинтезе гормонов (TPO, см. выше). Пероксидазы позвоночных состоят из одного (мономерные EPO и LPO) или двух (гомодимерные MPO и TPO) гликозилированных альфа-спиральных (преимущественно) доменов с одним автокаталитически модифицированным гемом в каждом домене [73].

Миелопероксидаза (MPO) содержится главным образом в азурофильных гранулах нейтрофилов. Продуктом активности этого фермента является хлорноватистая (гипохлористая) кислота HOCl, образующаяся из H₂O₂ и хлорид-аниона при окислительном (дыхательном) взрыве нейтрофилов. Кроме того, MPO с помощью H₂O₂ окисляет тирозин до тирозил-радикала, который, как и гипохлорит, цитотоксичен и служит для борьбы с бактериями и другими патогенами [94].

Лактопероксидаза (LPO) катализирует окисление ряда субстратов с помощью пероксида водорода по общей схеме: субстрат + H₂O₂ → окисленный субстрат + H₂O. Наиболее важное физиологическое значение имеет окисление тиоцианата (SCN⁻) и бромида (Br⁻) с образованием гипотиоцианата (OSCN⁻) и гипобромита (BrO⁻); среди побочных или промежуточных продуктов реакции окисления галидов обнаружен синглетный кислород и другие АФК [118, 175]. H₂O₂ образуется из глюкозы и кислорода в глюкозоксидазной реакции (КФ 1.1.3.4). Другим источником H₂O₂ для лактопероксидазы является DUOX1/2 [78].

В определенных условиях LPO может усиливать оксидативный стресс и токсическое действие H₂O₂, например, при избытке тиоцианата в реакционной среде [22]. Другой пример – окисление эстрадиола при раке груди [80]. Кроме того, LPO может активировать канцерогенное действие ароматических и гетероциклических аминов [85]. Эозинофилпероксидаза (EPO) – галопероксидаза, которая в качестве субстрата использует преимущественно бромид, необходимый эозинофилам в борьбе с многоклеточными патогенами (например, нематодами) и некоторыми бактериями (например, микобактериями туберкулеза) [153]. Это гетеродимер 71-77 кДа с гликозилированной (более тяжелой) и негликозилированной (менее тяжелой) субъединицами [213]. Избыточная актив-

ность ЕРО, NOX и повышенная генерация АФК эозинофилами наблюдается при некоторых заболеваниях, например при астме [160].

Циклооксигеназа (COX, простагландин-эндопероксид синтаза, простагландин H2-синтаза, КФ 1.14.99.1) имеет два активных центра: один обеспечивает собственно циклооксигеназную активность фермента, который использует в качестве субстрата арахидоновую кислоту (20:4, ω -6), преобразуя ее в 15-гидроперокси-PG-эндопероксид (простагландин G2, PGG2); во втором активном центре содержится гем, который обеспечивает пероксидазную активность фермента, превращая PGG2 в простагландин H₂ (PGH₂). Кроме того, «пероксидазный центр» COX создает тирозил-радикал в сайте Tyr385, благодаря которому возможен запуск и протекание циклооксигеназной реакции [86, 200]. При действии различных агонистов, субстратов, токсических веществ и канцерогенов (РМА, высокие концентрации глюкозы, АП, 2-аминобифенил) повышается экспрессия индуцибельной COX-2, причем степень экспрессии зависит от уровня АФК, который, в свою очередь, определяется активностью NADPH-оксидаз [30, 109]. Обратной связи, по-видимому, нет, т.е. на уровень АФК степень экспрессии COX-2 не влияет [122], хотя в одной из ранних работ были косвенные свидетельства такого влияния [99].

АФК – модуляторы активности ионных каналов и рецепторных агонистов. АФК – ключевые факторы патофизиологии кровеносных

сосудов. При остром воспалении, например при сепсисе, АФК в большом количестве образуются в активированных эндотоксинами клетках эндотелия и нейтрофилах [26, 75]. Обычно при этом снижается соотношение GSH:GSSG, повышается уровень GSSG и происходит мобилизация ионов Ca²⁺ из IP3-чувствительного пула ЭР [141]. Избыток АФК обуславливает структурное и функциональное повреждение эндотелия и может служить причиной гипертензии, диабета, воспаления и атеросклероза [63, 134]. В то же время АФК в низких концентрациях постоянно существуют в эндотелиальных и многих других клетках, не относящихся к профессиональным фагоцитам, благодаря наличию механизмов их дозированного производства при гипер- и гипогликемии, гипоксии, ишемии/реперфузии и рецепторной активации сигнальных путей различными агонистами. Перечень рецепторных агонистов, действие которых сопряжено с активацией и/или модуляцией производства АФК в различных клетках и тканях, приведен в таблице 2.

Во многих случаях АФК-индуцированной дисфункции эндотелия предшествует дисбаланс внутриклеточного кальция [46]. Внутриклеточные резервуары ионов кальция – ЭР, лизосомы, аппарат Гольджи, митохондрии. В эндотелиальных клетках ЭР содержит порядка 75 % ионов Ca²⁺, тогда как митохондрии ЭК содержат большую часть из всех других резервуаров ионов Ca²⁺, до 25 %, и, безусловно, вносят свой вклад в агонист-индуцирован-

Таблица 2

Рецепторные агонисты, действие которых сопряжено с активацией и/или модуляцией производства АФК

Лиганд/агонист	Тип клеток	Ссылки
Ангиотензин II (АП)	ГМК, эндотелий, кардиомиоциты, мезангиальные клетки	[15, 167, 185, 227]
Тромбин	Эндотелий, ГМК	[98, 168]
Серотонин	ГМК, CCL-39 (фибробласты китайского хомячка), нейроны	[60, 129 138]
Брадикинин	Эндотелий	[99, 209]
Эндотелин	Кардиомиоциты	[44]
Глутамат	Нейроны	[24, 194]
Ацетилхолин	Кардиомиоциты, эндотелий	[184, 239]
Гистамин	Эндотелий	[184]
Инсулин	Эпидидимальные жировые клетки, фибробласты	[25, 152]
PDGF	Эндотелий, фибробласты	[114, 125]
EGF	Кератиноциты, фибробласты	[83, 218]
FGF	Хондроциты, фибробласты	[139, 218]
TNF- α	L929 (клетки фибросаркомы мышей), фибробласты, ГМК, гепатоциты	[40, 96, 155, 193]
TGF- β	Эндотелий, фибробласты, ГМК	[107, 216, 218]
Интерлейкин-1	Эндотелий, фибробласты	[150, 155]
Интерферон- γ	Астроциты, микроглия THP-1 (клетки миеломоноцитарной лейкемии человека)	[70, 169]
Липополисахарид	Астроциты, микроглия, эндотелий THP-1 (клетки миеломоноцитарной лейкемии человека)	[2, 70]

ную мобилизацию кальция [146]. Ионы Ca^{2+} поступают в митохондрии через унипортер внутренней мембраны, а выходят через $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ обменник [146]. Митохондрии в ЭК представляют собой разветвленную сеть, тесно контактирующую с кальциевыми каналами ЭР и плазматической мембраны. Казалось бы, митохондрии эндотелия не должны иметь существенного значения для клеток, энергетические потребности которых примерно на $\frac{2}{3}$ покрываются анаэробным гликолизом [38]. Однако результаты экспериментов свидетельствуют о том, что митохондрии в клетках эндотелия выполняют важные регуляторные и сигнальные функции с участием АФК. Основные источники АФК при реперфузии – NADPH-оксидазы, ксантиноксидаза (ХО) и дыхательная цепь самих митохондрий [170]. При высоких концентрациях глюкозы (гипергликемия) митохондрии эндотелиальных клеток могут делиться, а при одновременной стимуляции клеток гистамином наблюдается продолжительное повышение уровня ионов Ca^{2+} в митохондриях [165]. Это явление может быть обусловлено структурно-функциональным разобщением митохондрий и ЭР и/или либо ингибированием митохондриального обменника NCX активными формами кислорода [113].

Роль митохондриального кальция в повреждении ЭК при реперфузии, как и в целом взаимосвязь кальция и АФК в клетках эндотелия, представляет собой важную, но малоизученную проблему. Имеющиеся данные позволяют предполагать, что при реоксигенации возникают осцилляции цитозольного кальция [102], они влияют на состояние митохондрий, усиливая генерацию АФК [23] и экзоцитоз адгезионных молекул [105], которые усугубляют дисфункцию эндотелия за счет инфильтрации лейкоцитов.

АФК могут активировать различные каналы эндоплазматического ретикулума и плазматической мембраны для входа кальция, что может вызвать кальциевую перегрузку, увеличить проницаемость и стать причиной гибели эндотелиальных и других клеток: это IP_3 - и рианодинчувствительные каналы, некоторые катионные каналы суперсемейства TRP [93, 103, 178, 203, 208]. В ряде работ показана возможность окислительной модификации InsP_3 -рецепторов благодаря наличию доступных тиоловых групп [21, 223]. Имеющиеся данные позволяют предположить, что тиоловые группы InsP_3 -рецепторов окисляет пероксид водорода, генерируемый NOX4. Срочные ответы сосудов на вазоактивные агонисты ацетилхолин и гистамин связаны с участием эндотелиальной NOX4 и обусловлены гиперполяризацией, индуцированной

H_2O_2 [184]. Природа эндотелий-зависимого гиперполяризующего фактора (EDHF) до конца не изучена, однако вряд ли можно сводить действие H_2O_2 к действию EDHF, поскольку H_2O_2 может ингибировать K^+ каналы, а феномен EDHF объясняют сочетанным действием ионов калия, метаболитов арахидоновой кислоты, натрийуретического пептида С-типа, первичной гиперполяризацией эндотелия и электротоническим взаимодействием эндотелиальных и гладкомышечных клеток посредством щелевых контактов [142]. Действительно, в одном из наиболее полноценных с методической точки зрения экспериментов было показано, что H_2O_2 потенцирует расширение сосудов в результате окислительной модификации InsP_3 -рецепторов и, как следствие, усиления мобилизации из ЭР ионов Ca^{2+} , которые открывают Ca^{2+} -зависимые калиевые каналы; при этом отмечено электротоническое взаимодействие эндотелия и ГМК [51]. В связи с этим важно подчеркнуть особое расположение NOX4 – в мембранах ЭР, т. е. вблизи InsP_3 -рецепторов [196]. Вероятно, на InsP_3 -рецепторы действует также H_2O_2 , образованный в результате дисмутации супероксид-аниона митохондриального происхождения, однако соответствующих экспериментальных данных мы не обнаружили.

Физиологическое действие NO связано не только с активацией гуанилатциклазы, но и с нитрозилированием рианодинчувствительных рецепторов 2-го типа (RyR2), что повышает вероятность открытия каналов саркоплазматического ретикулума. Этот эффект блокируется восстановителями тиоловых групп [203]. RyR2 имеет 89 остатков цистеина, 21 из которых находится в виде свободного тиола, подверженного редокс-модификации; степень активации RyR2 зависит от количества нитрозилированных остатков [236]. В организме рианодинового рецепторы сердца нитрозилированы конститутивно, причем при некоторых патологиях сердца степень конститутивного нитрозилирования изменена [207, 214]. Помимо нитрозилирования, цистеиновые остатки RyR подвержены окислительной модификации глутатионом и АФК, хотя близость расположения NOS и RyR свидетельствует о важности именно нитрозилирования в регуляции этих рецепторов [147].

АФК и вход кальция в клетки – неотъемлемые компоненты патогенетических процессов, связанных с нарушением барьерной функции эндотелия [17]. Влияние окислительного стресса на агонист-индуцированный вход ионов кальция в клетки эндотелия одним из первых исследовал Elliott, который установил, что брадикинин-индуцированный вход кальция подавляется на фоне действия

трет-бутилгидропероксида, при этом мобилизация Ca^{2+} из ЭР остается на прежнем уровне [56, 57]. Применение тапсигаргина или 2,5-ди-трет-бутилгидрохинона (BHQ) в отсутствие брадикинина дает тот же результат, что свидетельствует о непосредственном влиянии окислителя на каналы входа кальция или связующие звенья, но не на инозитольный метаболизм или IP3-рецепторы [59]. Не все АФК действуют одинаково на вход кальция. Так, NO, S-нитрозилирование и алкилирование тиоловых групп обуславливают повышение депозависимого входа кальция [62]. Этот эффект обусловлен взаимодействием NO и/или нитрозилированием/алкилированием TRP-каналов, но не IP3-рецепторов [224, 241]. Действие окислительного стресса (трет-бутилгидропероксида) сопряжено не только с влиянием на вход кальция, но также с усилением входа натрия и деполяризацией плазматической мембраны; было показано, что эти эффекты опосредованы GSSG [58, 120].

GSSG может реагировать с SH-группами белков, обуславливая так называемое глутатионилирование [74]. Установлено, что АФК нарушает баланс ионов кальция в клетках посредством образующегося GSSG, который глутатионилирует IP3-рецепторы, Ca^{2+} -АТФазу плазматической мембраны, а также неспецифические катионные каналы типа TRPC3 [141]. В случае глутатионилирования IP3-каналов происходит мобилизация Ca^{2+} из ЭР, тогда как глутатионилирование TRPC3 каналов обуславливает вход ионов Na^{+} (также частично ионов Ca^{2+}) и деполяризацию мембраны, что снижает движущую силу для входа ионов Ca^{2+} через другие каналы депозависимого входа кальция. В клетках эндотелия сосудов основными каналами депозависимого входа ионов Ca^{2+} в настоящее время считаются каналы TRPM2 (transient receptor potential melastatin 2, более ранние названия – TRPC7 и LTRPC2 (long transient receptor potential canonical 2) [158]). TRPM2 – неселективные кальциевые каналы, эндогенным лигандом которых является АДФ-рибоза (ADPr) [173]. Установлено, что активацию TRPM2 АДФ-рибозой потенцируют ионы Ca^{2+} , аденидинуклеотидфосфат никотиновой кислоты (NAADP) и H_2O_2 [119]. Например, при окислительном стрессе, индуцированном H_2O_2 , повышается уровень NAD, который метаболизируется в ADPr [230]. Одним из источников ADPr при окислительном стрессе являются митохондрии [172]. Кроме того, H_2O_2 может непосредственно стимулировать активность TRPM2 [162]. H_2O_2 и ADPr имеют разные сайты связывания с TRPM2, поэтому могут действовать независимо друг от друга [106]. Каналы TRPM2 рассматриваются в качестве сенсоров

окислительного стресса и редокс-статуса клеток, их активация повышает вероятность гибели клеток [89]. Установлено, что АФК-индуцированная гибель клеток опосредована входом ионов кальция через TRPM2-каналы в различных клетках: нейронах, эндотелиальных, гематопоетических и др. [69, 208, 244].

Как уже было отмечено выше, механизмы нарушения барьерной функции эндотелия могут различаться в зависимости от преобладающего или первичного вида АФК. Так, нитрирование цитоскелетных белков актина или бета-катенина пероксинитритом вызывает нарушение целостности эндотелия [117, 163]. Кроме того, в некоторых работах было показано, что в условиях ишемии/реперфузии вслед за фазовым увеличением супероксида и H_2O_2 может нарастать уровень гидроксил-радикала [7, 176], одной из основных мишеней которого является митохондриальный кардиолипид, фосфолипид, содержащий четыре остатка линолевой кислоты [132]. Гидроксил-радикал, как известно, образуется в реакции Фентона из H_2O_2 при наличии двухвалентного железа [72]. В связи с этим следует отметить экспериментальные данные, свидетельствующие о высвобождении железа из внутриклеточных депо [5]. Гидроксил-радикал окисляет липиды мембран с образованием альдегида 4-гидрокси-2-ноненаль (HNE), одного из наиболее активных продуктов перекисного окисления липидов [221]. HNE, в свою очередь, индуцирует образование АФК в митохондриях эндотелия, окисляет глутатион, сульфгидрильные группы белков, активирует COX2 [192]. HNE имеет три высокоактивные химические группы: альдегидную, двойную связь при 2-м углероде и гидроксильную группу при 4-м углероде. Инактивация HNE происходит посредством глутатион-S-трансфераз с образованием водорастворимого конъюгата GS-HNE [8, 189]. Важно отметить, что инактивация HNE сопряжена не просто с окислением GSH, но с необратимой инактивацией глутатиона, т. е. образующийся конъюгат является сильным ингибитором глутатион-S-трансферазы и должен быть удален из клетки, чтобы не мешать работе фермента и нейтрализации HNE. Транспорт конъюгата из клетки примерно на $\frac{3}{4}$ осуществляется белком RLIP76 (Ral-interacting GTPase activating protein также известен как Ral-связывающий белок 1, RALBP-1) [8, 202], оставшая часть выводится посредством белка MRP1 (Multidrug Resistance Protein 1) [189]. Таким образом, в результате выведения конъюгата GS-HNE становится меньше GSSG, неселективные каналы TRPC3 более не активируются и мембранный по-

тенциал не снижается, сохраняя или создавая условия для входа ионов Ca^{2+} в клетку через каналы TRPM2. В этих условиях агонисты, действующие через Gq-рецепторы, вызывают как мобилизацию, так и вход ионов Ca^{2+} , что служит причиной нарушения межэндотелиальных контактов и повышения проницаемости эндотелиального монослоя [33]. Кроме того, HNE обуславливает перестройку актинового цитоскелета и нарушение целостности эндотелиального монослоя посредством киназ ERK, JNK и p38 MAP [222]. Эти нарушения являются неспецифическими компонентами патогенеза самых разных заболеваний и критических состояний, таких как атеросклероз, ишемия/реперфузия, острый респираторный дистресс-синдром, высокогорный отек легких [177, 228].

Рецепторная модуляция уровня АФК и активности протеинкиназ. Многие сигнальные молекулы клеток чувствительны к редокс-модуляции, среди них фосфатидилинозитол-3-киназа (PI3K), c-Jun N-терминальная киназа (JNK), митоген-активируемая протеинкиназа (МАРК), апоптозная сигнал-регулирующая киназа-1 (Ask-1), фосфатазы тирозиновые и двойной специфичности, инозитолфосфатаза-2 с участком гомологии Src (SHP-2), транскрипционные факторы (например, ядерный фактор κB , NF κB и активаторный белок 1, AP-1) [19, 101, 112, 212].

РКС занимает одно из центральных мест в механизмах внутриклеточной сигнализации. Этот белок (семейство белков) имеет структурные особенности, позволяющие ему быть важнейшим сенсором АФК и редокс-состояния клетки [36]. Для активации различных изоформ РКС необходимо фосфорилирование по серину/треонину. В каталитическом домене имеется три сайта фосфорилирования [50]. Одной из активирующих киназ является фосфоинозитид-зависимая киназа-1 (PDK-1) [220], активность которой, в свою очередь, зависит от активности PI3-киназного пути: активаторами PDK-1 и РКС являются инозитольные фосфолипиды с фосфатом в 3-м положении: PI3P, PI(3,4)P2, PI(3,5)P2, PI(3,4,5)P3 [157]. В каталитическом домене имеются остатки цистеина, редокс-модификация которых ведет к инактивации РКС. В регуляторном домене РКС имеются две пары «цинковых пальцев», с которыми взаимодействуют активаторы РКС – диацилглицерол и форболовый эфир. В структуре «цинковых пальцев» есть два атома цинка и шесть остатков цистеина, что также обеспечивает чувствительность регуляторного домена к редокс-модификации [81]. Окислители изменяют конформацию «цинковых пальцев», в результате снимается аутоингибиро-

вание и РКС становится каталитически активной даже в отсутствии ионов Ca^{2+} и фосфолипидов [84]. Последствия такой активации зависят от типа клетки, изоформы РКС, источника АФК. Так, активация РКС δ форболовым эфиром (РМА) или H_2O_2 стимулирует аккумуляцию РКС δ в митохондриях, что может привести к апоптозу кератиноцитов и других клеток [135, 145]. В то же время аккумуляцию РКС ϵ в митохондриях кардиомиоцитов связывают с кардиопротекторным эффектом [9]. АФК митохондриального происхождения играют важную роль в сокращении сосудов малого круга в условиях гипоксии, что связано с повышением общего количества РКС и особенно изоформы РКС ϵ [183]. Интересно, что H_2O_2 может имитировать действие гипоксии в условиях нормоксии, повышая уровень РКС ϵ в клетках легочной артерии и даже в брызжеечной артерии, где гипоксия не оказывает такого эффекта.

Уровень АФК в эндотелиальных клетках повышается при циклическом растяжении сосудов [3]. Образующиеся АФК активируют эффекторы механотрансдукции, одним из которых является РКС α , которая фосфорилирует киназу фокальной адгезии (FAK) [4]. TNF α повышает уровень АФК в клетках эндотелия посредством РКС β -зависимой активации NOX; TNF α также индуцирует апоптоз эндотелия, но этот эффект не связан с генерацией АФК [43].

В свою очередь, различные изоформы РКС являются регуляторами сборки и активации изоформ NOX1-3, необходимым условием для этого является фосфорилирование субъединицы p47phox [90]. С-терминальная последовательность p47phox несет положительный заряд благодаря остаткам аргинина, поэтому в покоящихся клетках у нефосфорилированной p47phox $pI > 9$ [54]. При фосфорилировании происходит сдвиг pI в кислую сторону. Фосфорилирование p47phox осуществляют представители всех трех групп изоформ РКС: классические (РКС α , РКС β), новые (РКС δ , РКС ϵ) и атипичные (РКС ζ) [36]. Сигнальный комплекс РКС/NOX активирован при различных патофизиологических состояниях: нейродегенеративных заболеваниях [111], атеросклерозе [45], гипертонии [237], диабете [201], раке [136]. АФК являются посредниками в АП-индуцированной дисфункции эндотелия. Действие АП вызывает транслокацию NOX2 в плазматической мембране эндотелия и ее ассоциацию с аденозиновым рецептором A2A; одновременно происходит фосфорилирование p47phox, ERK1/2, p38 MAPK и Akt с последующей продукцией АФК и снижением эндотелий-зависимой релаксацией в ответ на ацетилхолин [215].

SCH58261, антагонист A2AR, снижает продукцию АФК и сохраняет реакцию на ацетилхолин. Установлено, что АП через рецепторы AT1 активирует РКС и PI3K с последующей генерацией АФК. Остается невыясненным вопрос о реципрокных отношениях и мишенях этих киназ, но обе они одинаково важны для генерации АФК, что было показано ранее на ГМК сосудов [197]. Результаты недавних экспериментов свидетельствуют о тесной взаимосвязи киназ с АТФ-чувствительными K(+)-каналами (K_{ATP}): прекращение механической стимуляции эндотелиального монослоя (shear stress) приводит к закрытию K_{ATP} , что обуславливает деполяризацию плазматической мембраны клеток, активацию PI3/Akt-киназного пути, протеинкиназы C, NOX2 и генерацию АФК [20, 28]. Гиперполяризация эндотелиальных клеток агонистом K_{ATP} кромакалимом препятствует деполяризации при остановке shear stress, фосфорилированию Akt, сборке и активации NOX2.

Помимо РКС, субъединицу p47phox фосфорилируют киназы PKA [52], MAP киназы ERK1/2 и p38 [53], казеинкиназа 2 (СКII) [166], киназа AKT [100], p21-активируемая киназа (PAK) [149], киназа, активируемая фосфатидной кислотой [226], киназа src [32].

В различных клетках имеются разные изоформы РКС, которые участвуют в разных сигнальных путях. По этой причине трудно описать общий механизм редокс-регуляции для всех изоформ РКС. Согласно одной из предложенных схем, в митохондриях происходит первичное повышение АФК, они активируют ту или иную изоформу РКС, которые усиливают генерацию АФК посредством активации NOX, что, в свою очередь, обуславливает активацию других или этих же изоформ РКС [36]. В зависимости от стимула развивается проапоптотический или антиапоптотический сигнальный каскад. Например, в эндотелиальных клетках редокс-активация MAP-киназ SAPK/JNK, ERK1/2, p38 связана с запуском апоптоза, тогда как редокс-активация NFkB или Akt/ASK1 способствует пролиферации клеток [71].

Для активации NOX4 и NOX5 сборка цитозольных субъединиц и регуляция со стороны РКС не требуются: NOX4 связана с интегральным мембранным белком p22phox и активирована конститутивно, тогда как регуляция NOX5 осуществляется главным образом динамикой ионов Ca^{2+} [148]. В то же время показана стимуляция NOX4 пероксидом водорода и диацилглицеролом (DG) при участии PLA2, но независимо от РКС [35]. H_2O_2 и DG имеют, вероятно, общий механизм активации PLA2, тогда как действие H_2O_2 и ара-

хидоновой кислоты имеет аддитивный характер, что свидетельствует о наличии параллельных путей активации NOX4. Продукты фосфолипазной реакции – как свободная жирная кислота типа арахидоновой, так и лизофосфолипид – могут быть также непосредственными индукторами активности NOX2 [16]. В связи с этим интересно отметить, что активностью фосфолипазы A_2 обладает пероксиредоксин 6 (Prdx6), основной функцией которого наряду с другими пероксиредоксинами считалась исключительно пероксидазная активность [65]. Prdx6 – это цитозольный фермент, который должен быть фосфорилирован MAP-киназами (Erk, p38), прежде чем связаться с липидами мембран и проявить активность PLA2 [27, 234]. Кроме того, Prdx6 является связующим звеном между РКС и NOX2 при действии АП на клетки эндотелия [27]. В отличие от других пероксиредоксинов, которые используют в качестве кофакторов тиоредоксин, Prdx6 непосредственно взаимодействует с GSH [188].

Добавление H_2O_2 в довольно больших концентрациях (0,5 mM) к ЭК приводит к истощению внутриклеточного глутатиона и активации MAP-киназ [130]. H_2O_2 и, возможно, другие АФК являются посредниками в действии oxLDL, активируя сигнальный путь через NFkB [233]. Классический (канонический) путь NFkB приводит к индукции генов и экспрессии белков, необходимых для воспалительного ответа, таких как Е-селектин, VCAM-1 и ICAM-1, COX-2, тканевый фактор, ингибитор активатора плазминогена 1, активатор плазминогена урокиназного типа. Частичное противодействие развитию воспалительного процесса может оказывать NO [181], а в более общем физиологическом плане – ламинарный ток крови [41]. Неканонический NFkB-путь может усиливать или модулировать классический путь. Так, взаимодействие лиганда TNFa с TNF-рецептором-1 не только активирует NFkB-сигналинг, но также через рибофлавинкиназу (RFK) активирует NADPH-оксидазу [240]. RFK связана с «доменом смерти» TNFR1 и субъединицей p22(phox), это взаимодействие весьма специфично и необходимо для производства АФК при действии TNFa, например, лиганды толл-подобных рецепторов (TLR) не оказывают такого действия. При дефиците RFK стимуляцию NADPH-оксидазы посредством TNFa восстанавливают экзогенные FMN или FAD. Установлено, что RFK является лимитирующим звеном в синтезе FAD, простетической группы NADPH-оксидазы, а действие TNFa через активацию RFK обуславливает встраивание FAD в комплекс NOX и ее активацию [240]. Таким об-

разом, экзогенный H_2O_2 может вызвать генерацию эндогенного H_2O_2 посредством NFkB, RfK и NOX.

Пролиферативное действие серотонина на ГМК легочной артерии опосредовано различными сигнальными путями: p42/44 ERK MAP-киназным [129], Rho-киназным [137] и PI3/PKB(Akt)/mTOR/p70S6K1-киназным, причем последний из указанных путей начинается с 5-HT_{2A} рецепторов и опосредован NOX-продуцированными АФК, поскольку блокируется кетансерином и миансерином, антиоксидантами (тирон, N-ацетилцистеин, экстракт гинкго билоба) и DPI [138]. Кроме того, действие серотонина на 5-HT_{1A} рецепторы ГМК сопряжено с митогенезом и активацией сигнального пути с участием АФК, его предполагаемый вид Giγ-NOX-ROS-Srk-ERK [128]. В пользу такого предположения свидетельствует участие АФК (источник – NOX4) в Src-зависимом фосфорилировании по тирозину киназы PDK-1 (3-phosphoinositide-dependent protein kinase-1) в ответ на действие АП, что обуславливает гипертрофию гломерулярных мезангиальных клеток (которые являются гомологами ГМК) [15]. Результаты более поздних исследований свидетельствуют о возможной роли киназы JNK во взаимодействии PI3- и MAP-киназных путей с участием АФК, поскольку активация JNK в ГМК легочной артерии наблюдается при активации 5-HT_{1A} и 2A рецепторов серотонина, не зависит от PI3K, но необходима для фосфорилирования и активации киназы Akt и ее мишени p70S6K1 [231]. По-видимому, киназа JNK является не мишенью, но эффектором АФК (источник которых – митохондрии) в результате окисления каталитически активного цистеина (с образованием сульфеновой кислоты) и как следствие – ингибирования фосфатаз MAP-киназ, что было показано в экспериментах с клетками печени [193]. Остается, однако, неясным, какова роль в генерации АФК митохондрий и NADPH-оксидаз при действии серотонина на ГМК. Данные о влиянии NOX4 на пролиферацию ГМК легочной артерии в условиях гипоксии и/или при действии TGF-β1 позволяют предполагать важную роль этого источника АФК [107].

Клетки эндотелия сосудов также экспрессируют серотониновые рецепторы. Баланс между 5-HT_{2A} рецепторами ГМК и 5-HT_{1B} рецепторами ЭК имеет большое значение в патогенезе заболеваний периферических артерий и диабета 2-го типа. В экспериментах *in vitro* показано, что серотонин стимулирует экспрессию и фосфорилирование eNOS, Akt, ERK1/2, а также формирование капилляроподобных структур на матри-

геле [108]. Кроме того, серотонин нейтрализует негативное действие высоких концентраций глюкозы на активность киназы Akt и формирование капилляроподобных структур, т.е. обладает ангиогенным действием посредством активации Akt. Действие серотонина *in vivo* имеет, однако, негативную окраску, но применение сарпогрелата, антагониста 5-HT_{2A} и 5-HT_{2B} рецепторов восстанавливает активацию Akt/eNOS пути в ЭК и кровотоков ишемизированных задних конечностей у диабетических мышей. Полагают, что стимуляция ангиогенеза и сосудорасширяющий эффект сарпогрелата обусловлены действием серотонина на 5-HT_{1B} и стимуляцией синтеза NO [108]. Роль АФК в действии серотонина на ЭК остается невыясненной.

Заключение

Итак, АФК – это ключевые факторы патофизиологии кровеносных сосудов. В то же время АФК в низких концентрациях постоянно существуют в эндотелиальных и многих других клетках, не относящихся к профессиональным фагоцитам, благодаря наличию механизмов их дозированного производства. Внутриклеточными источниками АФК являются митохондрии, пероксисомы, ксантиноксидаза, миелопероксидаза, разобоченная NO-синтаза, циклооксигеназы, липоксигеназы, цитохромы P450 и NADPH-оксидазы. Наиболее стабильной является H_2O_2 , сигнальное действие которой связано с посттрансляционной модификацией белков. Во многих случаях АФК-индуцированной дисфункции клеток предшествует дисбаланс внутриклеточного кальция. Многие сигнальные молекулы чувствительны к редокс-модуляции, среди них киназы, фосфатазы и транскрипционные факторы. Какие агонисты обеспечивают первичное возмущение внутриклеточного гомеостаза, каковы механизмы модуляции первичного возмущения, какова роль эндогенных и экзогенных источников АФК в нарушении гомеостаза клеток – все это важнейшие проблемы, решение которых позволит повысить эффективность диагностики сердечно-сосудистых заболеваний, профилактики и терапевтического вмешательства.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ткачук В. А. и др. // Биол. мембраны. 2012. Т. 29, № 1–2. С. 21–37.
2. Al Ghouleh I., Magder S. // Shock. 2008. Vol. 29. P. 553–559.
3. Ali M. H. et al. // Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol. 2004. Vol. 287. P. 486–496.
4. Ali M. H. et al. // Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol. 2006. Vol. 291. P. 38–45.

5. Al-Mehdi A. B. et al. // J. Exp. Biol. 1998. Vol. 201. P. 1203–1209.
6. Amaya Y. et al. // J. Biol. Chem. 1990. Vol. 265. P. 14170–14175.
7. Arroyo C. M. et al. // FEBS Lett. 1987. Vol. 221. P. 101–104.
8. Awasthi Y. C. et al. // Curr. Drug. Metab. 2007. Vol. 8, № 4. P. 315–323.
9. Baines C. P. et al. // Circ. Res. 2002. Vol. 8. P. 390–397.
10. Baldridge C. W., Gerard R. W. // AJP-Legacy. 1932. Vol. 103. P. 235–236.
11. Bedard K., Krause K. H. // Physiol. Rev. 2007. Vol. 87. P. 245–313.
12. Ben Mkaddem S. et al. // Cell Death Differ. 2010. Vol. 17, № 9. P. 1474–1485.
13. Bertrand-Thiebault C. et al. // J. Cardiovasc. Pharmacol. 2007. Vol. 49, № 5. P. 306–315.
14. Bhogal R. H. et al. // PLoS One. 2012. Vol. 7, № 1. e30867.
15. Block K. et al. // J. Biol. Chem. 2008. Vol. 283, № 35. P. 24061–24076.
16. Bostan M. et al. // J. Cell Mol. Med. 2003. Vol. 7. P. 57–66.
17. Boueiz A., Hassoun P. M. // Microvasc. Res. 2009. Vol. 77. P. 26–34.
18. Brand M. D. // Exp. Gerontol. 2010. Vol. 45. P. 466–72.
19. Brown D. I., Griendling K. K. // Free Radic. Biol. 2009. Vol. Med., № 47. P. 1239–1253.
20. Browning E. A. et al. // Annu. Rev. Physiol. 2012. Vol. 74. P. 403–424.
21. Bultynck G. et al. // Biochem. J. 2004. Vol. 381. P. 87–96.
22. Carlsson J. et al. // Infect. Immun. 1984. Vol. 44, № 3. P. 581–586.
23. Camello-Almaraz C. et al. // Am. J. Physiol. 2006. Vol. 291, № 5. P. C1082–1088.
24. Carriedo S. G. et al. // J. Neurosci. 2000. Vol. 20, № 1. P. 240–250.
25. Ceolotto G. et al. // Diabetes. 2004. Vol. 53. P. 1344–1351.
26. Cepinskas G., Wilson J. X. // J. Clin. Biochem. Nutr. 2008. Vol. 42. P. 175–184.
27. Chatterjee S. et al. // J. Biol. Chem. 2011. Vol. 286, № 13. P. 11696–11706.
28. Chatterjee S. et al. // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 2012. Vol. 302, № 1. P. H105–14.
29. Chen X., Andresen B. T., Hill M. et al. // Curr. Hypertens. Rev. 2008. Vol. 4, № 4. P. 245–255.
30. Chen C. C. et al. // Chem. Res. Toxicol. 2012. Vol. 25, № 3. P. 695–705.
31. Cheng J. J. et al. // Hypertension. 1998. Vol. 31. P. 125–130.
32. Chowdhury A. K. et al. // J. Biol. Chem. 2005. Vol. 27. P. 20700–20711.
33. Cioffi D. L. // Antioxid. Redox. Signal. 2011. Vol. 15, № 6. P. 1567–1582.
34. Clempus R. E. et al. // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2007. Vol. 27. P. 42–48.
35. Colston J. T. et al. // FEBS Lett. 2005. Vol. 579. P. 2533–2540.
36. Cosentino-Gomes D. et al. // Int. J. Mol. Sci. 2012. Vol. 13, № 9. P. 10697–10721.
37. Cui X. L. et al. // Placenta. 2006. Vol. 27. P. 422–431.
38. Culic O. et al. // Am. J. Physiol. 1997. Vol. 273, № 1. P. C205–213.
39. De D. X. et al. // Exp. Cell Res. 2002. Vol. 273. P. 187–196.
40. De Keulenaer G. W. et al. // Biochem. J. 1998. Vol. 329, № 3. P. 653–657.
41. Dekker R. J. et al. // Am. J. Pathol. 2005. Vol. 167. P. 609–618.
42. DelCarlo M., Loeser R. F. // Am. J. Physiol. Cell Physiol. 2006. Vol. 290. P. 802–811.
43. Deng B. et al. // J. Vasc. Res. 2012. Vol. 49. P. 144–159.
44. Deng W. et al. // Cardiovasc. Res. 2010. Vol. 88, № 1. P. 93–100.
45. Devaraj S. et al. // Atherosclerosis. 2009. Vol. 203. P. 67–74.
46. Dhalla N. S. et al. // J. Hypertens. 2000. Vol. 18. P. 655–673.
47. Dikalova A. E. et al. // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 2010. Sep. 299, № 3. P. H673–679.
48. Drummond G. R. et al. // Nat. Rev. Drug. Discov. 2011. Vol. 10, № 6. P. 453–471.
49. Dupuy C. et al. // J. Biol. Chem. 1999. Vol. 274. P. 37265–37269.
50. Duquesnes N. et al. // J. Mol. Cell. Cardiol. 2011. Vol. 51. P. 665–673.
51. Edwards D. H. et al. // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2008. Vol. 28, № 10. P. 1774–1781.
52. El Benna J. et al. // J. Biol. Chem. 1996. Vol. 15. P. 6374–6378.
53. El Benna J. et al. // Arch. Biochem. Biophys. 1996. Vol. 15. P. 395–400.
54. El Benna J. et al. // Exp. Mol. Med. 2009. Vol. 30. P. 217–225.
55. El Jamali A. et al. // Free Radic. Biol. Med. 2008. Vol. 44. P. 868–881.
56. Elliott S. J. et al. // J. Biol. Chem. 1989. Vol. 264. P. 3806–3810.
57. Elliott S. J., Schilling W. P. // Am. J. Physiol. 1991. Vol. 260. P. H549–556.
58. Elliott S. J., Schilling W. P. // Am. J. Physiol. 1992. Vol. 263. P. H96–H102.
59. Elliott S. J., Doan T. N. // Biochem. J. 1993. Vol. 292, № 2. P. 385–393.
60. Fang X. L. et al. // PLoS One. 2013. Vol. 8, № 1. e3142.
61. Faurschou M., Borregaard N. // Microbes. Infect. 2003. Vol. 5. P. 1317–1327.
62. Favre C. J. et al. // J. Biol. Chem. 1998. Vol. 273. P. 30855–30858.
63. Feletou M., Vanhoutte P. M. // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 2006. Vol. 291. P. H985–1002.
64. Fichtlscherer S. et al. // Circulation. 2004. Vol. 109. P. 178–183.
65. Fisher A. B. // Antioxid. Redox. Signal. 2011. Vol. 15, № 3. P. 831–844.
66. Fisslthaler B. et al. // Biochim. Biophys. Acta. 2003. Vol. 1619. P. 332–339.
67. Fleming I. // Circ. Res. 2001. Vol. 89. P. 753–762.
68. Fleming I. et al. // Circ. Res. 2001. Vol. 88. P. 44–51.
69. Fonfria E. et al. // J. Neurochem. 2005. Vol. 95. P. 715–723.
70. Franceschelli S. et al. // Molecules. 2011. Vol. 16, № 7. P. 5720–5734.
71. Frey R. S. et al. // Antioxid. Redox. Signal. 2009. Vol. 11. P. 791–810.

72. Fridovich I. // J. Exp. Biol. 1998. Vol. 201. P. 1203–1209.
73. Furtmüller P. G. et al. // Arch. Biochem. Biophys. 2006. Vol. 445. P. 199.
74. Gallogly M. M., Mieyal J. J. // Curr. Opin. Pharmacol. 2007. Vol. 7. P. 381–391.
75. Gandhirajan R. K. et al. // J. Clin. Invest. 2013. Vol. 25. P. 65647.
76. Garrido A. M., Griendling K. K. // Mol. Cell. Endocrinol. 2009. Vol. 302. P. 148–158.
77. Gavazzi G. et al. // FEBS Lett. 2006. Vol. 580. P. 497–504.
78. Geiszt M. et al. // FASEB J. 2003. Aug. 17, № 11. P. 1502–1504.
79. Geiszt M. et al. // J. Immunol. 2003. Vol. 171, № 1. P. 299–306.
80. Ghibaudi E. M. et al. // Redox Rep. 2000. Vol. 5, № 4. P. 229–235.
81. Giogi C. et al. // Antioxid. Redox Signal. 2010. Vol. 13. P. 1051–1085.
82. Giorgio M. et al. // Cell. 2005. Vol. 122, № 2. P. 221–233.
83. Goldman R. et al. // Adv. Exp. Med. Biol. 2007. Vol. 407. P. 289–293.
84. Gopalakrishna R., Jaken S. // Free. Radic. Biol. Med. 2000. Vol. 9. P. 1349–1361.
85. Gorlewska-Roberts K. M. et al. // Chem. Res. Toxicol. 2004. Vol. 17, № 12. P. 1659–1666.
86. Gupta K. et al. // J. Mol. Biol. 2004. Vol. 335, № 2. P. 503–518.
87. Ha Y. J. et al. // Exp. Mol. Med. 2011. Vol. 43, № 2. P. 101–110.
88. Han C. Y. et al. // J. Biol. Chem. 2012. Vol. 287, № 13. P. 10379–10393.
89. Hara Y. et al. // Mol. Cell. 2002. Vol. 9. P. 163–173.
90. Harrigan T. J. et al. // J. Neurochem. 2008. Vol. 106. P. 2449–2462.
91. Harada H. et al. // Arch. Biochem. Biophys. 2004. Vol. 423. P. 103–108.
92. Harris C. M., Massey V. // J. Biol. Chem. 1997. Vol. 272. P. 8370–8379.
93. Hecquet C. M. et al. // Circ. Res. 2008. Vol. 102. P. 347–355.
94. Heinecke J. W. et al. // J. Clin. Invest. 1993. Vol. 91, № 6. P. 2866–2872.
95. Helmcke I. et al. // Antioxid. Redox Signal. 2009. Vol. 11. P. 1279–1287.
96. Hennet T. et al. // Biochem. J. 1993. Vol. 289, № 2. P. 587–592.
97. Hilenski L. L. et al. // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2004. Vol. 24. P. 677683.
98. Holland J. A. et al. // Endothelium. 1998. Vol. 6. P. 113–121.
99. Holland J. A. et al. // J. Cell. Physiol. 1990. Vol. 143. P. 21–25.
100. Hoyal C. R. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2003. Vol. 29. P. 5130–5135.
101. Hsieh H. L., et al. // Antioxid. Redox. Signal. 2010. Vol. 13. P. 1829–1844.
102. Hu Q. et al. // Circulation. 2000. Vol. 102, № 20. P. 2541–2547.
103. Hu Q. et al. // J. Biol. Chem. 2000. Vol. 275. P. 15749–15757.
104. Hu T. et al. // Am. J. Physiol. Renal Physiol. 2005. Vol. 289. P. F816–F825.
105. Ichimura H. et al. // J. Clin. Invest. 2003. Vol. 111, № 5. P. 691–699.
106. Ishii M. et al. // Cell. Calcium. 2006. Vol. 39. P. 487–494.
107. Ismail S. et al. // Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol. 2009. Vol. 296, № 3. P. 489–499.
108. Iwabayashi M. et al. // Atherosclerosis. 2012. Vol. 220, № 2. P. 337–342.
109. Jaimes E. A. et al. // Am. J. Physiol. Renal. Physiol. 2010. Vol. 298, № 1. P. F125–132.
110. Jay D. B. et al. // Free Radic. Biol. Med. 2008. Vol. 45. P. 329–335.
111. Joglar B. et al. // J. Neurochem. 2009. Vol. 109. P. 656–669.
112. Jones D. P. // Am. J. Physiol. Cell. Physiol. 2008. Vol. 295, № 4. P. C849–868.
113. Jornot L. et al. // J. Cell Sci. 1999. Vol. 112, № 7. P. 1013–1022.
114. Kang S. W. // Cell. Mol. Life Sci. 2007. Vol. 64. P. 533–541.
115. Kar S., Kavdia M. // Free Radic. Biol. Med. 2011. Vol. 51, № 7. P. 1411–1427.
116. Kawahara T., Lambeth J. D. // Mol. Biol. Cell. 2008. Vol. 19. P. 4020–4031.
117. Knepler J. L. et al. // Am. J. Physiol. Cell. Physiol. 2001. Vol. 281. P. C1064–1075.
118. Kohler H., Jenzer H. // Free Radic. Biol. Med. 1989. Vol. 6, № 3. P. 323–339.
119. Kolisek M. et al. // Mol. Cell. 2005. Vol. 18. P. 61–69.
120. Koliwad S. K. et al. // J. Physiol. 1996. Vol. 491, № 1. P. 1–12.
121. Kraft R. et al. // Am. J. Physiol. Cell. Physiol. 2004. Vol. 286. P. C129–137.
122. Kunz A. et al. // J. Cereb. Blood Flow Metab. 2007. Vol. 27, № 3. P. 545–551.
123. Kuroda J. et al. // Genes. Cells. Vol. 10. P. 1139–1151.
124. Lambeth J. D. // Nat. Rev. Immunol. 2004. Vol. 4, № 3. P. 181–189.
125. Lange S. et al. // Cardiovasc. Res. 2009. Vol. 81. P. 159–168.
126. Lau D., Baldus S. // Pharmacol. Ther. 2006. Vol. 111. P. 16–26.
127. Lee N. K. et al. // Blood. 2005. Vol. 106. P. 852–859.
128. Lee S. L. et al. // Free Radic. Biol. Med. 1998. Vol. 24. P. 855–858.
129. Lee S. L. et al. // Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol. 1999. Vol. 277. P. 282–291.
130. Lee Y. J. et al. // J. Appl. Physiol. 2004. V. 96. N.2. P. 793–801.
131. Lee Y. M. et al. // Cell Signal. 2006. V. 18. P. 499–507.
132. Lesnefsky E. J., Hoppel C. L. // Biochim. Biophys. Acta. 2008. V. 1777. N.7-8. P. 1020–1027.
133. Leto T. L. et al. // Antioxid. Redox. Signal. 2009. Vol. 11. P. 2607–2619.
134. Li J. M., Shah A. M. // J. Biol. Chem. 2002. Vol. 277. P. 19952–19960.
135. Li L. et al. // Mol. Cell. Biol. 1999. Vol. 12. P. 8547–8558.
136. Lin R. Z. et al. // J. Cell. Physiol. 2011. Vol. 226. P. 1750–1762.
137. Liu Y. et al. // Circ. Res. 2004. Vol. 95. P. 579–586.

138. Liu Y., Fanburg B. L. // *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 2006. Vol. 34, № 2. P. 182–191.
139. Lo Y. Y., Cruz T. F. // *J. Biol. Chem.* 1995. Vol. 270. P. 11727–11730.
140. Looi Y. H. et al. // *Hypertension.* 2008. Vol. 51. P. 319–325.
141. Lock J. T. et al. // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2011. Vol. 300, № 2. P. H493–506.
142. Luksha L. et al. // *Atherosclerosis.* 2009. Vol. 202, № 2. P. 330–344.
143. Magder S. // *Crit. Care.* 2006. Vol. 10. P. 208.
144. Mahadev K. et al. // *Mol. Cell. Biol.* 2004. Vol. 24. P. 1844–1854.
145. Majumder P. K. et al. // *J. Biol. Chem.* 2000. Vol. 275. P. 21793–21796.
146. Malli R. et al. // *J. Biol. Chem.* 2005. Vol. 280, № 13. P. 12114–12122.
147. Martinez-Moreno M. et al. // *FEBS Lett.* 2005. Vol. 579. P. 3159–3163.
148. Martyn K. D. et al. // *Cell. Signal.* 2006. Vol. 18, № 1. P. 69–82.
149. Martyn K. D. et al. // *Blood.* 2005. Vol. 106. P. 3962–3969.
150. Matsubara T., Ziff M. // *J. Immunol.* 1986. Vol. 137. P. 3295–3298.
151. Matsuno K. et al. // *Circulation.* 2005. Vol. 112. P. 2677–2685.
152. May J. M., de Haen C. // *J. Biol. Chem.* 1979. Vol. 254. P. 2214–2220.
153. Mayeno A. N. et al. // *J. Biol. Chem.* 1989. Vol. 264, № 10. P. 5660–5668.
154. McNally J. S. et al. // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2003. Vol. 285. P. H2290–H2297.
155. Meier B. et al. // *Biochem. J.* 1989. Vol. 263. P. 539–545.
156. Miller E. W. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010. Vol. 107. P. 15681–15686.
157. Miyamae M. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1998. Vol. 95. P. 8262–8267.
158. Montell C. et al. // *Mol. Cell.* 2002. Vol. 9. P. 229–231.
159. Murdoch C. E. et al. // *Basic. Res. Cardiol.* 2011. Vol. 106, № 4. P. 527–538.
160. Nagata M. // *Curr. Drug. Targets. Inflamm. Allergy.* 2005. Vol. 4, № 4. P. 503–504.
161. Nakano Y. et al. // *Biochem. J.* 2007. Vol. 403. P. 97–108.
162. Naziroglu M., Luckhoff A. // *Neurochem. Res.* 2008. Vol. 33. P. 1256–1262.
163. Neumann P. et al. // *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* 2006. Vol. 290. P. L674–684.
164. Ohye H., Sugawara M. // *Exp. Biol. Med. (Maywood).* 2010. Vol. 235, № 4. P. 424–433.
165. Paltauf-Doburzynska J. et al. // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2004. Vol. 44, № 4. P. 423–436.
166. Park H. S. et al. // *Biochem. J.* 2001. Vol. 358. P. 783–790.
167. Park W. S. et al. // *Arch. Pharm. Res.* 2008. Vol. 31, № 10. P. 1291–1301.
168. Patterson C. E., Lum H. // *Endothelium.* 2001. Vol. 8. P. 75–105.
169. Pawate S. et al. // *J. Neurosci. Res.* 2004. Vol. 77. P. 540–551.
170. Pearlstein D. P. et al. // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2002. Vol. 22, № 4. P. 566–573.
171. Pedruzzi E. et al. // *Mol. Cell. Biol.* 2004. Vol. 24. P. 10703–10717.
172. Perraud A. L. et al. // *J. Biol. Chem.* 2005. Vol. 280. P. 6138–6148.
173. Perraud A. L. et al. // *Nature.* 2011. Vol. 471. P. 595–599.
174. Petry A. et al. // *Antioxid. Redox. Signal.* 2010. Vol. 13, № 4. P. 467–487.
175. Piatt J., O'Brien P. J. // *Eur. J. Biochem.* 1979. Vol. 93, № 2. P. 323–332.
176. Pietri S. et al. // *Eur. J. Biochem.* 1989. Vol. 186 (1–2). P. 163–173.
177. Poredos P. // *Clin. Appl. Thromb. Hemost.* 2001. Vol. 7. P. 276–280.
178. Poteser M. et al. // *J. Biol. Chem.* 2006. Vol. 281. P. 13588–13595.
179. Proctor P. // *Physiol. Chem. Phys.* 1972. Vol. 4, № 4. P. 349–360.
180. Proctor P., Reynolds E. // *Physiol. Chem. Phys. Med. NMR.* 1984. Vol. 16. P. 175–195.
181. Qian H. S. et al. // *Circulation.* 1999. Vol. 99. P. 2979–2982.
182. Quintero M. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2006. Vol. 103, № 14. P. 5379–5384.
183. Rathore R. et al. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2006. Vol. 351. P. 784–790.
184. Ray R. et al. // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2011. Vol. 31, № 6. P. 1368–1376.
185. Ren Z. et al. // *Cardiovasc. Res.* 2008. Vol. 77, № 1. P. 73–80.
186. Rhee S. G. et al. // *Free Rad. Biol. Med.* 2005. Vol. 38. P. 1543–1552.
187. Rhee S. G. // *Science.* 2006. Vol. 312. P. 1882–1883.
188. Ris-S S. G. et al. // *Free Radic. Biol. Med.* 2005. Vol. 38. P. 1543–1552.
189. Rudd L. P. et al. // *Chem. Biol. Interact.* 2011. Vol. 194, № 2–3. P. 113–119.
190. Sánchez A. et al. // *PLoS One.* 2012. Vol. 7, № 4. e36027.
191. Sasaki M. et al. // *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* 2003. Vol. 284. P. C422–C428.
192. Schaur R. J. // *Mol. Aspects. Med.* 2003. Vol. 24. P. 149–159.
193. Schwabe R. F., Brenner D. A. // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2006. Vol. 290, № 4. P. 583–589.
194. Sensi S. L. et al. // *Neuroreport.* 1999. Vol. 10. P. 1723–1727.
195. Segal A. W. // *Annu Rev. Immunol.* 2005. Vol. 23. P. 197–223.
196. Serrander L. et al. // *Biochimie.* 2007. Vol. 89. P. 1159–1167.
197. Seshiah P. N. et al. // *Circ. Res.* 2002. Vol. 91. P. 406–441.
198. Shiose A. et al. // *J. Biol. Chem.* 2001. Vol. 276. P. 1417–1423.
199. Smedlund K. et al. // *Cardiovasc. Hematol. Agents Med. Chem.* 2012. Vol. 10, № 3. P. 265–274.
200. Smith W. L. et al. // *Chem. Rev.* 2011. Vol. 111, № 10. P. 5821–5865.
201. Soetikno V. et al. // *Mol. Nutr. Food. Res.* 2011. Vol. 55. P. 1655–1665.
202. Spitz D. R. et al. // *Free Radic. Biol. Med.* 1991. Vol. 11, № 4. P. 415–423.

203. *Stoyanovsky D.* et al. // *Cell. Calcium*. 1997. Vol. 21. P. 19–29.
204. *Sturrock A.* et al. // *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* 2006. Vol. 290, № 4. P. L661–L673.
205. *Suh Y. A.* et al // *Nature*. 1999. Vol. 401. P. 79–82.
206. *Sumimoto H.* // *FEBS J.* 2008. Vol. 275. P. 3249–3277.
207. *Sun J.* et al. // *Biochemistry*. 2008. Vol. 47. P. 13985–13990.
208. *Sun L.* et al. // *PLoS One*. 2012. Vol. 7, № 8. e43186.
209. *Sundqvist T.* // *J. Cell. Physiol.* 1991. Vol. 148. P. 152–156.
210. *Suzuki Y.* et al. // *Sci. Rep.* 2012. Vol. 2. P. 896.
211. *Sylvester J. T.* et al. // *Physiol. Rev.* 2012. Vol. 92. P. 367–520.
212. *Tabet F.* et al. // *Circ. Res.* 2008. Vol. 103. P. 149–158.
213. *Ten R. M.* Et al. // *J. Exp. Med.* 1989. Vol. 16, № 5. P. 1757–1769.
214. *Terentyev D.* et al. // *Circ. Res.* 2008. Vol. 103. P. 1466–1472.
215. *Thakur S.* et al. // *J. Biol. Chem.* 2010. Vol. 285, № 51. P. 40104–40113.
216. *Thannickal V. J.* et al. // *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* 1993. Vol. 265. P. L622–L626.
217. *Thannickal V. J., Fanburg B. L.* // *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* 2000. Vol. 279, № 6. P. L1005–1028.
218. *Thannickal V. J.* et al. // *FASEB J.* 2000. Vol. 14, № 12. P. 1741–1748.
219. *Thum T., Borlak J.* // *Circ. Res.* 2004. Vol. 94. P. e1–e13.
220. *Toker A., Newton A. C.* // *Cell*. 2000. Vol. 2. P. 185–188.
221. *Uchida K.* // *Prog. Lipid. Res.* 2003. Vol. 42. P. 318–343.
222. *Usatyuk P. V., Natarajan V.* // *J. Biol. Chem.* 2004. Vol. 279. P. 11789–11797.
223. *Vais H.* et al. // *Biophys. J.* 2010. Vol. 99, № 2. P. 407–416.
224. *Rossum D. B. van* et al. // *J. Biol. Chem.* 2000. Vol. 275. P. 28562–28568.
225. *Verhaar M. C.* et al. // *Heart*. 2004. Vol. 90, № 5. P. 494–495.
226. *Waite K. A.* et al. // *J. Biol. Chem.* 1997. Vol. 13. P. 15569–15578.
227. *Wang W.* et al. // *J. Vasc. Res.* 2011. Vol. 48, № 1. P. 67–78.
228. *Ware L. B., Matthay M. A.* // *N. Engl. J. Med.* 2000. Vol. 342. P. 1334–1349.
229. *Waud W. R., Rajagopalan K. V.* // *Arch. Biochem. Biophys.* 1976. Vol. 172. P. 365–379.
230. *Wehage E.* et al. // *J. Biol. Chem.* 2002. Vol. 277. P. 23150–23156.
231. *Wei L.* et al. // *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* 2010. Vol. 298, № 6. P. 863–869.
232. *White C. R.* et al. // *PNAS*. 1996. Vol. 93. P. 8745–8749.
233. *Whitman S. C.* et al. // *Science*. 2006. Vol. 312. P. 1882–1883.
234. *Wu Y.* et al. // *Biochem. J.* 2009. Vol. 419. P. 669–679.
235. *Xia M.* et al. // *J. Thromb. Haemost.* 2010. Vol. 8, № 2. P. 397–406.
236. *Xu L.* et al. // *Science*. 1998. Vol. 279. P. 234–237.
237. *Yang J.* et al. // *Hypertension*. 2010. Vol. 55. P. 468–473.
238. *Yang L.* et al. // *Cell. Physiol. Biochem*. 2012. Vol. 30, № 5. P. 1287–1298.
239. *Yao Z.* et al. // *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* 1999. Vol. 277. P. 2504–2509.
240. *Yazdanpanah B.* et al. // *Nature*. 2009. Vol. 460. P. 1159–1163.
241. *Yoshida T.* et al. // *Nat. Chem. Biol.* 2006. Vol. 2. P. 596–607.
242. *Yoshihara A.* et al. // *Thyroid*. 2012. Vol. 22, № 10. P. 1054–1062.
243. *Zamocky M.* et al. // *Proteins*. 2008. Vol. 72. P. 589–605.
244. *Zhang W.* et al. // *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* 2006. Vol. 290. P. C1146–1159.
245. *Zweier J. L., Talukder M. A.* // *Cardiovasc. Res.* 2006. Vol. 70, № 2. P. 181–190.

Статья поступила 20.01.2014

Ответственный автор за переписку:

доктор биологических наук
Гончаров Николай Васильевич,
 заведующий лабораторией
 сравнительной биохимии ферментов
 ФГБУН «Институт эволюционной физиологии
 и биохимии им. И. М. Сеченова РАН»

Адрес для переписки:

Н. В. Гончаров, 194223, Санкт-Петербург,
 пр. Мориса Тореза, 44
 Тел.: +7 921-905-89-10
 E-mail: ngoncharov@gmail.com

Corresponding author:

Dr. Bio. Sci.
Nikolay V. Goncharov,
 head of laboratory
 of comparative biochemistry of enzymes
 of FSBSI Sechenov Institute of Evolutionary Physiology
 and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences

Correspondence address:

N. V. Goncharov, 44, Maurice Thorez Pr.,
 194223, Saint Petersburg
 Tel.: +7 921-905-89-10
 E-mail: ngoncharov@gmail.com