



Фотосенсибилизированные реакции окислительного повреждения биомолекул: роль в генотоксических и цитотоксических процессах

Г.Я. Фрайкин

*Кафедра биофизики, биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Россия, 119234, г. Москва, ул. Ленинские горы, д. 1, стр. 12
e-mail: gfraikin@yandex.ru*

Фотосенсибилизированные реакции окисления биомолекул, таких как липиды, белки и ДНК, инициируют цитотоксические и генотоксические процессы, которые опосредуются эндогенными сенсибилизаторами при действии на живые системы ультрафиолетового излучения А-области (УФА, 320–400 нм). Фотосенсибилизированные окислительные реакции зависят от кислорода, и по первичному механизму их разделяют на тип I и тип II. Реакции типа I вовлекают перенос электрона между фотовозбужденным сенсибилизатором и биомолекулой с формированием радикальных состояний. При взаимодействии катион-радикала биомолекулы с кислородом (O_2) образуются конечные продукты ее окисления, а перенос электрона между анион-радикалом сенсибилизатора и O_2 генерирует супероксидный анион-радикал ($O_2^{\bullet-}$) с последующим образованием H_2O_2 и гидроксильного радикала ($\bullet OH$), обладающего высокой реакционной активностью. В отличие от радикального механизма реакций типа I, первичный механизм реакций типа II вовлекает перенос энергии от фотовозбужденного сенсибилизатора к O_2 , что приводит к формированию синглетного кислорода (1O_2 , $^1\Delta_g$), который намного более реакционноспособен в отношении окисления биомолекул, чем O_2 . Современные представления о механизмах начальных стадий реакций типа I и типа II и их вовлечения в окислительную деградацию ДНК, белков и липидов подробно изложены в настоящем обзоре. Также рассмотрены сенсибилизирующие свойства птеринов, рибофлавина и протопорфирина IX с характерными особенностями действия каждого из этих фотосенсибилизаторов. Значительное внимание уделено процессам сенсибилизированного повреждения ДНК и обсуждению роли различных фотопродуктов ДНК в инициации генотоксических процессов, включая канцерогенез в коже человека.

Ключевые слова: фотосенсибилизированные реакции, окислительная деградация биомолекул, фотопродукты ДНК, генотоксические процессы, клеточные фотосенсибилизаторы, фотоны УФА

DOI: 10.55959/MSU0137-0952-16-79-3-1

Принятые сокращения:

6-4PP (pyrimidine 6-4 pyrimidone photoproduct) – пиримидин 6-4 пиримидоновый фотопродукт;

8-oxodG (8-oxo-dihydroguanine) – 8-оксодигидрогуанин;

ARE – антиоксидант-реагирующий элемент (antioxidant response element)

Bip (biopterin) – биоптерин;

Cap (6-carboxypterin) – 6-карбоксихиптерин;

CPD (cyclobutane pyrimidine dimer) – циклобутановый пиримидиновый димер;

For (6-formylpterin) – 6-формилптерин;

H_4 Bip (5,6,7,8-tetrahydrobiopterin) – 5,6,7,8-тетрагидробиптерин;

Nep (neopterin) – неоптерин;

NER (nucleotide excision repair) – эксцизионная репарация нуклеотидов;

Nrf2 (nuclear factor-erythroid 2 p45-related factor 2) – ядерный фактор эритроидного происхождения 2;

Ptr (pterin) – птерин;

XPC (xeroderma pigmentosum complementation group C) – пигментная ксеродерма группы C;

АФК – активные формы кислорода;

МДА – малоновый диальдегид;

НЖК – ненасыщенные жирные кислоты;

ПФОЛ – перекисного фотоокисления липидов;

УФА/УФВ – ультрафиолет А-области (320–400 нм)/ультрафиолет В-области (290–320 нм).

Введение

Ультрафиолетовое излучение (УФ-излучение) солнца индуцирует в биомолекулах клеточных структур фотохимические деструктивные реакции, которые могут приводить к развитию цитотоксических эффектов, мутагенеза и канцерогенеза. УФ-излучение В-области (УФВ, 290–320 нм) вызывает повреждения в молекулах ДНК и белков за счет прямого поглощения фотонов. УФ-излучение А-области (УФА, 320–400 нм) индуцирует формирование дефектов в ДНК, а также в белках и липидах мембран преимущественно путем инициации фотосенсибилизированных окислительных реакций, известных как фотодинамические реакции. В таких реакциях фотовозбужденный сенсибилизатор может либо взаимодействовать с молекулой биосубстрата, иницируя перенос электрона с образованием радикальных интермедиатов, реагирующих затем с O_2 , либо вначале передавать энергию к O_2 , переводя его в синглетную возбужденную форму 1O_2 ($^1\Delta_g$), которая является сильным окислителем. В конечном итоге эти процессы приводят к окислительному повреждению ДНК, белков и липидов [1].

Из двух видов солнечного УФ-излучения, проникающего в биосферу, более сильное повреждающее действие на живые системы оказывают высокоэнергетичные фотоны УФВ. Их значение с точки зрения риска индукции канцерогенеза в коже человека и клеточной смерти у растений возрастает в связи с повышением уровня излучения УФВ в биосфере вследствие расщепления стратосферного озона [2, 3]. ДНК – одна из критических молекулярных мишеней в клеточных структурах при действии УФВ. Основными хромофорами ДНК являются азотистые основания; при этом квантовые выходы фотохимических реакций пиримидиновых оснований на порядок выше, чем пуриновых. Поглощение фотонов основаниями ДНК приводит к образованию их электронно-возбужденных синглетных и триплетных состояний. В исследованиях последнего времени с применением фемтосекундной спектроскопии изучены процессы релаксации возбужденных состояний оснований, предшествующие фотохимическим реакциям. Применявшиеся ранее для объяснения УФ-индуцированной реакционной активности ДНК термины «синглет» или «триплет» детализировались несколькими возбужденными состояниями, такими как pl^* , pl^* , ol^* и экситоны, заселяемые непосредственно при поглощении фотона, а далее они переходят в бирадикальные состояния и состояния с переносом заряда. Показано также, что при фотовозбуждении между основаниями в ДНК имеет место перенос заряда и энергии [4].

Фотоны УФВ индуцируют в ДНК образование двух главных типов фотопродуктов – циклобутановых пиримидиновых димеров (cyclobutane

pyrimidine dimers, CPDs) и пиримидин (6-4) пиримидиновых фотопродуктов (pyrimidine 6-4 pyrimidone photoproducts, 6-4PPs) [2, 5]. Оба типа дефектов формируются соседними основаниями пиримидинов в одной цепи ДНК. В CPD циклобутановое кольцо формируется за 1 пс вследствие разрыва 5–6-двойных связей оснований и образования между пиримидинами двух ковалентных связей. В 6-4PP формируется сложная химическая структура, где атомы кислорода и водорода одного основания перенесены к другому основанию и между ними образована одинарная ковалентная связь. Формированию одинарной связи предшествует стадия циклизации между связью C5–C6 пиримидина и C4 карбонильной группы тимина или иминогруппы цитозина, а далее образующиеся нестабильные продукты циклизации реорганизуются в 6-4PP. Сложный механизм процесса формирования 6-4PP требует более длительного времени (4 мс) для его завершения, и квантовый выход 6-4PP ($\Phi \approx 3 \cdot 10^{-3}$) примерно в семь раз меньше квантового выхода CPD ($\Phi \approx 2 \cdot 10^{-2}$). Кроме того, 6-4PP, в отличие от CPD, поглощает фотоны в области УФА (320 нм), что вызывает переход 6-4PP при воздействии УФА в Dewar-изомер в быстрой (130 пс) реакции циклизации между N3 и C6 в структуре пиримидинового кольца 6-4PP [5]. Биологические эффекты УФВ (цитотоксичность, мутагенез, канцерогенез) связаны в основном с образованием в ДНК CPDs, на долю которых приходится до 80% всех повреждений, остальные (около 20%) составляют 6-4PPs. Биологическая эффективность реакций повреждения клеточной ДНК при действии УФА на 2–4 порядка ниже, чем при облучении УФВ. Вместе с тем интенсивность УФА в биосфере в 20 раз выше интенсивности УФВ, и поэтому фотоны УФА тоже вносят вклад в генотоксические и цитотоксические процессы – в основном с участием фотосенсибилизаторов [5, 6].

К настоящему времени установлено, что оба компонента УФ-излучения солнца (УФВ и УФА) вовлекаются в этиологию основных типов рака кожи человека. К ним относятся базальная клеточная карцинома и меланома; они происходят из кератиноцитов и меланоцитов соответственно. В ранних исследованиях была выявлена причинная связь между облучением УФВ и немеланомными типами рака кожи с характерными мутационными признаками, такими как транзиции C→T в дипиримидиновых сайтах ДНК и CC→TT-тандемные замены оснований в генах p53. Эти мутации вызваны главным образом CPDs, которые репарируются в клетках системой эксцизионной репарации нуклеотидов (nucleotide excision repair, NER) медленнее, чем 6-4PPs [2]. Более быстрая репарация 6-4PPs обусловлена тем, что 6-4PPs сильнее нарушают структуру спирали ДНК и поэтому эффективнее опознаются и устраняются

NER [7]. Выяснению роли УФА в процессах канцерогенеза способствовали эпидемиологические исследования. Были получены свидетельства того, что долгосрочные и повторяющиеся облучения искусственным УФА от ламповых источников для загара представляют большой фактор риска индукции меланомы у людей. Также повышенный риск возникновения меланомы наблюдался у пациентов при фотохимической терапии псориаза, включающей комбинированное действие сенсibilизатора псоралена и УФА. Таким образом, стало ясно, что УФА не является фотохимически/биологически неактивным и индуцирует сенсibilизированную генерацию активных форм кислорода (АФК), которые, как показано, вовлекаются в канцерогенез в коже человека [5].

УФА намного эффективнее УФВ в окислительном повреждении оснований ДНК в изолированных клетках и коже человека [5]. Индуцированное УФА формирование 8-оксодигидрогуанина (8-oxo-dihydroguanine, 8-oxodG) обусловлено в основном селективным окислением гуанина синглетным кислородом (1O_2), генерируемым посредством механизма фотосенсibilизации типа II. Меньший вклад в формирование 8-oxodG вносит гидроксильный радикал ($\cdot OH$), который может образовываться после начальной сенсibilизированной генерации супероксидного анион-радикала кислорода ($O_2^{\cdot -}$) по механизму фотосенсibilизации типа I. Следует отметить, что 8-oxodG в ДНК является наиболее часто образующимся продуктом модификации азотистых оснований и одним из ключевых биомаркеров окислительного повреждения нуклеиновых кислот, опосредованных генерацией АФК. Повышение уровней содержания 8-oxodG и его аналогов наблюдается при многих патологических состояниях и воздействиях на живые системы экзогенных факторов. Помимо 8-oxodG – главного продукта фотоокислительных реакций в ДНК – УФА вызывает образование окисленных пиримидинов и одноцепочечных разрывов, а также независимое от O_2 формирование CPDs, содержащих преимущественно основания тимина [1]. Эти CPDs формируются путем триплет-триплетного переноса энергии от эндогенных фотосенсibilизаторов к основаниям тимина ДНК [8, 9]. В соответствии с таким сложным спектром повреждений спектры мутаций, индуцированных УФА в клеточной ДНК, представлены транзигциями G→A, обусловленными, по-видимому, CPDs, и трансверсиями G→T, вызванными, вероятно, 8-oxodG [2]. Трансверсии возникают в процессе репликации в результате спаривания окисленного гуанина не с цитозином, а с аденином. В следующем цикле репликации напротив аденина располагается тимин, что приводит к замене гуанина на тимин в нуклеотидной цепи.

В настоящем обзоре изложены современные представления о молекулярных механизмах фор-

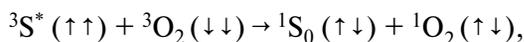
мирования дефектов в ДНК, а также в белках и липидах посредством фотосенсibilизированных окислительных реакций типа I и типа II. Особое внимание уделено процессам окислительного повреждения ДНК, которые инициируются АФК, генерируемыми эндогенными фотосенсibilизаторами, такими как птерины, рибофлавин, протопорфирин IX. Проанализирована роль различных фотопродуктов ДНК в инициации генотоксических процессов, включая канцерогенез в коже человека при действии УФА.

Фотосенсibilизированные окислительные реакции повреждения биомолекул в модельных системах

В процессах сенсibilизированного окисления биомолекул O_2 может на начальной стадии реагировать с фотовозбужденным сенсibilизатором или участвовать на вторичных стадиях в реакциях с радикалами, возникающими от сенсibilизатора либо биомолекулы [1]. Как известно, поглощение фотона молекулой сенсibilизатора в основном синглетном состоянии S_0 приводит к образованию первого возбужденного синглетного состояния S_1 с относительно коротким временем жизни (пс–нс). Безызлучательная дезактивация S_1 -состояния может осуществляться посредством как внутренней конверсии электронной энергии, так и интеркомбинационной конверсии в триплетное состояние T_1 при обращении спина электрона. Одно из следствий внутренней конверсии – возможная диссоциация молекулы сенсibilизатора с формированием радикалов, в том числе анион-радикала $O_2^{\cdot -}$, и инициация фотосенсibilизированной реакции типа I. Возникающее в процессе интеркомбинационной конверсии T_1 -состояние сенсibilизатора значительно более долгоживущее (мкс–мс), так как оба электрона имеют параллельные спины, и это способствует его вовлечению в бимолекулярные процессы. Один из важных из них – перенос энергии на O_2 с генерацией 1O_2 ($^1\Delta_g$) – может вызывать фотосенсibilизированные реакции типа II. Возможны также и другие взаимодействия с O_2 , поскольку T_1 -состояние из-за наличия двух неспаренных электронов обладает свойством бирадикала. Таким образом, благодаря длительному времени жизни и реакционной активности T_1 -состояние играет главную роль в фотосенсibilизации. Перед рассмотрением механизмов фотосенсibilизированных окислительных реакций и принципов их разделения на тип I и тип II ниже приведены основные сведения о свойствах кислорода в триплетном состоянии 3O_2 , синглетного кислорода 1O_2 и супероксида кислорода $O_2^{\cdot -}$.

У молекулы кислорода на двух изоэнергетических орбиталях $^1\pi_g$ -энергетического уровня два электрона могут находиться в трех разных конфигурациях: (1) по одному электрону с параллельными спинами на каждой $^1\pi_g$ -орбитали. Эта конфигурация характеризует триплетное состояние

кислорода (3O_2 , $^1\Sigma_g^-$); (2) оба спаренных электрона с противоположными спинами на одной и той же $1\pi_g$ -орбитали (синглетное состояние 1O_2 , $^1\Delta_g$); (3) электроны с противоположными спинами, но расположенные на двух разных $1\pi_g$ -орбиталях (синглетное состояние 1O_2 , $^1\Sigma_g^+$). В основном (триплетном) состоянии кислород обладает бирадикальным свойством, ответственным за присущую ему способность вступать в реакции окисления, а также принимать электроны с переходом в химически активный супероксидный анион-радикал $O_2^{\bullet-}$ с низкой энергией активации (0,16 эВ). В обоих синглетных состояниях кислорода требуется обращение спина, но у $^1\Delta_g$ более низкая энергия активации (0,98 эВ). Кроме того, у этого состояния отсутствует радикальное свойство, скорее $^1\Delta_g$ проявляет свойство молекулы с двойной связью; время жизни $^1\Delta_g$ в воде ≈ 2 мкс. Время жизни в воде синглетного состояния $^1\Sigma_g^+$ с более высокой энергией (1,6 эВ) значительно короче ($\approx 0,1$ нс); поэтому оно практически не вовлекается в фотодинамические процессы. Оба синглетных состояния генерируются посредством переноса энергии и инверсии спина, но не путем оптических переходов из триплетного состояния, которые в обоих случаях запрещены [10]. Механизм фотосенсибилизированной генерации 1O_2 ($^1\Delta_g$) в большинстве случаев основан на переносе энергии от возбужденной в триплетное состояние молекулы сенсibilизатора ($^3S^*$) на кислород (3O_2). В соответствии с принципом сохранения суммарного спина системы реакцию можно представить в следующем виде:



где 1S_0 – сенсibilизатор в основном состоянии. У наиболее распространенной группы сенсibilизаторов, действующих по такому механизму, триплетные уровни выше, чем синглетный уровень кислорода.

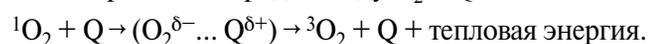
Синглетный кислород 1O_2 ($^1\Delta_g$) может быть дезактивирован молекулами-тушителями (Q) в трех основных реакциях:

– тушение посредством переноса энергии от 1O_2 на низколежащие триплетные уровни молекул, не способных дезактивироваться путем обратного переноса энергии на 3O_2 :

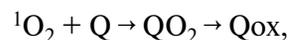


По такому механизму происходит тушение 1O_2 β -каротином – эффективным стабильным тушителем, присутствующим, например, в растительных клетках вблизи хлорофилла, который в отсутствие β -каротина мог бы окисляться синглетным кислородом, генерируемым переносом энергии от триплетного хлорофилла на кислород;

– тушение в результате образования комплексов с переносом заряда между O_2 и Q:



Такой механизм предложен, например, для эффективного тушителя 1O_2 азид натрия (NaN_3);
– тушение вследствие окисления молекул-тушителей:



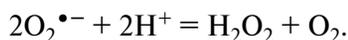
где QO_2 – первичный нестабильный пероксид, образуемый при взаимодействии Q с 1O_2 , Qox – конечный продукт окисления молекулы. Не исключено, что формированию пероксида предшествует стадия образования комплекса с переносом заряда.

Первые два из перечисленных процессов обычно называют физическим тушением 1O_2 , а процесс окисления молекул – химическим тушением, которое в живых клетках лежит в основе опосредованных 1O_2 реакций окислительной дегградации биологически важных молекул и может приводить к фотодинамическим эффектам. Различные типы этих реакций определяются характерным свойством 1O_2 – наличием в молекуле двойной связи. При взаимодействии с конъюгированными системами биомолекул, такими как аминокислоты (гистидин, триптофан) белков и гуанин ДНК, 1O_2 вступает с ними в реакцию типа Дильса–Альдера (Diels–Alder type reaction) с формированием первичных нестабильных эндопероксидов. В так называемых новых реакциях (ene reactions) 1O_2 присоединяется к ненасыщенным ацильным цепям фосфолипидов, вызывая образование гидропероксидов [10].

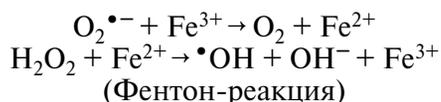
Как отмечено выше, реакции фотосенсибилизированного окисления биомолекул по механизму первичного процесса разделяют на тип I и тип II [11].

Общая характеристика фотосенсибилизированных окислительных реакций типа I и типа II. Механизм реакций типа I инициируется переносом электрона между фотовозбужденным сенсibilизатором (S^*) и молекулой биосубстрата (M), в результате чего образуется пара радикалов: анион-радикал $S^{\bullet-}$ или его протонированная форма SH^{\bullet} и катион-радикал $M^{\bullet+}$ или его депротонированная форма M^{\bullet} (рис. 1, реакция 1). В альтернативной первичной бимолекулярной реакции одноэлектронное восстановление O_2 фотовозбужденным сенсibilизатором приводит к формированию супероксидного анион-радикала $O_2^{\bullet-}$, который находится в равновесии со своей протонированной формой HO_2^{\bullet} , и катион-радикала $S^{\bullet+}$ или его депротонированной формы S^{\bullet} (рис. 1, реакция 2). Супероксидный анион-радикал – это ион молекулы кислорода с одним неспаренным электроном. После первичного одноэлектронного окисления молекулы биосубстрата (реакция 1) оба формируемых радикала участвуют в нескольких последующих реакциях. Так, анион-радикал фотосенсибилизатора реагирует с O_2 , вследствие чего происходит регенерация сенсibilизатора и образуется $O_2^{\bullet-}$ (реакция 4). Общепринято, что этот процесс –

главный источник $O_2^{\bullet-}$ в фотосенсибилизированных реакциях, и он намного более значимый, чем прямое восстановление O_2 возбужденным сенсибилизатором (реакция 2). В реакции диспропорционирования $O_2^{\bullet-}$ может образовываться H_2O_2 :



Как и $O_2^{\bullet-}/HO_2^{\bullet}$, H_2O_2 не проявляет значительной реакционной активности в отношении большинства биомолекул. Однако H_2O_2 может мигрировать по всей клетке и вызывать в присутствии Fe^{2+} протекание Фентон-реакции – одной из двух реакций Хабера–Вайса:



Высокорекционноспособный $\bullet OH$ -радикал, образующийся в ходе этой реакции, способен реагировать в месте генерации с биомолекулами посредством присоединения к двойным связям и/или отрыва атомов водорода. Обе реакции приводят к образованию нейтральных радикалов молекул (M^{\bullet}) – вероятных предшественников пероксильных радикалов (MOO^{\bullet}), возникающих при взаимодействии M^{\bullet} с O_2 . Процесс завершается окислительным повреждением молекул. Катион-радикал молекулы субстрата ($M^{\bullet+}$), который формируется в реакции 1, после депротонирования может подвергаться гидратации с образованием $M^{\bullet}-OH$. В дальнейшей реакции этой формы с O_2 путем присоединения либо одноэлектронного окисления образуются окисленные и/или оксигенированные продукты (MO_k) [1].

Относительно фотосенсибилизированных реакций типа I можно сделать следующие общие замечания. Эти реакции протекают с наибольшей эффективностью при высокой концентрации мо-

лекул субстрата и низкой концентрации O_2 , поскольку O_2 является сильным конкурентом молекулы субстрата за взаимодействие с триплетом сенсибилизатора. Формирование нековалентных комплексов между сенсибилизатором и субстратом до облучения увеличивает вероятность реакций типа I из-за их близости. Наиболее эффективно деградируют по механизму типа I те молекулы биосубстрата, которые легко окисляются.

В отличие от радикального механизма реакций типа I, первичный механизм реакций типа II вовлекает перенос энергии от возбужденных в триплетное состояние сенсибилизаторов к растворенному кислороду, который находится в своем основном триплетном состоянии 3O_2 (рис. 1, реакция 3). Это приводит к образованию синглетного молекулярного кислорода 1O_2 ($^1\Delta_g$) в результате обращения спина одного из двух неспаренных электронов у 3O_2 . Разница энергий между основным (триплетным) и синглетным состояниями кислорода составляет $94,2 \text{ кДж моль}^{-1}$ ($0,98 \text{ эВ}$) и соответствует переходу в инфракрасной области (около 1270 нм). Перенос энергии от сенсибилизаторов в триплетном состоянии на кислород с переводом его в синглетное возбужденное состояние показан прямым методом измерения фотосенсибилизированной люминесценции 1O_2 при 1270 нм [12].

Фотосенсибилизированные реакции окисления ДНК, белков и липидов. Чувствительность отдельной биомолекулы к сенсибилизированному окислительному повреждению зависит от ее структуры, свойств фотосенсибилизатора и условий протекания реакций, в том числе от pH среды и концентрации реагирующих молекул. В большинстве случаев фотосенсибилизированные окислительные реакции в биомолекулах имеют достаточно сложный характер, поскольку часто

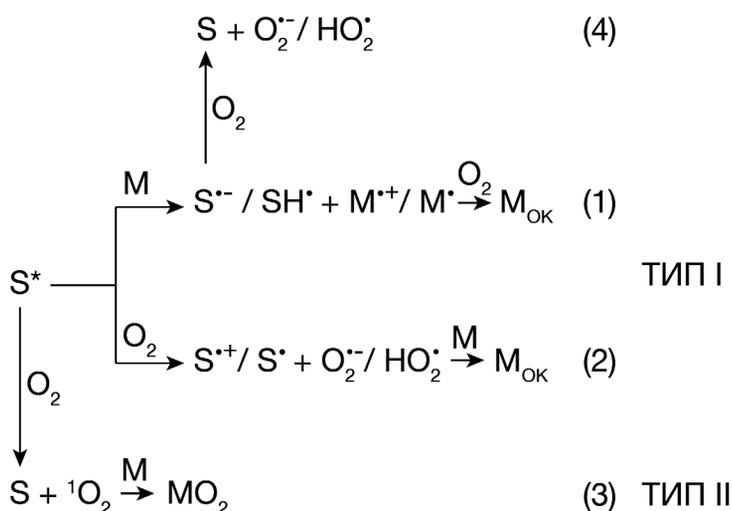


Рис. 1. Сенсибилизированные окислительные реакции типа I и типа II в биомолекулах (M), S^* – фотовозбужденный сенсибилизатор, MO_k – продукт окисления молекулы.

первичный продукт нестабилен и быстро превращается во вторичные продукты, которые тоже могут быть чувствительны к сенсibilизированным фотохимическим изменениям. К фотосенсibilизаторам окислительных процессов относятся такие широко распространенные в биологических системах молекулы, как птерины, рибофлавин, протопорфирин IX и некоторые другие. Фотосенсibilизаторы вступают в окислительные реакции преимущественно в долгоживущих триплетных состояниях, на несколько порядков превышающих по времени существования время жизни их синглетных возбужденных состояний. Это особенно важно для эффективной инициации реакций типа I, поскольку сенсibilизатор в триплетном состоянии может диффундировать в среде до столкновения с молекулой субстрата – донором электрона, тогда как в синглетном возбужденном состоянии он реагирует только в том случае, если уже находится в непосредственной близости от молекулы субстрата.

Ниже рассматриваются механизмы фотосенсibilизирующей активности рибофлавина и птеринов в отношении формирования окислительных повреждений в ДНК, белках и липидах.

Рибофлавин. Молекула рибофлавина вместе с ее нуклеотидными производными флавинаденидинуклеотидом (ФАДН) и флавиномононуклеотидом (ФМН) составляют большую группу биологически значимых флавиновых соединений. Система сопряженных двойных связей изоаллоксазинового кольца флавинов определяет их фотофизические, фотохимические и спектроскопические свойства [13]. Спектры поглощения и возбуждения флуоресценции окисленных состояний флавинов имеют два максимума в области 300–500 нм – при 360 нм и 450 нм, а спектры флуоресценции – один максимум около 530 нм. При поглощении фотона УФА/синего света в изоаллоксазиновом кольце происходит перераспределение заряда и изменение редокс-потенциала флавина, что инициирует его фотохимические превращения. В молекулах ФАДН и ФМН, которые служат хромофорами в сенсорных фоторецепторных белках, фотохимические реакции, вовлекающие перенос электрона/протона, индуцируют сигнальные и регуляторные процессы в живых системах. В фотолиазах флавиновый кофактор в форме ФАДН⁻ участвует в репарации CPDs и 6-4PPs путем светоиндуцированного переноса на них электрона [13–15].

В отличие от прочно связанных с белками хромофоров ФАДН и ФМН, свободный рибофлавин при фотовозбуждении проявляет выраженную сенсibilизирующую активность. Так как в возбужденном состоянии рибофлавин приобретает сильные окислительные свойства, его относят к фотосенсibilизаторам реакций типа I. Вместе с тем рибофлавин может фотосенсibilизировать

реакции типа II, поскольку способен генерировать $^1\text{O}_2$ с квантовым выходом $\Phi = 0,5$ [16].

Действие рибофлавина как фотосенсibilизатора реакций типа I продемонстрировано при изучении формирования сшивок ДНК–белок, которые возникают с участием ионизированных пуриновых оснований нуклеотидов, преимущественно G-оснований [1]. Интересно в этой связи отметить, что рибофлавин может образовывать комплексы с пуринами в растворе, о чем свидетельствует тушение его флуоресценции. Как показано в исследовании с модельными соединениями, фотосенсibilизированное рибофлавином образование $G^{\bullet+}$ в олигонуклеотиде TGT инициирует нуклеофильную реакцию с ϵ -аминогруппой центрального лизина в пептиде, состоящем из трех лизинов. Основной фотопродукт этой реакции – аддукт между гуанином и лизином, формирование которого происходит вследствие добавления остатка лизина к C8 гуанина [17]. В дальнейших теоретических работах, рассматривающих взаимодействия пептидов/полиаминов с ДНК, получена дополнительная информация, уточняющая механизм образования сшивок гуанин–лизин [18].

По механизму реакций типа I может происходить также фотосенсibilизированное рибофлавином окисление оснований гуанина (dG) в ДНК. При действии УФА (365 нм) 8-oxodG формируется посредством переноса электрона от dG к триплетному возбужденному состоянию рибофлавина с образованием интермедиатов – анион-радикала рибофлавина и $dG^{\bullet+}$ [1]. В последующей реакции гидратации $dG^{\bullet+}$ формируется радикал 8-гидроксидигидрогуанил (dG^{\bullet}), а далее он может превращаться в 8-oxodG O_2 -опосредованным одноэлектронным окислением (рис. 2). Радикал dG^{\bullet} может быть индуцирован и $\bullet\text{OH}$ посредством его присоединения к C8 гуанина, а дальнейшее превращение этого радикала в 8-oxodG тоже происходит с участием O_2 путем одноэлектронного окисления (рис. 2). Как показано выше, $\bullet\text{OH}$ образуется в Фентон-реакции из H_2O_2 – продукта диспропорционирования $\text{O}_2^{\bullet-}$. Механизм, основанный на гидратации $dG^{\bullet+}$, предложен для объяснения формирования 8-oxodG в клеточной ДНК при воздействии УФА на культивируемые клетки млекопитающих в присутствии рибофлавина [1].

Наиболее эффективно фотосенсibilизированное образование 8-oxodG в ДНК происходит в реакции окисления гуанина $^1\text{O}_2$. Известно, что $^1\text{O}_2$ как электрофил может реагировать со многими богатыми электронами биомолекулами. Вместе с тем, в ДНК из пиримидиновых и пуриновых оснований только у гуанина выявлена селективная реакционная активность по отношению к $^1\text{O}_2$ в водных растворах, и это согласуется с данными о наивысшей константе скорости химического тушения $^1\text{O}_2$ гуанином ($5,4 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$) [19]. Процесс,

инициирующий формирование 8-oxodG, состоит в присоединении $^1\text{O}_2$ к имидазольному кольцу гуанина посредством реакции Дильса–Альдера, сопровождаемой образованием 4,8-эндопероксида гуанина (рис. 3). Формирование исключительно 8-oxodG в ДНК объясняется реорганизацией эндопероксида преимущественно в 8-гидропероксигуанин с последующей конверсией этого нестабильного интермедиата в 8-гидроксигуанин, который находится в динамическом равновесии с 8-oxodG – более стабильным таутомером в растворе [20].

Из аминокислот, входящих в состав белков, эффективно окисляются в фотосенсиблизированной реакции гистидин, метионин, триптофан и цистеин [19]. Гистидин подвергается окислению в основном по механизму типа II. Поэтому его часто используют в качестве специфического акцептора $^1\text{O}_2$ (бимолекулярная константа скорости ту-

шения $^1\text{O}_2$ гистидином составляет $7 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$). Первичным продуктом при взаимодействии гистидина с $^1\text{O}_2$ является эндопероксид, который формируется в реакции Дильса–Альдера (рис. 4).

Метионин может фотоокисляться как в реакциях типа I, так и типа II. В случае протекания фотосенсиблизированной реакции типа I конечным продуктом является метионал (β -метилмеркаптопропиональдегид). Такой продукт обнаружен в реакционной системе при использовании в качестве сенсibilизатора рибофлавина. Показано, что рибофлавин в триплетном состоянии отрывает электрон от атома серы в аминокислоте, и образующийся радикал метионина подвергается дезаминированию и декарбоксилированию до метионала. В результате окисления метионина $^1\text{O}_2$ (константа скорости реакции $5 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$) конечным продуктом является сульфоксид.

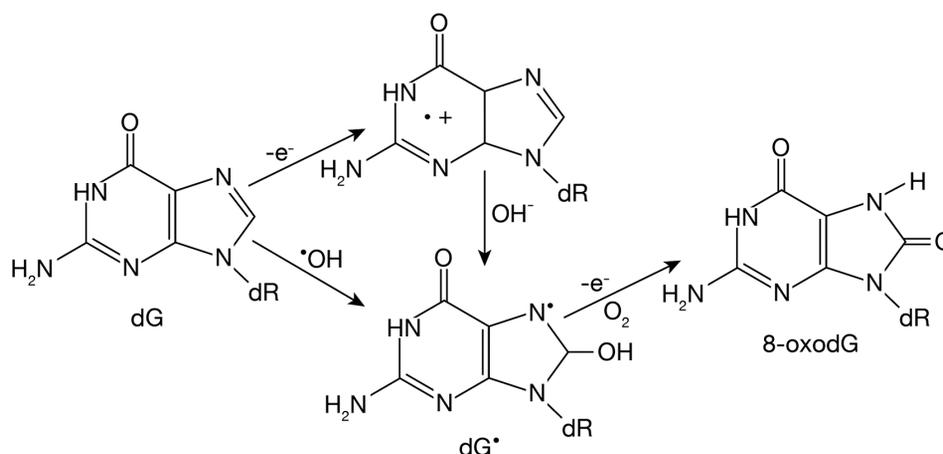


Рис. 2. Фотосенсиблизированное окисление гуанина (dG) в ДНК по механизму типа I. Показаны два пути образования нейтрального гидросигуанил-радикала (dG•) – предшественника 8-oxodG: в результате гидратации $\text{dG}^{\bullet+}$ или присоединения $\bullet\text{OH}$ к dG с последующим O_2 -зависимым одноэлектронным окислением dG^\bullet .

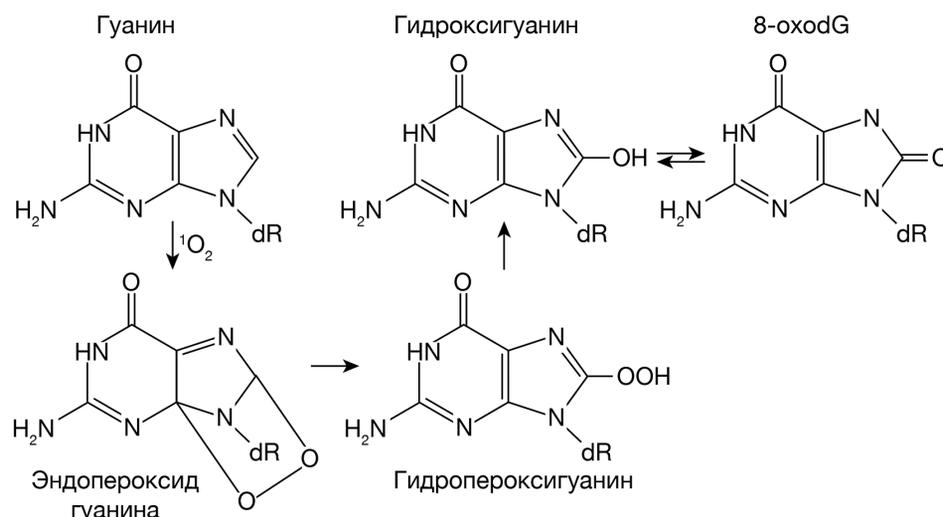


Рис. 3. Реакция окисления синглетным кислородом гуанина в ДНК. Первый продукт реакции, формируемый присоединением $^1\text{O}_2$ к имидазольному кольцу гуанина (эндопероксид), подвергается реорганизации с образованием гидропероксигуанина, который восстанавливается в гидросигуанин, находящийся в динамическом равновесии с наиболее стабильным конечным продуктом окисления 8-oxodG.

В реакциях типа I вначале происходит перенос атома водорода от ЛН к триплетному состоянию фотосенсибилизатора 3S . Это вызывает формирование алкильного радикала L^{\bullet} , радикала сенсибилизатора SH^{\bullet} и далее его депротонированной формы $S^{\bullet-}$. Взаимодействие L^{\bullet} с O_2 приводит к образованию пероксильного радикала (LOO^{\bullet}), последующие реакции которого с другими ЛН генерируют новые радикалы L^{\bullet} и гидропероксиды ($LOOH$). При окислении $S^{\bullet-}$ O_2 образуются $O_2^{\bullet-}$ и основное состояние сенсибилизатора (S_0), который может вновь участвовать в радикальных процессах. Диспропорционирование $O_2^{\bullet-}$ в H_2O_2 может привести в Фентон-реакции к формированию $^{\bullet}OH$ -радикала, инициирующего перекисное окисление липидов путем отрыва атома водорода от ЛН (константа скорости реакции $\sim 10^9 M^{-1}c^{-1}$).

В реакциях типа II на начальной стадии происходит перенос энергии с триплетного сенсибилизатора на O_2 с образованием 1O_2 , способного реагировать с НЖК и холестерином, переводя их в гидропероксиды. Поскольку 5α -ООН-холестерин не образуется в реакциях, имеющих чисто радикальную природу (тип I), этот продукт используется как доказательство участия 1O_2 в фотосенсибилизированных реакциях в биологических мембранах. Сенсибилизированное фотоокисление липидов вызывает структурные изменения в мембранах, что приводит к резкому снижению барьеров их проницаемости и нарушению ряда функций [21].

Птерины. Эти распространенные в живых организмах гетероциклические соединения представляют собой сопряженные системы двух колец – пиримидинового и пиразинового. Семейство птеринов включает множество производных, которые отличаются природой боковых заместителей, присоединенных к пиразиновому кольцу. К ним относятся окисленная форма птерина (pterin, Ptr), 7,8-дигидроптерин (7,8-dihydropterin, H_2Ptr), 6-формилптерин (6-formylpterin, For), 6-карбоксиптерин (6-carboxypterin, Car), неоптерин (neopterin, Nep), биоптерин (biopterin, Bip), 7,8-дигидробиоптерин (7,8-dihydrobiopterin, H_2Bip) и 5,6,7,8-тетрагидробиоптерин (5,6,7,8-tetrahydrobiopterin, H_4Bip), а также фолиевая кислота (folic acid – pteroyl-L-glutamic acid, PteGlu). Отдельные представители птеринов выполняют биохимические функции, действуя как коферменты в реакциях синтеза физиологически активных соединений (H_4Bip) или азотистых оснований (PteGlu). 5,10-Метенилтетрагидрофолат (5,10-methenyltetrahydrofolate) – один из производных PteGlu – присутствует в ДНК-фотолиазах как светособирающая антенна, передающая энергию возбуждения к кофактору ФАДН⁻ [13, 15]. Некоторые производные птеринов вовлекаются в фотобиологические процессы, и поэтому изучение их фотофизических

и фотохимических свойств вызывает неослабевающий интерес у исследователей.

При возбуждении в области УФА (365 нм) эти биомолекулы флуоресцируют с максимумом в спектре флуоресценции при 440–450 нм, генерируют АФК (1O_2 , $O_2^{\bullet-}$, H_2O_2) и подвергаются фотоокислительной деградации с образованием различных продуктов, которые тоже могут обладать сенсибилизирующими свойствами [22]. Под действием солнечного света птерины накапливаются в коже человека и, генерируя в возбужденном состоянии АФК, вызывают фотоокислительный стресс; он особенно проявляется в коже с патологией витилиго (vitiligo), связанной с образованием белых (депигментированных) пятен. Накопление в них Bip происходит вследствие фотосенсибилизированного окисления H_4Bip , и, как показано в экспериментальных и теоретических исследованиях, реакции окисления H_4Bip могут происходить по механизмам фотосенсибилизации как типа I, так и типа II [23, 24].

Птерины в окисленной форме (Ptr) при возбуждении УФА способны генерировать АФК в процессах переноса энергии (1O_2) или электрона ($O_2^{\bullet-}$) триплетным состоянием Ptr. Формирование $O_2^{\bullet-}$ в результате переноса электрона между анион-радикалом птерина ($Ptr^{\bullet-}$) и O_2 приводит к образованию H_2O_2 в реакции диспропорционирования $O_2^{\bullet-}$. Дигидроптерин (H_2Ptr) не генерирует 1O_2 , но окисляется в присутствии 1O_2 с высокой константой скорости, образуя H_2O_2 и Ptr-производные, которые могут быть сенсибилизаторами образования 1O_2 [22]. При изучении генерации 1O_2 производными Ptr установлено, что квантовые выходы образования 1O_2 в водном растворе сильно зависят от химической природы их боковых заместителей, а также от pH среды. В этих экспериментах значения квантовых выходов определяли путем анализа фосфоресценции 1O_2 при 1270 нм после возбуждения птеринов в области УФА (337 нм) [25]. Согласно полученным данным, наиболее эффективно сенсибилизируют формирование 1O_2 For, Bip, Car и Nep с квантовыми выходами в зависимости от pH среды для каждого птерина в диапазонах 0,45–0,47; 0,34–0,40; 0,27–0,37 и 0,23–0,34 соответственно. Поэтому эти производные Ptr рассматриваются как возможные сенсибилизаторы фотодинамических процессов *in vivo* [22]. Индуцированная УФА генерация Ptr-производными $O_2^{\bullet-}$ и H_2O_2 в водных растворах может происходить по двум различным механизмам. В основе первого механизма лежит процесс переноса электрона от молекулы – донора электрона к триплетному состоянию Ptr, что вызывает его переход в анион-радикал $Ptr^{\bullet-}$. При взаимодействии $Ptr^{\bullet-}$ с O_2 формируется $O_2^{\bullet-}$, реакция диспропорционирования которого приводит к образованию H_2O_2 . Второй механизм генерации $O_2^{\bullet-}$ и H_2O_2 связан с окислением интермедиата, ко-

торый возникает при воздействии УФА на Ptr-производные – *Vir* и *Ner*. Показано, что интермедиат (наиболее вероятно, формил-5,8-дигидроптерин) быстро окисляется кислородом, переходя в *For*. В этой реакции также образуются $O_2^{\bullet-}$ и H_2O_2 . Завершается окислительный процесс фотоиндуцированным превращением *For* в *Cap* и дополнительным образованием H_2O_2 [22]. Выше отмечено, что *For* и *Cap* могут действовать и как фотосенсибилизаторы образования 1O_2 .

Способность фотохимически генерировать 1O_2 , $O_2^{\bullet-}$ и H_2O_2 определяет сенсибилизирующие свойства птеринов, которые проявляются в индуцированном УФА окислительном повреждении биомолекул, включая нуклеотиды, триптофан и тирозин [26]. В ряде работ, направленных на изучение механизмов фотосенсибилизирующего действия птеринов, в качестве окисляемых молекул использовали пуриновый нуклеотид (2'-deoxyguanosine 5'-monophosphate, dGMP) [27, 28]. Установлено, что в случае окисления dGMP, опосредованного птеринами (*Ptr*, *Vir*, *For* и *Cap*) в нейтральной форме, в которой они присутствуют в нейтральной и кислой среде, преобладает механизм фотосенсибилизации типа I. Он вовлекает иницирующий перенос электрона от нуклеотида к триплетному возбужденному состоянию птерина, сопровождаемый формированием $Ptr^{\bullet-}$ и катион-радикала $dGMP^{\bullet+}$, депротонирование и гидратация которого приводят к окислительной деградации нуклеотида. В отсутствие O_2 эти стадии окислительного процесса блокируются из-за рекомбинации радикалов $Ptr^{\bullet-}$ и $dGMP^{\bullet+}$ и их перехода в исходные состояния. В щелочной среде отмеченные выше птерины находятся в анионной форме, и фотосенсибилизированное окисление dGMP может вовлекать реакции с участием 1O_2 .

Как известно, из всех оснований нуклеотидов у гуанина самый низкий потенциал ионизации, и поэтому фотосенсибилизаторы типа I индуцируют только его одноэлектронное окисление. В этой связи представляют интерес данные, демонстрирующие способность птерина (*Ptr*) фотосенсибилизировать окисление тимина в пириимидиновом нуклеотиде (thymidine 5'-monophosphate, dTMP) [29]. Иницированный УФА перенос электрона от нуклеотида к триплетному состоянию *Ptr* приводит к формированию $Ptr^{\bullet-}$ и катион-радикала $dTMP^{\bullet+}$, который находится в равновесии с формой $dTMP(-H)^{\bullet}$, а $Ptr^{\bullet-}$ протонируется до $PtrH^{\bullet}$. В последующих реакциях этих радикалов с O_2 , включающих генерацию АФК, образуется ряд конечных продуктов деградации dTMP.

В отсутствие O_2 был обнаружен еще один процесс, не наблюдавшийся при действии других сенсибилизаторов, а именно связывание радикалов $PtrH^{\bullet}$ и $dTMP(-H)^{\bullet}$ с образованием аддукта $H_2Ptr-dTMP(-H)$. После добавления O_2 формиро-

вался аддукт $Ptr-dTMP(-2H)$ с регенерированной конъюгированной структурой *Ptr* [29]. Важно отметить, что при воздействии УФА в отсутствие O_2 аддукт между птерином и основанием тимина формируется также в двухцепочечной ДНК [30]. Согласно выдвинутому предположению, формирование такого аддукта может происходить и в клеточной ДНК. Это обосновывается следующими фактами: во-первых, концентрация O_2 в некоторых тканях может быть очень низкой; во-вторых, *Ptr* свободно проникает через биомембраны, т.е. может находиться в ядре; в-третьих, концентрация *Ptr*, использованная в работе с изолированной ДНК, сопоставима с концентрацией птеринов в клетках кожи. В соответствии с приведенными данными птерины рассматриваются как потенциальные эндогенные фотосенсибилизаторы, способные индуцировать генотоксические процессы [30].

Изложенный выше материал показывает, что процессы фотосенсибилизированного окислительного повреждения биомолекул могут включать одну или несколько из различных активированных форм, таких как возбужденные светом состояния молекул, радикалы и АФК. Поэтому даже в случае гомогенных растворов не всегда можно однозначно установить механизмы реакций, а в такой сложной системе, как живая клетка, определение конкретных механизмов фотосенсибилизированных процессов становится еще более трудной задачей. Распространенный экспериментальный подход, используемый при решении данной проблемы, связан с выяснением вопроса о том, образуется ли синглетный кислород в фотосенсибилизированной реакции и ответственен ли он за последующее повреждение биологической системы. Для этого часто исследуют влияние веществ, вызывающих тушение 1O_2 , на скорость фотосенсибилизированного процесса. Так, если фотосенсибилизированная реакция ингибируется низкими концентрациями азидата натрия (очень эффективный физический тушитель 1O_2), то это обычно интерпретируется как участие в ней 1O_2 . Однако такое утверждение может быть корректным только в том случае, если установлено, что ингибитор не тушит триплетное состояние сенсибилизатора, поскольку это также уменьшило бы скорость реакции. Нельзя, по видимому, однозначно судить об участии 1O_2 в фотосенсибилизированной реакции и на основании данных о фотоокислении некоторых молекул акцепторов (фураны, гистидин и др.), способных эффективно окисляться 1O_2 . Действительно, показано, что такие соединения могут быть окислены, причем до тех же продуктов, и в результате протекания радикальных реакций. Одним из немногих специфичных для детектирования 1O_2 акцепторов является холестерин: его реакция с 1O_2 приводит к образованию единственного продукта (5α -гидропероксид), тогда как при взаимодей-

ствии с радикалами образуется смесь других продуктов. Еще один способ определения участия $^1\text{O}_2$ в фотосенсибилизированной реакции заключается в сравнении скорости процесса в обычной (H_2O) и тяжелой (D_2O) воде. Поскольку время жизни $^1\text{O}_2$ в ~ 20 раз больше в D_2O , чем в H_2O , значительное увеличение скорости реакции в D_2O рассматривается как указание на участие в ней $^1\text{O}_2$. Следует, однако, отметить, что лучшим аргументом в пользу вовлечения $^1\text{O}_2$ в фотосенсибилизированные реакции окисления биомолекул в модельных системах считается регистрация люминесценции $^1\text{O}_2$ при 1270 нм [12].

Индукцированные УФА окислительные повреждения ДНК и других биомолекул в клеточных системах: роль в цитотоксических и генотоксических процессах

В последнее время изучению молекулярных механизмов действия УФА на клеточные системы посвящены обширные и всесторонние исследования. В них значительное внимание уделяется определению роли различных АФК в инициации процессов фотосенсибилизированного окислительного повреждения клеточной ДНК и других биомолекул. В ряде работ продемонстрировано, что индуцированное УФА формирование 8-oxodG в клеточной ДНК обусловлено главным образом селективным окислением G-основания синглетным кислородом [31, 32]. Помимо этого, гидроксильный радикал ($\cdot\text{OH}$) вносит дополнительный вклад в деградацию ДНК, вызывая образование окисленных оснований и одноцепочечных разрывов [32].

Сенсибилизированные окислительные реакции вовлекаются в фотодинамические цитотоксические эффекты и канцерогенное действие УФА. В клетках различных организмов, в том числе кожи человека, содержится много хромофоров, поглощающих в области УФА. На основании приведенных выше данных, полученных в модельных экспериментах, птерины и рибофлавин можно рассматривать как потенциальные фотосенсибилизаторы окислительного повреждения биологически важных молекул в клеточных системах, однако прямые доказательства этого пока отсутствуют. Вместе с тем, как показано в серии работ, результаты которых рассматриваются ниже, протопорфирин IX и его производные могут действовать в клетках дрожжей как фотосенсибилизаторы окислительных цитотоксических процессов. Активностью фотосенсибилизатора окислительного стресса в меланоцитах обладает и пигмент эпидермиса меланин, известный также своей фотозащитной функцией.

Фотодинамические окислительные реакции, сенсибилизированные протопорфирином IX в клеточных структурах: вклад в цитотоксический эффект. Протопорфирин IX — классический сенси-

билизатор фотодинамических реакций типа II. В абсорбционном спектре протопорфирина IX главный максимум расположен при 400–410 нм и есть небольшие пики в области 500–620 нм. Вместе с тем протопорфирин IX интенсивно поглощает фотоны во всей области УФА, что расширяет спектральный диапазон его фотосенсибилизирующей активности, связанной с генерацией $^1\text{O}_2$. Тушение возбужденного триплетного состояния протопорфирина IX молекулярным кислородом с образованием $^1\text{O}_2$ происходит с высоким квантовым выходом ($\Phi \approx 6$). С другой стороны, эффективность реакций отрыва электрона от большинства биомолекул у протопорфирина IX низка. Поэтому он, в отличие от рассмотренных выше сенсибилизаторов, почти не вовлекается в фотосенсибилизированные окислительные реакции типа I.

В серии исследований протопорфирина IX и его производные были идентифицированы как эндогенные сенсибилизаторы фотодинамических реакций, вызывающих цитотоксический эффект у дрожжей. В митохондриях протопорфирин IX сенсибилизирует реакции перекисного фотоокисления липидов (ПФОЛ) [33]. На клеточном уровне это проявляется в ингибировании дыхания дрожжей. Продукт ПФОЛ малоновый диальдегид (МДА) определен также в изолированных из клеток плазматических мембранах [33], и, как было показано [34], реакции ПФОЛ инициируются преимущественно $^1\text{O}_2$, фотогенерируемым мембранно-связанным сенсибилизатором. На основании флуоресцентных характеристик, полученных при изучении фотовыцветания протопорфирина IX [35], этот сенсибилизатор можно отнести к продукту протопорфирина IX хлоринового типа. Сенсибилизированные им реакции ПФОЛ вызывают деструкцию барьеров проницаемости плазматических мембран [34].

В связи с вопросом о вкладе продуктов ПФОЛ в цитотоксический эффект у дрожжей представляет интерес работа, в которой показано, что электрофильные ненасыщенные альдегиды, включая МДА, образующиеся вследствие разложения нестабильных пероксидов липидов, способны мигрировать по всей клетке и реагировать с основаниями ДНК — в основном с гуанином. МДА присоединяется к 2-экзоциклической аминогруппе гуанина с последующей циклизацией и формированием после дегидратации циклического диола [36]. Вполне вероятно, что такого рода альдегидные аддукты могут образовываться в ДНК дрожжевой клетки в результате присоединения к основаниям гуанина продуктов ПФОЛ — процесса, эффективно сенсибилизируемого протопорфирином IX и его производными в клеточных структурах. В этом мог бы заключаться вклад ПФОЛ не только в фотодинамический цитотоксический эффект, но и в изменение спектра мутаций в ДНК клеток. Данное пред-

положение, однако, требует экспериментального подтверждения.

Роль различных УФ-индуцированных повреждений ДНК в канцерогенезе кожи человека. Как отмечено выше, канцерогенез в коже человека связан с воздействием УФ-излучения солнца, причем обе области УФ-излучения (УФВ и УФА) могут индуцировать меланому и базальную клеточную карциному. Ключевую роль в начальной фазе развития раковых опухолей играет УФ-индуцированное повреждение ДНК. Упомянутая выше система эксцизионной репарации нуклеотидов (NER) репарирует димерные фотопродукты в ДНК и играет важную роль в предотвращении УФ-индуцированного рака кожи. Несколько генетических заболеваний у людей, таких как пигментная ксеродерма, связаны с дефектом в NER. Клетки от таких пациентов сверхчувствительны к действию УФ-излучения, и частота случаев рака кожи у них возрастает на несколько порядков, что может свидетельствовать о вкладе пиримидиновых димеров в развитие меланомы и карциномы [2].

Известны два главных пути действия NER по устранению УФ-индуцированных пиримидиновых димеров в ДНК. Первый путь связан с репарацией CPDs и 6-4PPs во всем геноме (global genome repair, GGR), второй – с репарацией дефектов вдоль активно транскрибируемых цепей ДНК (transcription-coupled repair, TCR) [7, 37]. В системе GGR центральным инициатором процесса является белковый комплекс Xeroderma Pigmentosum группы C (XPC)–RAD23, который способен связываться с дефектами в ДНК. Дефекты индуцируют структурные изменения в цепи ДНК и слабые спаривания оснований, вызывая уменьшение энергетического барьера, который XPC-комплексу необходимо преодолеть для эффективного связывания с сайтом повреждения [38]. Этот процесс позволяет объяснить, каким образом XPC-комплекс детектирует разные дефекты в ДНК, и почему идентификация конкретного повреждения может быть более эффективной. Например, 6-4PP вызывает большую термодинамическую дестабилизацию спиральной структуры, вследствие чего опознание 6-4PP комплексом XPC предпочтительнее, чем опознание CPD. В GGR-пути вначале дефект опознается сенсорным комплексом UV–DDB (DNA damage binding protein), который, связываясь с повреждением, вовлекает на второй стадии опознания комплекс RAD4/XPC. Этот комплекс вовлекает транскрипционный фактор TFIIH, и XPD приступает к финальной стадии опознания и репарации дефекта, на которой поврежденная область ДНК вырезается в результате двойного надреза, и брешь заполняется синтезом ДНК [7]. При действии системы TCR опознание повреждений основано на остановке РНК-полимеразы II (RNA Pol II), и поэтому TCR репарирует дефекты (пиримидиновые димеры) преимущественно

в транскрибируемой цепи ДНК. Остановку и арест полимеразы могут вызывать разрывы и модифицированные нуклеотиды. Интересно, что решающее значение для опознания повреждений имеет взаимодействие между RNA Pol II и CSB (Cockayne Syndrome protein B) [39] (мутации в гене CSB приводят к генетическому заболеванию «синдром Коккейна»). В соответствии с предложенной моделью CSB связывает задержанную RNA Pol II и способствует ее транслокации, повышая эффективность обхода 8-oxodG, но не димеров пиримидинов, которые вызывают остановку и арест полимеразы, что сопровождается блокированием транскрипции [40–42]. Таким образом, TCR-путь представляет эффективный механизм опознания УФ-индуцированных димеров, и этот процесс зависит от остановки РНК-полимеразы и ее связывания с CSB в сайте повреждения.

Помимо двух рассмотренных путей NER, значительную роль в защите клеток и тканей от окислительного стресса, различных токсинов и канцерогенов играет сигнальный путь Nrf2/ARE (nuclear factor-erythroid 2 p45-related factor 2/ antioxidant response element) [43]. Редокс-чувствительный транскрипционный фактор Nrf2 в ответ на АФК аккумулируется в ядре и связывается с генами, содержащими антиоксидант-реагирующий элемент (ARE), что приводит к активации многих генов антиоксидантов и дезинтоксикационных ферментов. В частности, в недавнем оригинальном исследовании продемонстрировано влияние полиморфизма гена фермента 8-оксогуанин-ДНК-гликозилазы (8-oxoguanine-DNA-glycosylase, OGG1) на эффективность удаления продукта окисления гуанина 8-oxodG [44]. Можно также отметить, что Nrf2 является важнейшим регулятором экспрессии ключевых генераторов и поглотителей АФК, участвует во второй линии защиты митохондриальной ДНК и включает ферменты, ответственные за восстановление поврежденных оснований и нуклеотидов.

Как уже отмечалось, УФ-индуцированное повреждение ДНК играет ключевую роль в индукции канцерогенеза в коже человека. Если фотопродукты в ДНК остаются unrepaired (нерепарированными) или поврежденные клетки (меланоциты, кератиноциты) не устраняются в процессе апоптоза, определенные дефекты ДНК проявляют свои мутагенные свойства, вызывая активацию онкогенов. Результаты многих исследований последнего времени свидетельствуют, что УФВ и УФА вызывают разные типы и количества повреждений в ДНК меланоцитов и кератиноцитов, и этим можно объяснить различия в спектрах мутаций у меланом и карцином.

Базальная клеточная карцинома возникает из кератиноцитов, находящихся в базальном слое эпидермиса и подвергающихся неконтролируемому делению, что является характерной особенностью

стью раковых клеток. УФ-индуцированные повреждения в ДНК кератиноцитов формируют мутации только в том случае, если клетка поделится прежде, чем она способна осуществить репарацию поврежденной ДНК. Также имеет значение тот факт, что разные дефекты в ДНК различаются по своему мутагенному потенциалу. Это особенно относится к цитозин-содержащим димерным фотопродуктам, поскольку они значительно более мутагенны по сравнению с тимин-содержащими CPDs и (6-4)PPs. Согласно результатам ряда исследований, основным классом фотопродуктов ДНК при облучении УФА клеток и кожи человека являются CPDs, как это характерно для УФВ. Однако, в отличие от УФВ, фотоны которого индуцируют димеры, состоящие из оснований тимина и цитозина, УФА индуцирует в большей степени димеры, содержащие тимин, и не вызывает формирования (6-4)PPs [5].

Значительный интерес представляют данные, полученные при изучении зависимости образования тимин-содержащих димеров от проникновения фотонов УФВ или УФА1 (340–400 нм) в различные слои эпидермиса кожи человека. Показано, что количество димеров, индуцированных УФВ, уменьшается с увеличением глубины эпидермиса, тогда как их количество при действии УФА1 значительно возрастает с глубиной, достигая максимума в базальном слое эпидермиса. Ослабление эффективности действия УФВ объясняется наличием в верхних слоях эпидермиса хромофоров, поглощающих фотоны этого излучения. Фотоны УФА1 в меньшей степени поглощаются хромофорами верхних слоев и поэтому могут проникать в эпидермис глубже. Согласно выдвинутому предположению, повышенная чувствительность базального слоя эпидермиса, где находятся кератиноциты (и меланоциты), к генотоксическому действию УФА1 может быть связана с обратным дермальным рассеянием этого излучения (например, от коллагена), а также прямым эпидермальным рассеянием [45].

Главный индуцированный УФА продукт и биомаркер окислительного повреждения ДНК, 8-oxodG, формируется в клетках и коже человека преимущественно в реакции, опосредованной $^1\text{O}_2$. Другие окислительные реакции, инициирующие образование 8-oxodG, а также малого количества окисленных пиримидиновых оснований и разрывов цепи ДНК, вовлекают ОН [31, 32]. Упомянутый выше фермент репарации ДНК OGG1 специфически репарирует 8-oxodG, предотвращая GC→TA-мутации, возникающие из этого фотопродукта. Фермент OGG1 слабо экспрессируется в базальном слое эпидермиса человека по сравнению с верхними эпителиальными слоями. Предполагается, что экспрессия OGG1 регулируется состоянием дифференцированности кератиноцитов и поэтому в дифференцированных клетках

происходит повышенная экспрессия фермента. Соответственно, фотопродукт 8-oxodG репарируется медленнее в базальном слое, нежели в верхних слоях эпидермиса, и это может лежать в основе высокой чувствительности базального слоя эпидермиса к накоплению 8-oxodG. К тому же в кератиноцитах при облучении УФА с высоким выходом, в три раза превышающим количество 8-oxodG, образуются тимин-содержащие димеры, из которых могут развиваться мутации GC→AT, а мутации GC→TA, возникают, вероятно, из 8-oxodG. Эти мутации обнаруживаются, соответственно, в генах p53 и Vrm немеланомных типов рака кожи человека. Уязвимость базального слоя эпидермиса в отношении накопления отмеченных фотопродуктов и мутаций позволяет предполагать, что кожа человека более чувствительна к канцерогенезу, индуцированному УФА, чем считалось ранее [46].

В последнее время появились сообщения о возникновении в ДНК кератиноцитов под действием УФА1 задержанных во времени «темновых» CPDs и окисленных фотопродуктов. Было также показано формирование «темновых» CPDs в коже человека через 2 ч после воздействия излучения с длиной волны 385 нм, причем они сохранялись в течение 24 ч [47, 48]. Изучение молекулярных механизмов первичных фотопроцессов и последующих «темновых» стадий формирования CPDs и других фотопродуктов в ДНК кератиноцитов представляется одной из важных задач дальнейших исследований, направленных на выяснение вклада УФА в канцерогенез кожи человека.

Меланома происходит из меланоцитов, которые отличаются от кератиноцитов резистентностью к апоптозу и спектром мутаций в активированных онкогенах, возникающих, очевидно, из другого класса УФ-индуцированных повреждений ДНК. При определении дефектов ДНК, формируемых под действием УФВ или УФА в меланоцитах и кератиноцитах человека, было установлено, что CPDs образуются с одинаковой эффективностью в обоих типах клеток, облученных как УФВ, так и УФА. В то же время, при воздействии УФА количество 8-oxodG в 2,2 раза было выше в меланоцитах по сравнению с кератиноцитами. Таким образом, продукты окислительных реакций, индуцируемых УФА, вносят больший вклад в повреждение ДНК меланоцитов, чем кератиноцитов, что, как предполагается, связано с фотосенсибилизирующей активностью меланина, синтезируемого в меланоцитах [49]. О важной роли меланина в индукции меланомы при облучении меланоцитов УФА свидетельствуют данные, согласно которым для формирования в ДНК 8-oxodG и последующего возможного образования GC→TA-трансверсий требуется присутствие пигмента меланина в меланоцитах. В противоположность этому, действие УФВ инициирует развитие меланомы из беспиг-

ментных меланоцитов и связано с прямым формированием CPDs, из которых могут возникать СС→ТТ-транзиции в ДНК [50].

В ряде работ показано, что облучение УФВ или УФА меланоцитов человека, содержащих меланин, индуцирует задержанное на несколько часов образование CPDs в темноте после их фотохимического формирования [51]. Вместе с тем облучение УФА беспигментных меланоцитов не вызывало образования «темновых» CPDs. На основании защитного действия антиоксидантов предположили, что в формирование «темновых» CPDs вовлекается окислительный процесс с участием меланина [51, 52]. Как известно, при клеточном ответе на УФ-индуцированный стресс через некоторое время ферментативно образуются $O_2^{\bullet-}$ и NO^{\bullet} и их рекомбинация генерирует пероксинитрит ($ONOO^-$). Было постулировано, что $ONOO^-$ реагирует с мономерами меланина, образуя нестабильные диоксетаны вблизи ДНК, а после их распада в триплетно-возбужденные карбонилы формируются CPDs в темноте путем триплет-триплетного переноса энергии от карбониллов к пиримидиновым основаниям ДНК [51–53]. Предложенный механизм химического возбуждения может лежать в основе перераспределения в составе CPDs, а именно – значительного возрастания количества димеров с цитозином и тиминном, которые более мутагенны по сравнению с тимин-содержащими димерами, индуцируемыми УФА. В недавнем исследовании продемонстрирована роль меланина в формировании «световых» и «темновых» CPDs в эпидермисе кожи типа Fitzpatrick (Fitzpatrick skin type, FST) I/II и VI при воздействии излучения, имитирующего излучение солнца [54]. «Темновые» CPDs максимально формировались через 1–2 ч после облучения – вероятно, в результате окислительных реакций, фотосенсибилизированных меланином.

Заключение

В заключение можно констатировать, что фотосенсибилизированные реакции окислительного повреждения ДНК и липидно-белковых компонентов мембран играют важную роль в инициации генотоксических и цитотоксических процессов при действии УФА на биологические системы. Благодаря всесторонним и детальным исследованиям последнего времени получены результаты, углубляющие понимание механизмов фотосенсибилизированных окислительных реакций и позволяющие строго разделить их на тип I и тип II. Окислительные реакции типа I иницируются переносом электрона между фотовозбужденным сенсибилизатором и биомолекулой, в результате чего образуется пара радикалов, вступающих в реакции с O_2 , а взаимодействием анион-радикала сенсибилизатора с O_2 вызывает образование АФК ($O_2^{\bullet-}$, H_2O_2 , $\bullet OH$). Первичный механизм реакций

типа II вовлекает перенос энергии от фотовозбужденного сенсибилизатора к O_2 , что приводит к формированию 1O_2 ($^1\Delta_g$). В обзоре суммированы обширные данные о механизмах вовлечения этих реакций в образование 8-oxodG – главного фотопродукта окисления гуанина и биомаркера сенсибилизированного окислительного повреждения ДНК. Также рассмотрены фотосенсибилизированные реакции окислительной дегградации НЖК липидов и аминокислотных остатков белков. Специальное внимание уделено анализу имеющейся в литературе информации о фотосенсибилизующих свойствах птеринов, рибофлавина и протопорфирина IX с характерными особенностями действия каждого из этих сенсибилизаторов. На основании данных, полученных при изучении модельных систем, птерины и рибофлавин можно рассматривать как потенциальные фотосенсибилизаторы повреждения ДНК в клетках, однако прямые доказательства этого пока отсутствуют. Что касается протопорфирина IX и его производных, то, как показано, они могут действовать в клеточных структурах как фотосенсибилизаторы окислительных процессов, индуцирующих цитотоксические эффекты.

Механизмы фотохимических реакций в ДНК клеток проанализированы в связи с вопросом о роли различных УФ-индуцированных повреждений в мутагенезе и канцерогенезе кожи человека. Результаты исследований последнего времени свидетельствуют, что УФВ и УФА вызывают разные типы и количества дефектов в ДНК меланоцитов и кератиноцитов и этим можно объяснить различия в спектрах мутаций у меланом и карцином. Из сравнительного определения дефектов в ДНК, индуцированных УФВ или УФА в меланоцитах и кератиноцитах человека, следует, что продукты окислительных реакций, формируемые при облучении УФА, вносят больший вклад в повреждение ДНК меланоцитов, чем в повреждение ДНК кератиноцитов, и это может быть связано с фотосенсибилизующей активностью пигмента меланина, образующегося в меланоцитах. О важной роли меланина в индукции меланомы при облучении меланоцитов УФА свидетельствуют данные, согласно которым для формирования в ДНК 8-oxodG и последующего возможного образования GC→TA-трансверсий требуется присутствие пигмента меланина в меланоцитах. В противоположность этому, действие УФВ инициирует развитие меланомы из беспигментных меланоцитов и связано с прямым формированием CPDs в ДНК. Значительный интерес вызывают недавние сообщения о возникновении в ДНК кератиноцитов под действием УФА1 задержанных во времени «темновых» CPDs и окисленных фотопродуктов, в основе формирования которых могут лежать фотоокислительные реакции. Аналогичные результаты по-

лучены недавно при воздействии УФА на меланоциты человека, содержащие пигмент меланин, который, как предполагается, участвует в окислительном процессе формирования «темновых» CPDs. Согласно выдвинутой гипотезе, этот процесс связан с химическим возбуждением карбониллов, образующихся при распаде нестабильных оксетанов, и триплет-триплетным переносом энергии от карбониллов к пиримидиновым основаниям ДНК. Раскрытие молекулярных механизмов фотосенсибилизирующей активности меланина и его вовлечения в химическое возбуждение

компонентов окислительных реакций, инициирующих формирование «темновых» CPDs, представляется важным в аспекте совершенствования способов защиты от канцерогенного действия на кожу человека УФ-излучения разных длин волн.

Исследование выполнено в рамках научного проекта государственного задания МГУ № 121032500058-7. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов. Работа выполнена без использования животных и без привлечения людей в качестве испытуемых.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Baptista M.S., Cadet J., Greer A., Thomas A.H. Photosensitization reactions of biomolecules: definition, targets and mechanisms. *Photochem. Photobiol.* 2021;97(6):1456–1483.
2. Pfeifer G.P., Besaratinia A. UV wavelength-dependent DNA damage and human non-melanoma and melanoma skin cancer. *Photochem. Photobiol. Sci.* 2012;11(1):90–97.
3. Fraikin G.Ya., Belenikina N.S., Rubin A.B. Damaging and defense processes induced in plant cells by UVB radiation. *Biol. Bull.* 2018;45(6):519–527.
4. Markovitsi D., Sage E., Lewis F.D., Davies J. Interaction of UV radiation with DNA. *Photochem. Photobiol. Sci.* 2013;12(8):1256–1258.
5. Cadet J., Douki T. Formation of UV-induced DNA damage contributing to skin cancer development. *Photochem. Photobiol. Sci.* 2018;17(12):1816–1841.
6. Mullenders L.H.F. Solar UV damage to cellular DNA: from mechanisms to biological effects. *Photochem. Photobiol. Sci.* 2018;17(12):1842–1852.
7. Johann to Berens P., Molinier J. Formation and recognition of UV-induced DNA damage within genome complexity. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(18):6689.
8. Frances-Monerris A., Hognon C., Miranda M.A., Lhiaubet-Vallet V., Monari A. Triplet photosensitization mechanism of thymine by an oxidized nucleobase: from a dimeric model to DNA environment. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2018;20(40):25666–25675.
9. Gontcharov J., Liu L., Pilles B.M., Carell T., Schreier W.J., Zinth W. Triplet-induced lesion formation at CpT and TpC sites in DNA. *Chem. Eur. J.* 2019;25(66):15164–15172.
10. Laustriat G. Molecular mechanisms of photosensitization. *Biochimie.* 1986;68(6):771–778.
11. Baptista M.S., Cadet J., Di Mascio P., Ghogare A.A., Greer A., Hamblin M.R., Lorente C., Nunez S.C., Ribeiro M.S., Thomas A.H., Vignoni M., Yoshimura T.M. Type I and type II photosensitized oxidation reactions: guidelines and mechanistic pathways. *Photochem. Photobiol.* 2017;93(4):912–919.
12. Krasnovsky A.A., Jr. Photodynamic action and singlet oxygen. *Biophys. J.* 2004;49(2):289–306.
13. Fraikin G.Ya. Photosensory and signaling properties of cryptochromes. *Moscow Univ. Biol. Sci. Bull.* 2022;71(2):54–63.
14. Fraikin G.Ya., Strakhovskaya M.G., Rubin A.B. Biological photoreceptors of light-dependent regulatory processes. *Biochemistry (Mosc.)*. 2013;78(11):1238–1253.
15. Vechtomova Y.L., Telegina T.A., Kritsky M.S. Evolution of proteins of the DNA photolyase/cryptochrome family. *Biochemistry (Mosc.)*. 2020;85(Suppl.1):S131–S153.
16. Fuentes-Lemus E., Mariotti M., Reyes J., Leinisch F., Hagglund P., Silva E., Davies M.J., Lopez-Alarcon C. Photooxidation of lysozyme triggered by riboflavin is O₂-dependent, occurs via mixed type 1 and type 2 pathways, and results in inactivation, site-specific damage and intra- and inter-molecular cross-links. *Free. Radic. Biol. Med.* 2020;152:61–73.
17. Perrier S., Hau J., Gasparutto D., Cadet J., Favier A., Ravanat J.-L. Characterization of lysine-guanine cross-links upon one-electron oxidation of a guanine-containing oligonucleotide in the presence of a trilycine peptide. *J. Am. Chem. Soc.* 2006;128(17):5703–5710.
18. Chan C.H., Monari A., Ravanat J.-L., Dumont E. Probing interaction of a trilycine peptide with DNA underlying formation of guanine-lysine cross-links: Insights from molecular dynamics. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2019;21(42):23418–23424.
19. Di Mascio P., Martinez G.R., Miyamoto S., Ronsein G.E., Medeiros M.H.G., Cadet J. Singlet molecular oxygen reactions with nucleic acids, lipids, and proteins. *Chem. Rev.* 2019;119(3):2043–2086.
20. Ravanat J.-L., Dumont E. Reactivity of singlet oxygen with DNA, an update. *Photochem. Photobiol.* 2022;98(3):564–571.
21. Girotti A.W. Photosensitized oxidation of membrane lipids. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 2001;63(1–3):103–113.
22. Oliveros E., Dantola M.L., Vignoni M., Thomas A.H., Lorente C. Production and quenching of reactive oxygen species by pterin derivatives, an intriguing class of biomolecules. *Pure Appl. Chem.* 2011;83(4):801–811.
23. Buglak A.A., Telegina T.A., Lyudnikova T.A., Vechtomova Y.L., Kritsky M.S. Photooxidation of tetrahydrobiopterin under UV irradiation: possible pathways and mechanisms. *Photochem. Photobiol.* 2014;90(5):1017–1026.
24. Buglak A.A., Telegina T.A., Vechtomova Y.L., Kritsky M.S. Autooxidation and photooxidation of tetrahydrobiopterin: a theoretical study. *Free Radic. Res.* 2021;55(5):499–509.

25. Thomas A.H., Lorente C., Capparelli A.L., Martinez C.G., Braun A.M., Oliveros E. Singlet oxygen ($^1\Delta_g$) production by pterin derivatives in aqueous solutions. *Photochem. Photobiol. Sci.* 2003;2(3):245–250.
26. Lorente C., Serrano M.P., Vignoni M., Dantola M.L., Thomas A.H. A model to understand type I oxidations of biomolecules photosensitized by pterins. *J. Photochem. Photobiol.* 2021;7:100045.
27. Serrano M.P., Lorente C., Vieyra F.E.M., Borsarelli C.D., Thomas A.H. Photosensitizing properties of biopterin and its photoproducts using 2'-deoxyguanosine 5'-monophosphate as an oxidizable target. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2012;14(33):11657–11665.
28. Serrano M.P., Lorente C., Borsarelli C.D., Thomas A.H. Unraveling the degradation mechanism of purine nucleotides photosensitized by pterins: the role of charge-transfer steps. *ChemPhysChem.* 2015;16(10):2244–2252.
29. Serrano M.P., Vignoni M., Lorente C., Vicendo P., Oliveros E., Thomas A.H. Thymidine radical formation via one-electron transfer oxidation photoinduced by pterin: mechanism and products characterization. *Free Radic. Biol. Med.* 2016;96:418–431.
30. Estebanez S., Lorente C., Tosato M.G., Miranda M.A., Marin M.L., Lhiaubet-Vallet V., Thomas A.H. Photochemical formation of a fluorescent thymidine–pterin adduct in DNA. *Dyes Pigm.* 2019;160:624–632.
31. Cadet J., Douki T., Ravanat J.-L. Oxidatively generated damage to cellular DNA by UVB and UVA radiation. *Photochem. Photobiol.* 2015;91(1):140–155.
32. Cadet J., Davies K.J.A., Medeiros M.H., Di Mascio P., Wagner J.R. Formation and repair of oxidatively generated damage in cellular DNA. *Free Radic. Biol. Med.* 2017;107:13–34.
33. Shumarina A.O., Strakhovskaya M.G., Turovetskii V.B., Fraikin G.Ya. Photodynamic damage to yeast subcellular organelles induced by elevated levels of endogenous protoporphyrin IX. *Microbiology.* 2003;72(4):434–437.
34. Fraikin G.Ya., Strakhovskaya M.G., Rubin A.B. The role of membrane-bound porphyrin-type compound as endogenous sensitizer in photodynamic damage to yeast plasma membranes. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 1996;34(2–3):129–135.
35. Strakhovskaya M.G., Shumarina A.O., Fraikin G.Ya., Rubin A.B. Fluorescence photobleaching of endogenous protoporphyrin IX in *Saccharomyces cerevisiae* cells. *Biophysica.* 2002;47(5):791–796.
36. Blair I.A. DNA adducts with lipid peroxidation products. *J. Biol. Chem.* 2008;283(23):15545–15549.
37. Selby C.P., Lindsey-Boltz L.A., Li W., Sancar A. Molecular mechanisms of transcription-coupled repair. *Annu. Rev. Biochem.* 2023;92:115–144.
38. Panigrahi A., Vemuri H., Aggarwal M., Pitta K., Krishnan M. Sequence specificity, energetic and mechanism of mismatch recognition by DNA damage sensing protein Rad4/XPC. *Nucleic Acids Res.* 2020;48(5):2246–2257.
39. Xu J., Lahiri I., Wang W., Wier A., Cianfrocco M.A., Chong J., Hare A.A., Dervan P.B., DiMaio F., Leschziner A.E., Wang D. Structural basis for the initiation of eukaryotic transcription-coupled DNA repair. *Nature.* 2017;551(7682):653–657.
40. Mei Kwei J.S., Kuraoka I., Horibata K., Ubukata M., Kobatake E., Iwai S., Handa H., Tanaka K. Blockage of RNA polymerase II at a cyclobutane pyrimidine dimer and 6-4 photoproduct. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2004;320(4):1133–1138.
41. Brueckner F., Hennecke U., Carell T., Cramer P. CPD damage recognition by transcribing RNA polymerase II. *Science.* 2007;315(5813):859–862.
42. Walmacq C., Cheung A.C.M., Kireeva M.L., Lubkowska L., Ye C., Gotte D., Strathern J.N., Carell T., Cramer P., Kashlev M. Mechanism of translesion transcription by RNA polymerase II and its role in cellular resistance to DNA damage. *Mol. Cell.* 2012;46(1):18–29.
43. Tkachev V., Menshchikova E., Zenkov N.K. Mechanism of the Nrf2/Keap1/ARE signaling system. *Biochemistry (Mosc.).* 2011;76(4):407–422.
44. Tekutskaya E.E., Il'chenko G.P., Dorohova A.S., Malyshko V.V., Baryshev M.G., Dzhimak S.S. 8-Oxoguanine–DNA–glycosylase gene polymorphism and the effects of an alternating magnetic field on the sensitivity of peripheral blood. *Front. Biosci. (Landmark Ed.).* 2023;28(10):252.
45. Tewari A., Grage M.M.L., Harrison G.I., Sarkany R., Young A.R. UVA1 is skin deep: molecular and clinical implications. *Photochem. Photobiol. Sci.* 2013;12(1):95–103.
46. Halliday G.M., Cadet J. It's all about position: the basal layer of human epidermis is particularly susceptible to different types of sunlight-induced DNA damage. *J. Invest. Dermatol.* 2012;132(2):265–267.
47. Delinasios G.J., Karbaschi M., Cooke M.S., Young A.R. Vitamin E inhibits the UVA1 induction of “light” and “dark” cyclobutane pyrimidine dimers, and oxidatively generated DNA damage, in keratinocytes. *Sci. Rep.* 2018;8(1):423.
48. Lawrence K.P., Douki T., Sarkany R.P.E., Acker S., Herzog B., Young A.R. The UV/Visible radiation boundary region (385–405 nm) damages skin cells and induces “dark” cyclobutane pyrimidine dimers in human skin *in vivo*. *Sci. Rep.* 2018;8(1):12722.
49. Mouret S., Forestier A., Douki T. The specificity of UVA-induced DNA damage in human melanocytes. *Photochem. Photobiol. Sci.* 2012;11(1):155–162.
50. Noonan F., Zaidi M.R., Wolnicka–Glubisz A., Anver M.R., Bahn J., Wielgus A., Cadet J., Douki T., Mouret S., Tucker M.A., Popratiloff A., Merlino G., De Fabo E.C. Melanoma induction by UVA but not UVB radiation requires melanin. *Nat. Commun.* 2012;3(1):884.
51. Premi S., Wallisch S., Mano C.M., Weiner A.B., Bacchicocchi N., Wakamatsu K., Bechara E.J., Halaban R., Douki T., Brash D.E. Photochemistry. Chemiexcitation of melanin derivatives induces DNA photoproducts long after UV exposure. *Science.* 2015;347(6224):842–847.
52. Premi S., Brash D.E. Chemical excitation of electrons: a dark path to melanoma. *DNA Repair (Amst.).* 2016;44:169–177.
53. Premi S., Brash D.E. Unanticipated role of melanin in causing carcinogenic cyclobutane pyrimidine dimers. *Mol. Cell. Oncol.* 2016;3(1):e1033588.
54. Fajuyigbe D., Douki T., van Dijk A., Sarkany R.P.E., Young A.R. Dark cyclobutane pyrimidine dimers are formed in the epidermis of Fitzpatrick skin types I/II and VI *in vivo* after exposure to solar-simulated radiation. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2021;34(3):575–584.

Поступила в редакцию 10.04.2024

После доработки 28.08.2024

Принята в печать 03.10.2024

REVIEW

Photosensitized reactions of oxidative damage to biomolecules: role in genotoxic and cytotoxic processes

G.Ya. Fraikin 

*Department of Biophysics, Biological Faculty, Lomonosov Moscow State University,
Leninskiye Gory, 1–12, Moscow, 119234, Russia
e-mail: gfraikin@yandex.ru*

Photosensitized oxidation reactions of biomolecules such as lipids, proteins, DNA initiate cytotoxic and genotoxic processes that are mediated by endogenous sensitizers under effect of ultraviolet radiation in the range A (UVA, 320–400 nm) on living systems. The photosensitization reactions are oxygen-dependent and depending upon primary mechanism are divided into type I and type II. Type I reactions involve electron transfer between photoexcited sensitizer and biomolecule with the formation of radical states. The interaction of radical cation of biomolecule with oxygen leads to the production of its final oxidation products, and electron transfer between radical anion of sensitizer and oxygen generates superoxide anion radical ($O_2^{\bullet-}$) with following production of H_2O_2 and the highly reactive hydroxyl radical ($^{\bullet}OH$). In contrast to radical mechanism of type I reactions, primary mechanism of type II reactions involves energy transfer from photoexcited sensitizer to oxygen (O_2) that leads to the formation of singlet oxygen (1O_2 , $^1\Delta_g$), which is much more reactive in relation to biomolecule oxidation than O_2 . Current knowledge on mechanisms of initial stages of the type I and type II reactions as well as their involvement in the oxidized degradation of biomolecules such as DNA, proteins and lipids are expounded in detail in present review. Sensitized properties of pterins, riboflavin and protoporphyrin IX with characteristic peculiarities of action of each of these photosensitizers are also considered. The considerable attention is given to processes of photosensitized damage to DNA and discussing the role of different DNA photoproducts in initiating genotoxic processes including carcinogenesis in human skin.

Keywords: *photosensitized reactions, oxidized degradation of biomolecules, DNA photoproducts, genotoxic processes, cellular photosensitizers, UVA photons*

Funding: This study was performed under the state assignment of Moscow State University, project number 121032500058-7.

Сведения об авторе

Фрайкин Григорий Яковлевич – докт. биол. наук, проф. кафедры биофизики биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-39-68; e-mail: gfraikin@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7267-2338>