ОБЗОР

УДК 57.021

РОЛЬ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В ВОСПАЛЕНИИ. МИНИ-ОБЗОР

М.А. Челомбитько

Кафедра клеточной биологии и гистологии, биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12
e-mail: chelombitko@mail.bio.msu.ru

Воспаление представляет собой защитную реакцию многоклеточного организма на повреждение, направленную на локализацию, уничтожение и удаление повреждающего агента, а также на восстановление (или замещение) поврежденных им тканей. В последнее время появляется все больше данных, свидетельствующих об участии активных форм кислорода (АФК) в инициации, развитии и завершении воспалительной реакции. При этом АФК выступают в качестве бактерицидных агентов и “вторичных мессенджеров” при внутриклеточной передаче сигналов. Последнюю функцию они выполняют посредством посттрансляционной модификации белков, содержащих в своем составе редокс-чувствительные остатки цистеина, которые могут подвергаться окислению. В то же время известно, что чрезмерная продукция АФК может привести к серьезному повреждению клеток и тканей и способствовать хронизации воспаления, лежащего в основе многих нейродегенеративных, сердечно-сосудистых и метаболических заболеваний. В настоящей работе рассматриваются сведения об участии АФК в ключевых этапах воспалительного процесса (увеличении проницаемости стенки сосудов и миграции лейкоцитов, респираторном взрыве и фагоцитозе, ангиогенезе), а также некоторых из событий, ведущих к завершению воспаления. Помимо этого, рассматривается патологическая роль АФК при окислительном стрессе.

Ключевые слова: *активные формы кислорода, воспаление, окислительный стресс, НАДФН-оксидаза, респираторный взрыв, митохондрии*

Активные формы кислорода (АФК) представляют собой свободные радикалы (молекулы или фрагменты молекул, содержащие один или более неспаренных электронов на атомных или молекулярных орбиталях), являющиеся производными молекулы кислорода. К АФК относят супероксидный анион-радикал (O_2^-), гидроксильный ($HO^\bullet$) и пероксидный радикалы ($HO_2^\bullet$), пероксид водорода (H_2O_2), оксид азота (NO), гипохлорную кислоту (HOCl), а также синглетный кислород ($^1O_2$) [1].

Главным источником АФК во многих типах клеток являются митохондрии. Здесь они образуются в результате работы электрон-транспортной цепи (комплексов дыхательной цепи митохондрий: I-го – НАДН-дегидрогеназы и III-го – цитохром-bc1-комплекса), а также дегидрогеназ в матриксе, белка p66shc в межмембранном пространстве и моноаминооксидазы во внешней мембране. АФК образуются также в результате работы других ферментов в клетке: ксантиноксидазы, циклооксигеназы, миелопероксидазы, НАДФН-оксидазы, цитохрома P450, липоксигеназы, а также оксидоредуктазы 1α [2].

В высоких концентрациях АФК оказывают повреждающее воздействие на ДНК, липиды и белки, а в низких – выступают в качестве важных медиаторов, участвующих в регуляции роста клеток, их адгезии, дифференцировке, клеточной гибели и др. АФК участвуют во внутриклеточном сигналинге посредством посттрансляционной модификации редокс-чувствительных белков, среди которых различные рецепторы и каналы, киназы и фосфатазы, каспазы, транскрипционные факторы. К редокс-чувствительным белкам относят те белки, которые имеют в своем составе функционально значимые остатки цистеина, которые могут подвергаться окислению. Так, H_2O_2 может окислять сульфгидрильные группы цистеина (Cys–SH) с образованием сульфеновой (Cys–SOH) и далее сульфиновой (Cys–SO_2H) и сульфоновой (Cys–SO_3H) кислот. Эти модификации изменяют активность белка, влияя на его функцию в пути передачи сигнала [3].

К настоящему времени накоплено немало данных, свидетельствующих об участии АФК в инициации, развитии и завершении воспаления. Далее мы рассмотрим участие АФК в ключевых событиях этого процесса.

Проницаемость сосудистой стенки и миграция лейкоцитов

На первом этапе развития воспалительной реакции активированные в результате воздействия повреждающих агентов клетки врожденного иммунитета – главным образом, макрофаги и тучные – секретируют различные воспалительные медиаторы, обеспечивающие увеличение проницаемости со-

судистой стенки и миграцию лейкоцитов в очаг повреждения [4].

Многочисленные данные подтверждают важную роль АФК в регуляции данного этапа воспаления. Так, АФК регулируют экспрессию на поверхности эндотелия таких молекул межклеточной адгезии, как ICAM-1, VCAM-1, P- и E-селектины, что обеспечивает его взаимодействие с лейкоцитами крови и их дальнейшую трансэндотелиальную миграцию [5]. Повышенная экспрессия антиоксидантного фермента супероксиддисмутазы ухудшает прикрепление лейкоцитов к эндотелию в условиях воспаления, уменьшая экспрессию адгезивных молекул [6].

Генерируемая в области повреждения H_2O_2 образует градиент и является одним из ранних факторов привлечения лейкоцитов [7]. Такие цитокины, как фактор некроза опухоли (TNF, tumor necrosis factor), ангиопоэтин-1, тромбоцитарный фактор роста (PDGF, platelet-derived growth factor), фактор роста эндотелия сосудов (VEGF, vascular endothelial growth factor) и ряд компонентов внеклеточного матрикса, стимулируют миграцию и адгезию клеток, которая сопровождается активацией НАДФН-оксидазы [8]. Нейтрофилы, с пониженной активностью НАДФН-оксидазы, хуже мигрируют в очаг воспаления у мышей [9].

Также АФК действуют на проницаемость эндотелиального барьера, оказывая влияние на межклеточные контакты. Так, окклудины – белки плотных контактов – являются редокс-чувствительными. Их экспрессия снижается в условиях окислительного стресса. Также известно, что олигомеризация окклудинов зависит от работы глутатионовой антиоксидантой системы клетки. В условиях воспаления баланс восстановленной и окисленной форм глутатиона смещается в сторону последней, что приводит к развитию окислительного стресса и нарушению сборки окклудинов, что увеличивает проницаемость плотных контактов [10].

АФК также оказывают влияние на еще один вид межклеточных соединений в эндотелии – адгезивные контакты. Это осуществляется – главным образом, за счет фосфорилирования ключевых сериновых и тирозиновых остатков белков, входящих в их состав (VE-кадгерина, β-катенина и катенина p120), что приводит к нарушению структуры межклеточных соединений такого типа [5]. Важную роль в диссоциации этих контактов играет малая ГТФаза Rac1 из семейства Rho. Так, было показано, что воздействие цитокина VEGF на клетки эндотелия легочных капилляров человека HMVECs вызывает в них Rac1-зависимую продукцию АФК, ведущую к фосфорилированию VE-кадгерина и β-катенина и разборке контактов [11].

Респираторный взрыв и фагоцитоз

Наиболее известной ролью АФК в воспалении является их участие в феномене “респираторного взрыва”. Прибыв в очаг воспаления, нейтрофилы и макрофаги фагоцитируют патогены и клеточный дебрис. Этот процесс индуцирует сборку и активацию фермента НАДФН-оксидазы на мембране фагосомы. Благодаря работе данного фермента происходит восстановление O_2 до O_2^-, дающего начало другим АФК. Образовавшиеся в результате “респираторного взрыва” АФК выделяются не только в фагосомы, но и в окружающую ткань. При этом они выступают, главным образом, в качестве бактерицидных агентов [12]. Интересно отметить, что, в зависимости от размера патогена, сборка НАДФН-оксидазы осуществляется либо на плазматической мембране, либо на мембране фагосом нейтрофилов. Так, микробы малого размера вызывают внутриклеточную продукцию АФК, что приводит к подавлению экспрессии интерлейкина IL-1β и ограничению притока новых нейтрофилов. Патогены больших размеров вызывают внеклеточную генерацию АФК, что усиливает экспрессию IL-1β и приводит к образованию кластеров нейтрофилов вокруг патогенов [13]. НАДФН-оксидаза играет важную роль в развитии воспалительной реакции не только благодаря ее участию в развитии “респираторного взрыва”. Данный фермент необходим также для образования внеклеточных нейтрофильных ловушек [14].

Ангиогенез

Ангиогенез представляет собой процесс роста новых сосудов и является важным этапом пролиферативной стадии воспаления. Существуют факты, свидетельствующие о ключевой роли АФК, генерируемых НАДФН-оксидазой, на данном этапе воспалительной реакции. На клетках эндотелия пупочной вены человека HUVECs показано, что НАДФН-оксидаза расположена на лидирующем конце мигрирующей клетки и связана с актином и белком IQGAP1 (Ras GTPase-activating-like protein). Разрушение этой связи ведет к перемещению НАДФН-оксидазы из лидирующего конца и нарушению миграции эндотелиальных клеток [15]. По-видимому, влияние АФК на миграцию клеток во многом опосредуется редокс-чувствительностью малых ГТФаз семейства Rho, отвечающих за перестройку цитоскелета. Так, на клетках HUVECs было показано, что VEGF индуцирует миграцию клеток эндотелия, которая сопровождается увеличением продукции АФК в митохондриях. Использование митохондриально-направленного антиоксиданта на основе витамина E – Mito-Vit-E, а также сверхэкспрессия митохондриальной каталазы ингибировали VEGF-индуцированную продукцию митохондриальных АФК, активацию ГТФазы Rac1 и миграцию клеток. В случае, когда в условиях эксперимента ГТФаза Rac1 находилась в конститутивно активной форме, использование антиоксиданта Mito-Vit-E не влияло на миграцию клеток. Эти результаты свидетельствуют о том, что АФК, генерируемые в митохондриях, регулируют миграцию этих клеток при участии Rac1 [16].

Завершение процесса воспаления

Растет число свидетельств участия АФК в ряде процессов, способствующих естественному завершению процесса воспаления. Одним из ключевых событий, предшествующих окончанию воспаления, является массовая гибель нейтрофилов. Сигнальные пути, регулирующие апоптоз гранулоцитов и других клеток, являются АФК-зависимыми. Так, в модели антиген-индуцированного артрита у мышей показано участие H_2O_2 в индукции апоптоза нейтрофилов и завершении воспалительной реакции [17].

Другим важным событием, способствующим переходу к завершающей фазе воспаления, является фагоцитоз апоптотических клеток М2-макрофагами, проявляющими антивоспалительную активность. Имеются сведения о том, что взаимодействие макрофагов с апоптотическими тельцами приводит к дестабилизации мРНК НАДФН-оксидазы за счет РНК-связывающего белка SYNCRIP (Synaptotagmin binding, cytoplasmic RNA interacting protein), что в итоге ведет к уменьшению продукции АФК и активации макрофагов по типу М2 [18]. В то же время продукция АФК играет важную роль в ходе М2-дифференцировки. Так, ингибирование НАДФН-зависимой продукции O_2^- с помощью бутилгидроксианизола специфически блокирует дифференцировку этого типа макрофагов, не оказывая влияние на развитие провоспалительных М1-макрофагов [19]. Стоит отметить, что бактерицидная активность макрофагов М1 требует продолжительной продукции АФК индуцибельной NO-синтазой, НАДФН-оксидазой, а также митохондриями. АФК играют важную роль в поддержании провоспалительного фенотипа макрофагов также за счет активации сигнального пути NF-κB (Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells), участвующего в экспрессии провоспалительных цитокинов [20].

Известно, что АФК могут оказывать на NF-κB-сигналинг как активирующее, так и ингибирующее влияние. Активация транскрипционного фактора NF-κB под действием АФК осуществляется, главным образом, за счет инактивирующего фосфорилирования его ингибиторного белка IκBα. Так, H_2O_2 влияет на фосфорилирование IκBα по остаткам тирозина, что приводит к деградации IκBα и активации NF-κB. При этом прямое воздействие АФК на гетеродимер NF-κB подавляет его способность к связыванию с ДНК. В свою очередь, NF-κB-сигнальный путь может влиять на внутриклеточный уровень АФК путем увеличения экспрессии различных антиоксидантных белков (супероксиддисмутаза, каталаза, тиоредоксины 1 и 2 и др.). Также NF-κB активирует транскрипцию ряда ферментов, участвующих в продукции АФК, таких как НАДФН-оксидаза, индуцибельная NO-синтаза, циклооксигеназа 2, липоксигеназы 5 и 12 [21].

Окислительный стресс

Несмотря на то, что АФК являются важными регуляторными молекулами практически на всех этапах воспалительного процесса, их чрезмерное выделение митохондриями и НАДФН-оксидазой лейкоцитов и эндотелия в очаге повреждения, не скомпенсированное работой антиоксидантных систем, в конечном итоге может привести к серьезному повреждению клеток и тканей и способствовать хронизации воспаления, лежащем в основе многих нейродегенеративных, сердечно-сосудистых и метаболических заболеваний [22].

При развитии в клетке окислительного стресса происходит нарушение редокс-статуса клетки: его смещение в сторону процессов окисления. При этом АФК начинают оказывать негативное влияние на различные компоненты клетки. В результате перекисного окисления липидов полиненасыщенных жирных кислот ω-3 и ω-6 мембранных фосфолипидов происходит повреждение мембран. Кроме того, в результате перекисного окисления липидов происходит образование относительно стабильных конечных продуктов, таких как 4-гидрокси-2-ноненаль и малоновый диальдегид, которые могут сами по себе вызывать цитотоксический эффект. Окисление белков по остаткам тирозина, серина и цистеина приводит к нарушению их функциональной активности. Развитие окислительного стресса приводит к одно- и/или двухцепочечным разрывам ДНК. Вызываемые окислительным стрессом повреждения в митохондриях сопровождаются снижением трансмембранного потенциала, изменением проницаемости мембран и ускорением высвобождения апоптотических факторов. Все вышеперечисленные факторы нарушают функциональную способность клетки, приводя к ее гибели [3, 23].

Таким образом, имеющиеся на сегодняшний день сведения о влиянии АФК на воспаление, свидетельствуют об их многогранной, но еще мало изученной роли в этом процессе. При этом известно, что АФК выступают не только в качестве бактерицидных агентов, но и участвуют в регуляции внутриклеточной передачи сигнала, а их чрезмерная продукция может способствовать хронизации воспалительного процесса. На сегодняшний день накоплено немало данных, демонстрирующих успешность применения препаратов с антиоксидантными свойствами в комплексной терапии воспалительных заболеваний [24]. При этом в последние годы растет число работ, посвященных разработке и исследованию противовоспалительных свойств митохондриально-направленных антиоксидантов. Перспективность применения подобных соединений объясняется тем, что митохондрии являются одним из основных источников АФК при развитии окислительного стресса, играющим ключевую роль в патогенезе воспалительных заболеваний [1, 25]. Изучение роли АФК различного происхождения в регуляции воспалительной реак-

ции важно не только для расширения представлений об их участии в биологических процессах, но и для понимания механизмов протекторного действия препаратов с антиоксидантными свойствами, что, в конечном счете, создает основу для разработки более эффективных противовоспалительных лекарственных средств.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 14-50-00029).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Feniouk B.A., Skulachev V.P.* Cellular and molecular mechanisms of action of mitochondria-targeted antioxidants // Curr. Aging Sci. 2017. Vol. 10. N 1. P. 41–48.

2. *Holmstrom K.M., Finkel T.* Cellular mechanisms and physiological consequences of redox-dependent signaling // Nat. Rev. Mol. Cell Bio. 2014. Vol. 15. N 6. P. 411–421.

3. *Kalinina E.V., Chernov N.N., Novichkova M.D.* Role of glutathione, glutathione transferase, and glutaredoxin in regulation of redox-dependent processes // Biochemistry (Mosc). 2014. Vol. 79. N 13. P. 1562–1583.

4. *Medzhitov R.* Origin and physiological roles of inflammation // Nature. 2008. Vol. 454. N 7203. P. 428–435.

5. *Mittal M., Siddiqui M.R., Tran K., Reddy S.P., Malik A.B.* Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury // Antioxid. Redox Sign. 2008. Vol. 20. N 7. P. 1126–1167.

6. *Laurila J.P., Laatikainen L.E., Castellone M.D., Laukkanen M.O.* SOD3 reduces inflammatory cell migration by regulating adhesion molecule and cytokine expression // PLoS One. 2009. Vol. 4. N 6:e5786.

7. *Niethammer P., Grabher C., Look A.T., Mitchison T.J.* A tissue-scale gradient of hydrogen peroxide mediates rapid wound detection in zebrafish // Nature. 2009. Vol. 459. N 7249. P. 996–999.

8. *Hurd T.R., DeGennaro M., Lehmann R.* Redox regulation of cell migration and adhesion // Trends Cell Biol. 2012. Vol. 22. N2. P. 107–115.

9. *Hattori H., Subramanian K.K., Sakai J., et al.* Small-molecule screen identifies reactive oxygen species as key regulators of neutrophil chemotaxis // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2010. Vol. 107. N 8. P. 3546–3551.

10. *Blasig I.E., Bellmann C., Cording J., Del Vecchio G., Zwanziger D., Huber O., Haseloff R.F.* Occludin protein family: oxidative stress and reducing conditions // Antioxid. Redox Sign. 2011. Vol. 15. N 5. P. 1195–1219.

11. *Monaghan-Benson E., Burridge K.* The regulation of vascular endothelial growth factor-induced microvascular permeability requires Rac and reactive oxygen species // Biol. Chem. 2009. Vol. 284. N 38. P. 25602–25611.

12. *Segal A.W.* The function of the NADPH oxidase of phagocytes and its relationship to other NOXs in plants, invertebrates, and mammals // Int. J. Biochem. Cell B. 2008. Vol. 40. N 4–3. P. 604–618.

13. *Warnatsch A., Tsourouktsoglou T.D., Branzk N., Wang Q., Reincke S., Herbst S., Gutierrez M., Papayannopoulos V.* Reactive oxygen species localization programs inflammation to clear microbes of different size // Immunity. 2017. Vol. 46. N 3. P. 421–432.

14. *Khan M.A., Palaniyar N.* Transcriptional firing helps to drive NETosis // Sci. Rep. 2017. Vol. 7:41749.

15. *Ikeda S., Yamaoka-Tojo M., Hilenski L., Patrushev N.A., Anwar G.M., Quinn M.T., Ushio-Fukai M.* IQGAP1 regulates reactive oxygen species-dependent endothelial cell migration through interacting with Nox2 // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2005. Vol. 25. N. 11. P. 2295–2300.

16. *Wang Y., Zang Q.S., Liu Z., Wu Q., Maass D., Dulan G., Shaul P.W., Melito L., Frantz D.E., Kilgore J.A., Williams N.S., Terada L.S., Nwariaku F.E.* Regulation of VEGF-induced endothelial cell migration by mitochondrial reactive oxygen species // Am. J. Physiol. Cell Physiol. 2011. Vol. 301. N 3. P. C695–C704.

17. *Lopes F., Coelho F.M., Costa V.V., Vieira É.L., Sousa L.P., Silva T.A., Vieira L.Q., Teixeira M.M., Pinho V.* Resolution of neutrophilic inflammation by H_2O_2 in antigen-induced arthritis //Arthritis Rheum. 2011. Vol. 63. N 9. P. 2651–2660.

18. *Kuchler L., Giegerich A.K., Sha L.K., Knape T., Wong M.S., Schröder K., Brandes R.P., Heide H., Wittig I., Brüne B., von Knethen A.* SYNCRIP-dependent Nox2 mRNA destabilization impairs ROS formation in M2-polarized macrophages // Antioxid. Redox Sign. 2014. Vol. 21. N 18. P. 2483–2497.

19. *Zhang Y., Choksi S., Chen K., Pobezinskaya Y., Linnoila I., Liu Z.G.* ROS play a critical role in the differentiation of alternatively activated macrophages and the occurrence of tumor-associated macrophages // Cell Res. 2013. Vol. 23. N 7. P. 898–914.

20. *Tan H.Y., Wang N., Li S., Hong M., Wang X., Feng Y.* The reactive oxygen species in macrophage polarization: reflecting its dual role in progression and treatment of human diseases // Oxid. Med. Cell. Longev. 2016. Vol. 2016: 2795090.

21. *Morgan M.J., Liu Z.G.* Crosstalk of reactive oxygen species and NF-κB signaling // Cell Res. 2011. Vol. 21. N 1. P. 103–115.

22. *Wagener F.A., Carels C.E., Lundvig D.M.* Targeting the redox balance in inflammatory skin conditions// Int. J. Mol. Sci. 2013. Vol. 14. N 5. P. 9126–9167.

23. *Dalle-Donne I., Rossi R., Colombo R., Giustarini D., Milzani A.* Biomarkers of oxidative damage in human disease // Clin. Chem. 2006. Vol. 52. N 4. P. 601–623.

24. *Liu Z., Ren Z., Zhang J., Chuang C.C., Kandaswamy E., Zhou T., Zuo L.* Role of ROS and nutritional antioxidants in human diseases // Front. Physiol. 2018. Vol. 9:477.

25. *Oyewole A.O., Birch-Machin M.A.* Mitochondria-targeted antioxidants // FASEB J. 2015. Vol. 29. N 12. P. 4766–4771.

Поступила в редакцию
29.05.18

Принята в печать
05.09.18

REVIEW

THE ROLE OF REACTIVE OXYGEN SPECIES IN INFLAMMATION. MINI-REVIEW

M.A. Chelombitko

Department of Cell Biology and Histology, School of Biology, Lomonosov Moscow State University, Leninskiye gory 1–12, Moscow, 119234, Russia;
e-mail: chelombitko@mail.bio.msu.ru

Inflammation is a protective response of a multicellular organism to injury. The function of inflammation is to localize and eliminate harmful stimuli, as well as repair (or replace) damaged tissues. There is increasing evidence that reactive oxygen species (ROS) participate in the initiation, progression and resolution of an inflammatory reaction. In this case, ROS act as bactericidal agents and "second messengers" in intracellular signaling. The latter function is performed by post-translational modification of proteins containing redox-sensitive cysteine residues, which are susceptible to oxidation. At the same time, overproduction of ROS can lead to cell and tissue injury and contribute to chronic inflammation underlying many neurodegenerative, cardiovascular and metabolic diseases. In this review, we focus on the role of ROS in critical inflammatory events, including increased vascular permeability and leukocyte extravasation, respiratory burst and phagocytosis, angiogenesis, as well as some events leading to the resolution of inflammation. In addition, we discuss the pathological role of ROS in oxidative stress.

Keywords: *reactive oxygen species, inflammation, oxidative stress, NADPH-oxidase, respiratory burst, mitochondria*

Сведения об авторе

Челомбитько Мария Александровна – мл. науч. сотр. кафедры клеточной биологии и гистологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-45-67;
e-mail: chelombitko@mail.bio.msu.ru