

- Лекция 8

- **Тотығу стрестің өсімдіктерге әсері**



- **Оттектің активті формалары**

- Стресс жағдайда оттектің активті формалары түзіледі.

- ОАФ-ға оттектің аз мөлшері аналғанға қарамастан

- (2—5%), олар өте уытты болады, барлық клетканың компоненттерін зақымдайды.

- Барлық ОАФ - **O_2 молекуласының жартылай тотықсызданудың өнімі.**

Оттек барлық тірі ағзалардың құрамына кіреді.

Негізгі жағдайында **оттеkte** екі қосылмаған электрондары бар, басқаша айтқанда, ол **би-радикал** болып келеді, ол жағдайда оның активтігі онша жоғары болмайды.

Триплеттік жағдайдағы ($^3\text{O}_2$), кәдімгі молекулалық оттектен басқа, оның **6** активті туындылары болады.



Органикалық
молекулалар

Синглетті

Спіндері
Антипараллельді

Оттепен баяу
әрекеттеседі

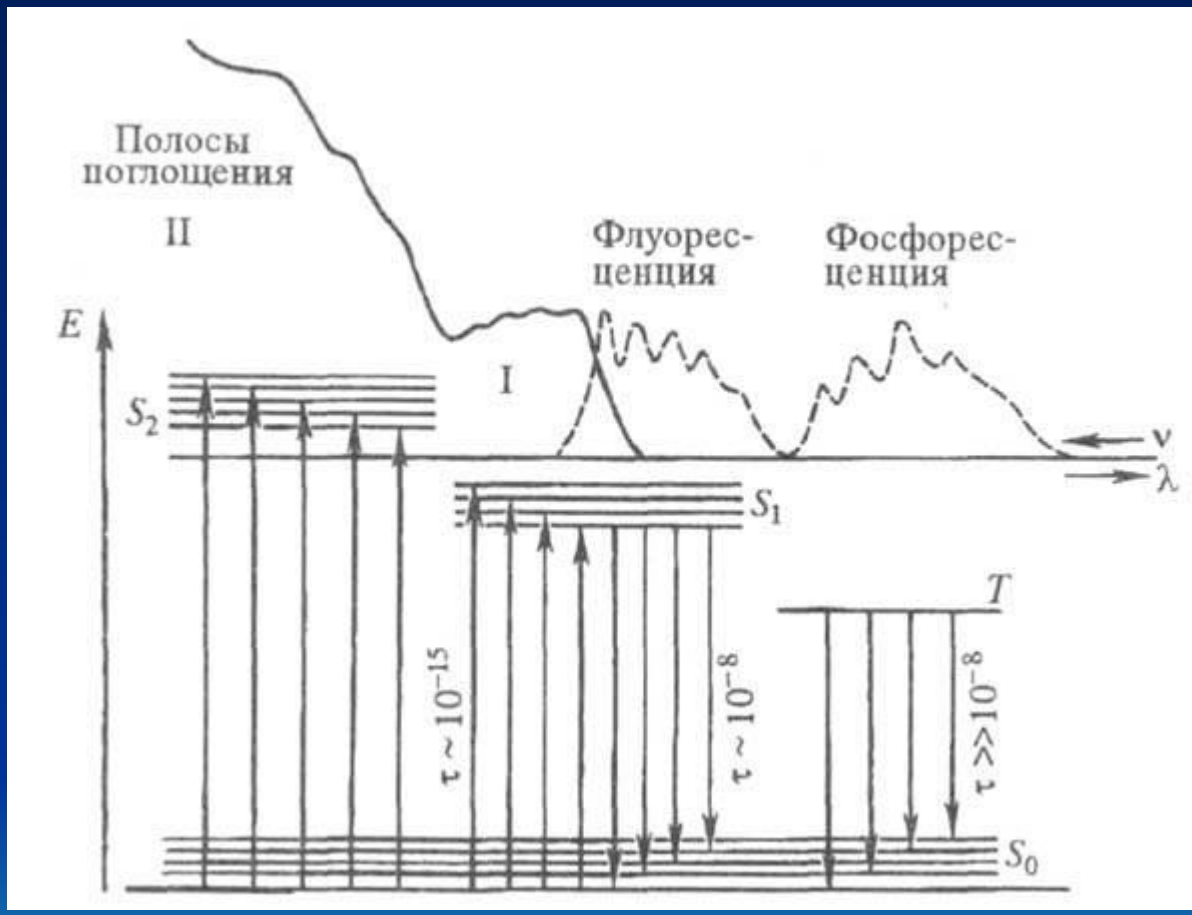
Молекулалық
оттек

Триплет,
екі қосылмаған
электрондар
параллельді
спіндерімен

Классификация электронных состояний молекулы основывается на ряде признаков, из к-рых, прежде всего, следует отметить *мультиплетность* и тип симметрии. Мультиплетность электронного состояния M задается квантовым числом S результирующего электронного спина ($M = 2S + 1$) и характеризует кратность вырождения состояния по спину. Состояние с $M = 1$ ($S = 0$) наз. синглетным (обозначается буквой S), состояние с $M=2$ ($S = 1/2$) - дублетным (D), состояния с $M=3$ - триплетным (T) и т.д. В магн. поле вырождение, состояний снимается: дублетное состояние расщепляется на два подуровня, триплетное - на три подуровня (см. [Вырождение энергетических уровней](#)). Электронное состояние с наименьшей энергией наз. основным (как правило, 5_0 -состояние), остальные состояния - возбужденные ($S_1, S_2, T_1, T_2 \dots$). У большинства известных молекул в своб. состоянии основное состояние является синглетным. Молекулы с нечетным числом электронов, к числу к-рых относится, напр., NO, имеют обычно дублетное основное состояние. Среди молекул, имеющих в качестве основного триплетное состояние, прежде всего выделяют мол. кислород O_2 .

Возбужденные состояния молекул, образовавшиеся в результате поглощения кванта света, как правило, быстро теряют энергию возбуждения (дезактивируются), причем механизмы дезактивации м. б. различными. Время жизни низших возбужденных S_1 -состояний колеблется для разных молекул между 10^{-10} и 10^{-7} с, для T_1 состояний от 0,0001 с до неск. секунд. Лежащие более высоко по энергии возбужденные состояния часто дезактивируются безызлучательно и имеют времена жизни менее 10^{-11} с.





Спектры испускания. Многоатомные молекулы в конденсир. фазе способны заметно испускать свет лишь при переходах из S_1 - и T_1 состояний. Испускание, связанное с излучат. переходом $S_1 \rightarrow S_0$, получило назв. флуоресценции, а связанное с переходом $T_1 \rightarrow S_0$ - фосфоресценции (см.

Люминесценция). Возбужденные молекулы до акта испускания света успевают частично дезактивироваться и оказываются на нулевом колебат. уровне S_1 или T_1 **СОСТОЯНИЯ.**

При возбуждении в-ва линейно поляризованным светом испускание оказывается анизотропным. Степенью поляризации излучения наз. величину ρ где I_{\parallel} интенсивность той компоненты излучения, к-рая поляризована так же, как и возбуждающий свет, а I_{\perp} - интенсивность перпендикулярно поляризованной этому направлению компоненты. Степень поляризации излучения каждого в-ва в р-ре зависит, в частности, от природы р-рителя и от длины волны возбуждающего света.



Молекулалық оттект негізгі күйінде триплет болып келеді. Ол екі қосылмаған электрондары бар спиндері параллельды, олар әр түрлі орбитальда орналасқан.

Көбінесе органикалық молекулалар синглетті болады, электрондардың спиндері антипараллельды болады.

Спиндерінің бағыты әр түрлі болғандықтан органикалық заттар оттектің молекуласымен әрекеттесуі өте баяу жүреді.

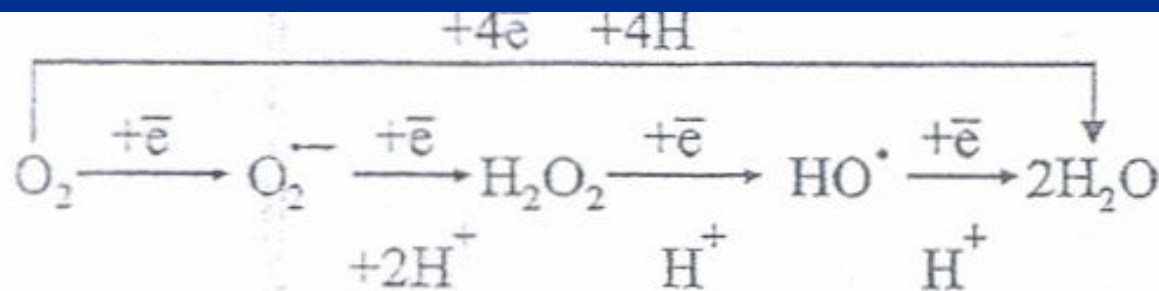
Оттектің молекуласының суға дейін тыныс алу тізбегінде толық тотықсыздану

4 электрон

ОАФ түзілуі

Бір элетрондық жартылай тотықсыздану

Бос радикалдар



Супероксидный анион-радикал

Пероксид водорода

Гидроксильный радикал

- Ұлпаларда ОАФ аз мөлшерде болады.
 - H_2O_2 - 10^{-8} моль/л,
 - O_2^{*-} - 10^{-11} моль/л,
 - HO^{*-} - 10^{-11} моль/л.
-
- ОАФ-ға сингдетті оттектен жатады ($^1\text{O}_2$).
 - Оның түзілуінің негізгі жолы сәулелік реакциялар арқылы.
 - Поглощая квант света пигмент-фотосенсибилизатор (главным образом хлорофилл) переходит в синглетное (1П) или триплетное (3П) возбужденное состояние.

• ОАФ-РЫ БИМОЛЕКУЛАЛАРДЫ ЗАҚЫМДАНУДА

- Молекулалық оттегі өз өзінен бақыланбайтын химиялық реакцияларға қатспайды, оны активтендіру үшін ферменттік процестер қажет.
- Оларға : оксидазалар және оксигеназалар жатады.
- Бірақ қаталитикалық орталықтарында оттегі соңғы өнімдеріне дейін айналады, ортаға бөлінбей, клетканы органикалық молекулаларын зақымдамай.
- Зақымдайтын агенттерге оттектің активті формалары жатады, олар физико-химиялық процестердің барысында пайда болады.
- Ең басты ОАФ (Осипов и др., 1990):
 - - супероксид радикалдар (O_2^-),
 - - сутектің асқын тотығы (H_2O_2),
 - - гидроксил (бос) радикалдар ($*OH, HO_2*$),
 - - синглетті оттегі **4**
 - - иондар HO_2^- .





Атомарлық оттегі
 O

Озон
 O_3

Синглеттік оттегі
 $^1\text{O}_2$

Супероксидті анион радикал
 O_2^-

Гидроксилды
радикал
 $\cdot\text{OH}$

Гидропероксидті
радикал
 $\cdot\text{OH}$



Тіршілік әрекетінің
өнімдеріне жатпайды

Атомарлық оттегі
 O

Озон
 O_3

Тотығу реакциялар нәтижесінде
пайда болатын оттектің активті
формалары

Синглеттік оттегі
 1O_2

Супероксидті анион радикал
 O_2^-

Гидропероксидті
радикал
 $\cdot OH$

Гидроксилды
радикал
 $\cdot OH$

- **Оттектің активті формалары (ОАФ)** – қысқа өмір сүретін активті реакцияларға жоғары қабілетті оттектің формалары, олар оттектің электрондық қозуының және тотығып-тотықсыздану реакцияларының нәтижесінде пайда болады .



- ОАФ түзілуінің бірнеше жолдары бар. Олар аэробты метаболизмде, егер тыныс алу тізбегінде оттегі толық тотықсызданбаса, жанама өнімдер түрде пайда болады.
- .
- ОАФК цитозоль ферменттің арқасында да жанама өнім ретінде түзіледі. Мысалы **ксантиноксидаза**,
- Бірақ кейбір ферменттер тек ОАФ генерациялайды.
- Мысалы, мембрананың **NADPH (никотинамидадениндинуклеотидфосфат)-оксидазасы (NADPH — oxidase — NOX)**.
- Ол молекулалық оттекті тотықсыздандырады, клетканың тысында супероксидке дейін O_2^{*-} , онда ол цитозольдік **NADPH-ты тотықтырады $NADP^+$** . -
дейін



Митохондриялар

Убихинонның
тотығып-
тотықсызданып
айналуы

Цианид-
резистентті
тыныс алу

ЭПТ

Цитохром
ом
P-450

НАДФН-тың тотығуы
Құрамында флавин
бар
ферменттердің
қатысуымен
(цитохром с
редуктазы).

Генерация
 O_2^{*-}

**Пероксисома
лар**

Ксантинноксид
аза

**Цитозоль
және клетка қабығы**

Пероксидазамен
субстраттардың тотығуы

- **Бос радикал** сыртқы орбитальда электроны бар бөлік.
- Ол бөлікті мынадай белгілейді « \cdot ».



Супероксидті анион радикал



Оттектің бір электрондық тотықсыздануының өнімі – протонданған формадағы гидропероксидті радикал ионданған формадағы супероксидті анион-радикал

Супероксидті радикалды сутектің асқын тотығының (H_2O_2) бір электрондық тотығу нәтижесінде алуға болады



Супероксид анион-радикал және басқа ОАФ клетканың әр түрлі құрылымдарында түзіледі.

Олар ферментсіз (фенолдардың, хинондардың, құрамында SH-топтары бар қосындылардың тотығу-тотықсыздану реакциялары) және ферменттердің қатысуымен жүретін процестер мен байланысты .



Супероксидті анион-радикалдың түзілуі құрамында флавин бар ксантинооксидаза, сияқты ферменттің қатысуымен, микросомдық монооксигеназалар, тотықсызданған флавиндердің және хинондардың тотығуында

Ксантинооксидаза пуриндерді мочева қышқылдарға катаболиздендіреді (пуриндер ДНКның құрамына кіреді), Микросомдық монооксигеназалар ксенобиотиктердің метаболизміне қатысады



- Митохондрии являются главным источником создания супероксидных анионов в клетках.
- В ходе транспорта электронов к молекулярному кислороду, в соответствии с оценками, от 1 до 5 % электронов в цепи дыхания теряются, в большинстве своем участвуя в формировании O_2 .
- Все, что уменьшает эффективность проводимости в цепи и нарушает транспорт электронов Все, что уменьшает эффективность проводимости в цепи и нарушает транспорт электронов , например нарушение кеточного окислительного (redox) потенциала может увеличивать производство супероксидов.

- Количество супероксидов Количество супероксидов и перекисное окисление липидов

Бос радикалда сыртқы орбитальда.
қосылмаған электрон болады

Супероксид анион радикал ол
тотықсызданудың бірінші өнімі, оның
протонданған формасы гидропероксидті
радикал (HO_2^\cdot)

Супероксидті радикал өте қатты зиян әсер етеді
мембраналарға



Молекулалық оттектен басқа, олар мембраналардан жақсы өтеді, **супероксидті радикалдың** заряды бар,

ол су молекулаларымен қоршалып тұрады, сондықтан ол гидрофобтық барьерді өте алмайды.

Ол өмір уақыты ұзақ болады. Және басқа ОАФның көзі болады.

Бір электрон және екі протон супероксидті радикалға қосылғанда сутектің асқын тотығы пайда болады.



АФК-ның генерациясында молекулалық оттектің күн сәуесінің әсерінен фотодиссоциацияның нәтижесінде пайда болған озон маңызды роль ойнайды.

Озон оттеппен әрекеттескенде **супероксид-анион** пайда болады:



Содан кейін сутектің асқын тотығы, синглетті оттеп және гидроксил-радикал.



H₂O₂

Ол орташа тотықтырғыш болып саналады.

Валенттігін ауыстыратын металдар болмаса ол тұрақты болады.

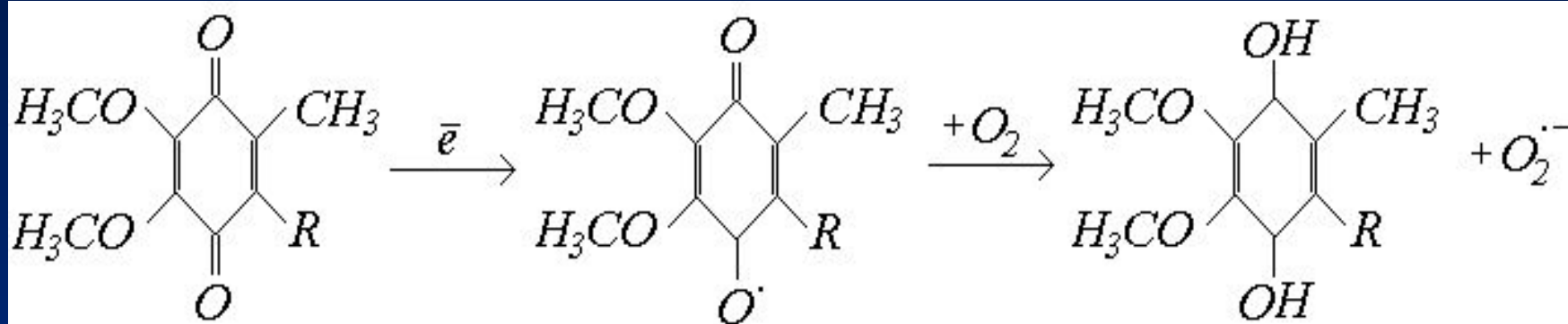
Бәрақ оның өмірі ұзақтығынан және қосқабатты липидтерден өту қабілетті бар болғандықтан мембранадан жақсы өтеді.



Супероксид анион-радикалдың түзілуі
құрамында флавин бар ксантинооксидаза,
сияқты ферменттің қатысуымен,
микросомдық монооксигеназалар,
тотықсызданған флавиндердің және
хинондардың тотығуында

Ксантинооксидаза пуриндерді несеп
қышқылға катаболиздендіреді
(пуриндер ДНКның құрамына кіреді),
Микросомдық монооксигеназалар
ксенобиотиктердің метаболизміне
қатысады





ХИНОН

СЕМИХИНОН

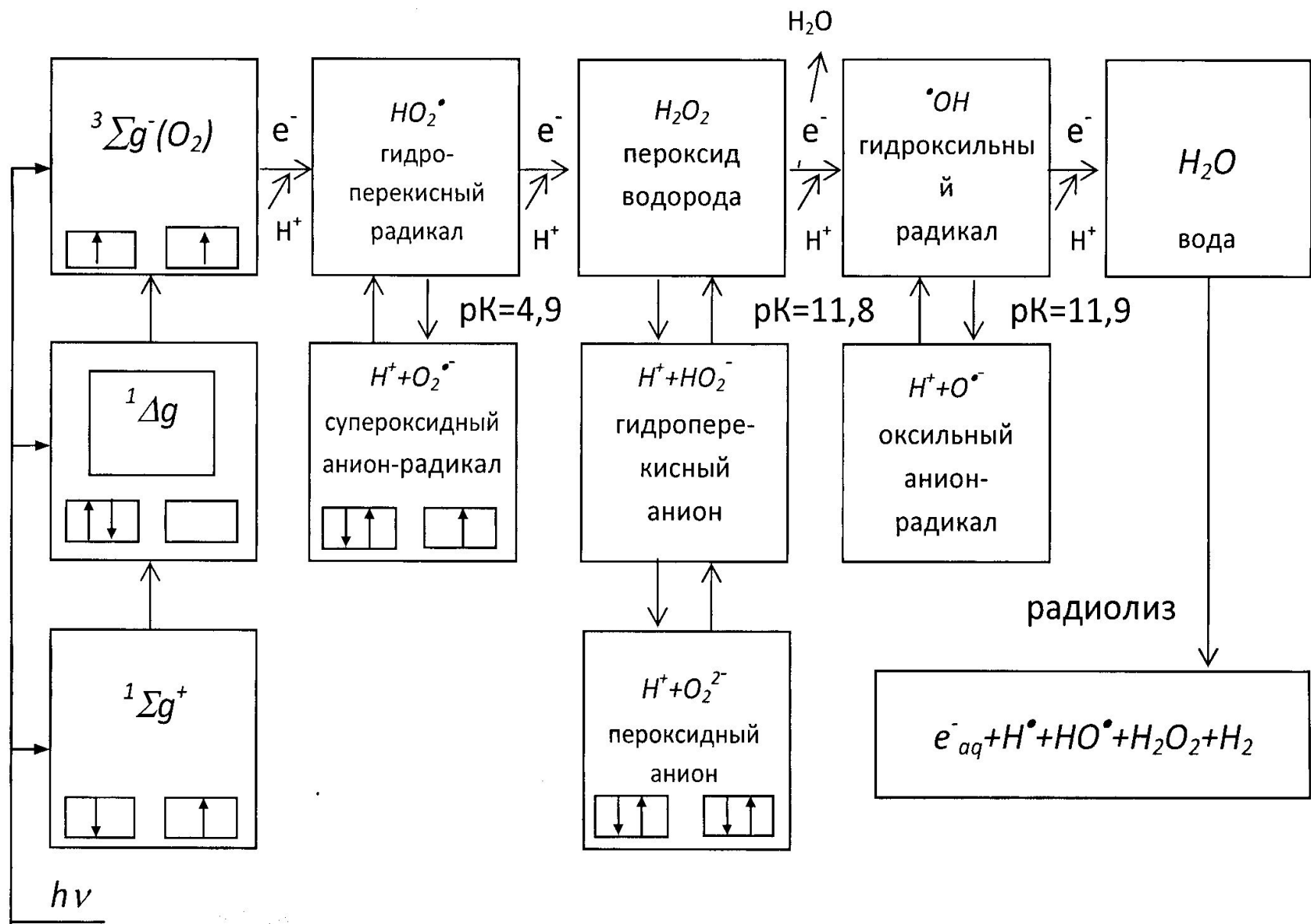


Рис. 3. Образование и взаимопревращение активных форм кислорода

Бірақ ең көп **супероксидтер** митохондриядағы және хлоропласттағы **электрон тасымалдаушы тізбектің жұмысында түзіледі.**

Супероксид оттектің хлоропластта тотықсыздануының негізгі бірінші өнімі болып келеді.

Ол фотосинтездің электрон тасымалдаушы тізбектің төмен потенциалды акцепторларында молекулалық оттекке электрондардың тасымалдану нәтижесінде пайда болады:

1 ФЖ - Гемсіз құрамында темір бар белокта **ферредоксінде** (Fd), b_{563} цитохромда және Фд-НАДФ⁺редуктазада;

2 ФЖ – бірінші ретті хинонды электрон акцепторде - феофитінде.

- Клеткалық қабығында оттектің радикалдары пайда болады. Ол өсімдіктің иммундық реакцияларында, клетка қабығындағы, оның ұзарғанында полисахаридтердің арасында фенолдық заттарды пайда болуы, лигниннің синтезінде, монофенолдардың босрадикалды полимеризациясында.

Супероксид анионға екінші электронның қосылу нәтижесінде сутектің асқын тотығуы, гидропероксидті және асқын тотыққан аниондар түзіледі, олар радикалды өнімдерге жатпайды.

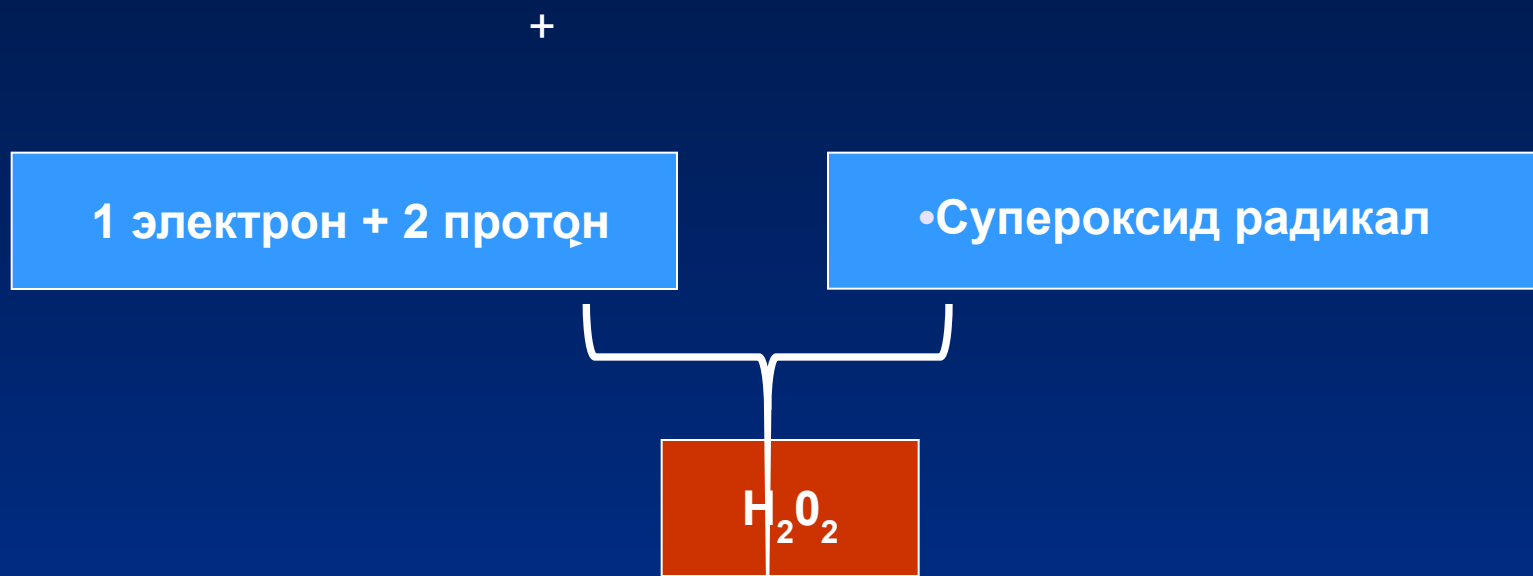
Супероксидті радикалдың су ерітінділерде активтігі төмен, Онда **супероксидті және гидроперексидті радикал дисмутацияға** ұшырайды – **сутектің асқын тотығы** пайда болады

Оттектің басқа радикалдарынан және **синглетті оттектен** айырмашылығы - оның ең маңызды қасиеті - салыстырмалы өмір сүру уақыты су ерітінділерде **ұзақ** (бірнеше микросекундалар), оның арқасында радикал тұзілген жерінен алыс жаққа жылжуы мүмкін.

Протонданғанда супероксид гидропероксидті радикалға **·ОН** айналады, оның тотығу әсері жоғары болады.



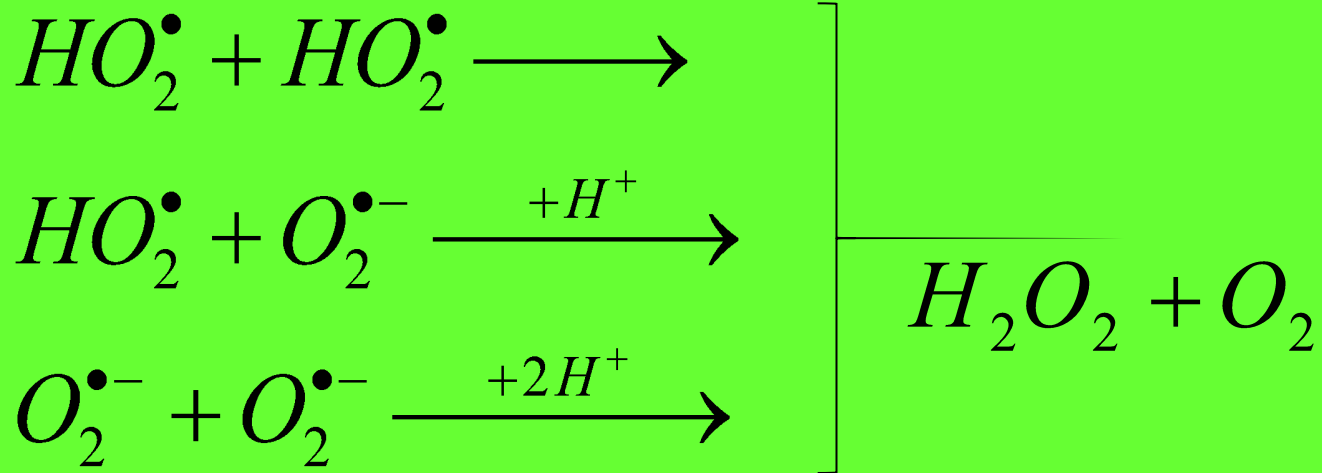
- Бір электрон және екі протондар супероксид радикалға қосылғанда сутектің асқын тотығыпайдаболады (H_2O_2)



- Сутектің асқын тотығы оттектің тотықсыздануының өнімдерінің ішінде ең тұрақты болып келеді. Онда электрлік заряд жоқ. Сондықтан ол биологиялыұ мембраналардан оңай өте алады.

- В то же время благодаря относительно продолжительному времени жизни и растворимости липидном бислое, пероксид может легко диффундировать через мембраны.

- При дальнейшем одноэлектронном восстановлении возможно появление гидроксильного радикала $HO\cdot$, очень сильного окислителя.



Осы ОАФның өмір сүру ұзақтығы 1 мс, сондықтан ол түзілген жерден біраз жерге диффузияланады.

Асқын тотықтың түзелетін жылдамдығы 100-200 нМ/м² жапырақтың алақанының бір секундада митохондрияда, 20 есе тезірек хлоропласттарда, 50 есе – өсімдік клеткаларындағы пероксисомаларда.

H_2O_2 – көп оксидазалардағы оттектің тотықсызданған өнімі.

Кейбір ферменттер, мысалы ксантинооксидаза, альдегидоксидаза, мембранамен байланысқан НАДФН-оксидазалар бір мезгілде супероксид және пероксид, олардың өатынасы концентрациядан және рНтан тәуелді.



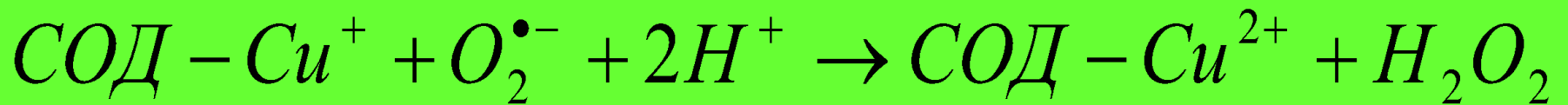
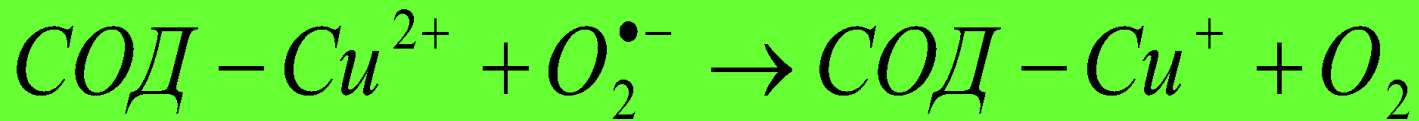
Хлоропластта сутектің асқын тотығы фото тыныс алуда түзіледі, гликолат гликолаоксидазамен тотыққынада, онда H_2O_2 ол каталазамен ыдырайды. затем разлагается каталазой.

Сутектің асқын тотығы Генерация пероксида водорода может происходить II ФЖ хлоропласттарда су фотототыққанда, феофитин-пластохинон бөлігінде.

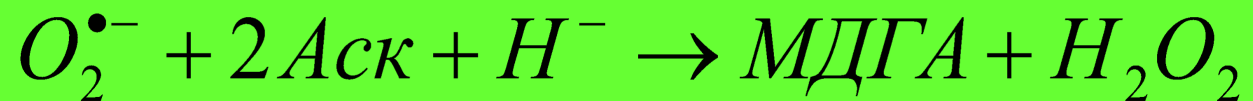
Және H_2O_2 (через супероксид) түзілуі ФЖ1 терминалды флавиндік редуктазаның қатысуымен жүреді Ф.



Бірінші ФЖ-де супероксидтің дисмутациясы жүреді.



Сутектің асқын тотығы супероксидтің хлоропласттағы және митохондриядағы тотықсыздандырғыштармен әрекеттескенде пайда болады : аскорбатпен, ферредоксинмен. Оны супероксидтің детоксикациялануы деп санауға болады:



Фентон реакциясы:



Сутектің асқын тотығының токсикалық әсері осымен белгіленеді

Хабера-Вайса реакциясы:



ГИДРОКСИЛ РАДИКАЛ $\text{OH}\cdot$

Келесі бір электрондық тотықсызданған нәтижесінде гидроксил радикал түзіледі $\text{OH}\cdot$

Ол қатты тотықтырғыш болып келеді.

Сонымен, сутектің асқын тотығының ролі тек өзінің химиялық реактивтігімен емес, ол басқа ОАФ түзу қабілетімен белгіленеді



- Гидроксил радикал клетканың ішінде миграция жасалмайды, себебі ол тез биомолекулаларымен реакцияға түседі.
- Оның негізгі көзі Фентон реакциясы металдардың қатысуымен.
- Темір $Fe^{2+} + H_2O_2 \longrightarrow Fe^{3+} + OH^- + HO\cdot$
- Металдар $HO\cdot$ -ты генерациялайды тек неорганикалық тұздарда емес және белоктарда да.

Гидроксил радикал клетканың ішінде миграция жасамайды, себебі ол тез биомолекулаларымен реакцияға түседі.

ОН-тың негізгі көзі - Фентон реакциясы металдардың қатысуымен.



Озон жапырақтың клеткалық плазмалеммасымен байланысады, леп тесіктердің реттелуін бұзады, тилакоидтық мембрананы зақымдайды, РБФ-карбоксилазаны деградацияға ұшыратады, соңында фотосинтезді тежейді.

ОАФ, әсіресе **НО·**, органикалық заттармен әрекеттесіп липидтердің, ДНҚ-ның, белоктардың гидропероксидтерін түзеді.

Құрылым бойынша ROOH H_2O_2 сияқты
/R-O-O-H H-O-O-H/ және химиялық активті.

Озон

Плазмалемма клеток листьев

Нарушение
регуляции
устыичного
аппарата

Повреждени
е
тилакоидны
х
мембран

Деградация
(фотоингибирование)
РБФ-карбоксилазы

**Торможение
фотосинтеза
в целом**

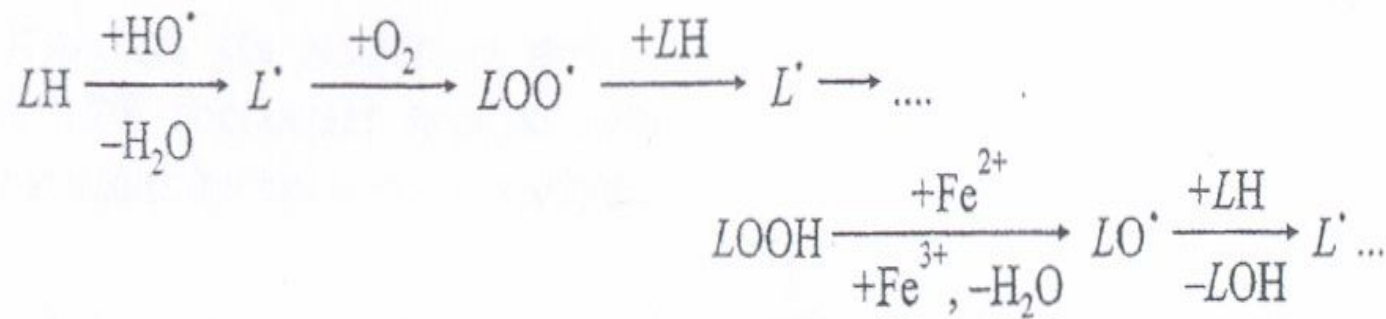
ROOH-тың түзілуін асқын тотығу деп атайды

Метаболизм барысында гидропероксидтер спирттерге, альдегидтерге, эпоксидтерге айналады.

Липидтерде $/L/$ полиқанықпаған май қышқылдарда ОАФ тізбек реакцияларды туғызады, липидтердің радикалдары $/L^*/$, пероксилдер $/LOO^*/$ гидропероксидтері $/LOOH/$, алкосилдер $/LO^*/$ түзіледі

- Взаимодействуя с органическими веществами, АФК. главным образом HO^* образует гидропероксиды (ROOH) ДНК, белков. липидов.
- По структуре ROOH подобен H_2O_2 и химически тоже активен
- R-O-O-H и H-O-O-H
- Образование ROOH называют перекисным окислением (пероксидацией).



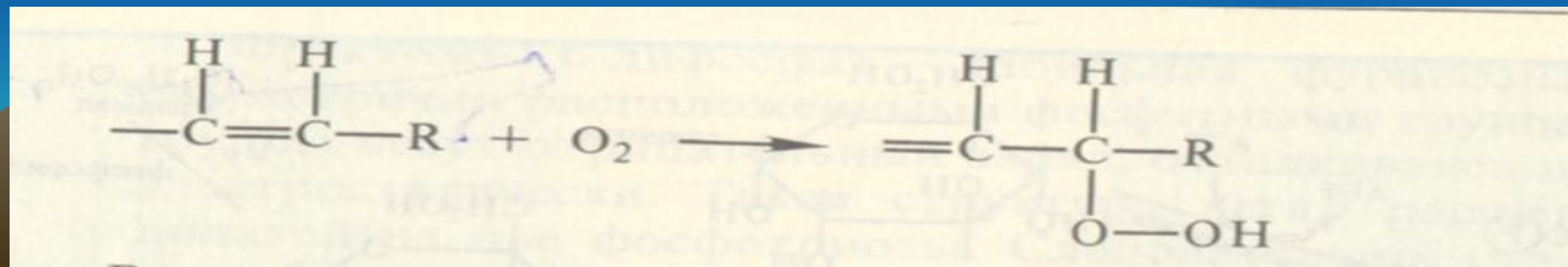


Реакция **LOOH** с **Fe²⁺** ведет к разветвлению цепи.

Далее образуются **диеновые** (триеновые) конъюгаты жирных кислот, а конечными продуктами являются минорные метаболиты — **малоновый диальдегид, этан, пентан** и др.

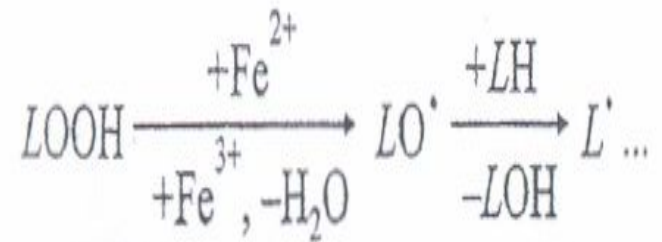
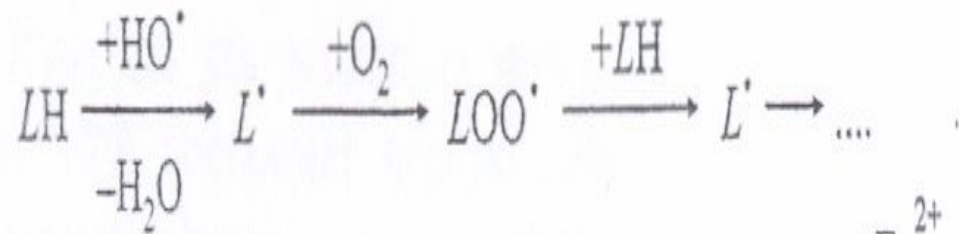
Этот процесс, называемый **перекисным окислением липидов (ПОЛ)**, может происходить спонтанно, неферментативно, но большое значение имеют и ферментативные реакции, например с участием **липоксигеназ**.

Липоксигеназа включает кислород в ненасыщенные жирные кислоты, образуя гидроксиды со смещением двойной связи



- В липидах (L), в основном в полиненасыщенных жирных кислотах,





Синглетті оттегі $^1\text{O}_2$

Оның түзілуі жарық реакциялармен байланысты. Жарықтың 1 квантын сіңіргенде пигмент-сенсбилизатор /хлорофилл/ синглеттік қозу күйге өтеді ^1P немесе триплетті ^3P . Пигмент молекуласы синглет немесе триплет түрінде Цә-мен әрекеттесіп, оның негізгі күйі триплеттік, оған энергияны тасымалдайды, онда Цә-нің спині өзгереді.



- **Синглетті оттегі ($^1\text{O}_2$)**, фотототығуда пайда болады
- фотосенсбилизаторлар - флавины, гематопорфирин, хлорофилл и др., бар жағдайда және супероксидті радикалдар дисмутацияланғанда (Khan, 1970).
- ДИСМУТАЦИЯ, тотығутотықсыздану процесс, оның нәтижесінде бір органикалық немесе неорганикалық заттан бір мезгілде тотыққан және тотықсызданған формалары түзіледі.
-
- **Синглетті оттегі** биосубстраттарды зақымдайды, әсіресе қос байланыстары бар қосындыларды; соңғы өнімі **органикалық молекулаларының гидроперекістері** - биомембраналардың қанықпаған липидтерінде жүретін ең маңызыды процесс
- Валенттігін өзгертетін металдар бар жағдайда осы биомолекулаларды **тізбек тотығу деградацияның реакцияларына** ұшыратады. (Vladimirov etc., 1980).



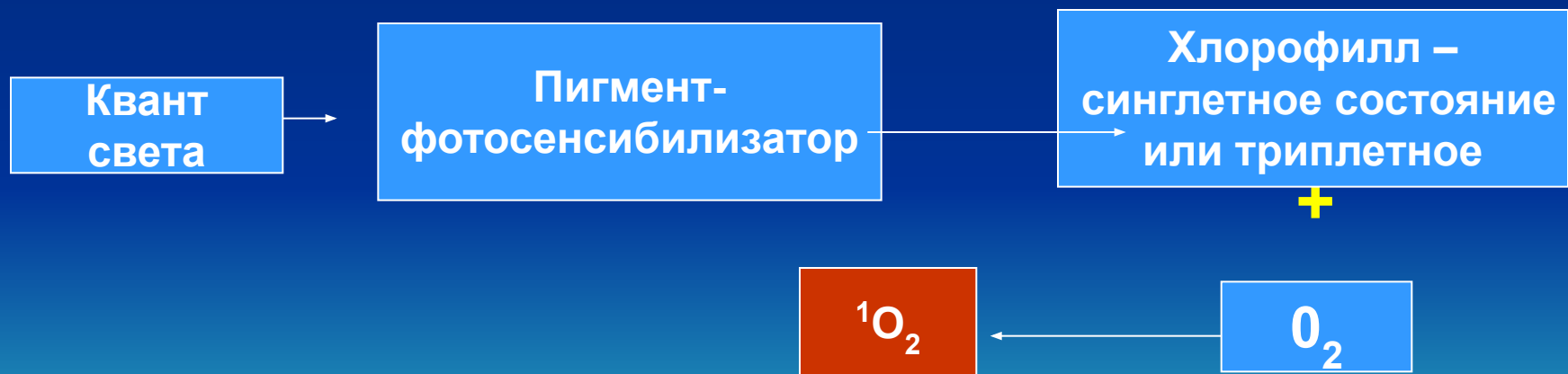
Осы процестің ең басты қорғаныс механизмі **бета-каротин**, ол синглетті оттекті триплетті жағдайға өткізеді. Бірақ су мен **токоферол** да **синглетті оттекті** инактивацияландырады.

Нәтижесінде химиялық активті синглетті оттек пайда болады. Басқа механизм- пигменттің триплетті түрінің, оттектің, субстраттың кешенінің диссоциациясында бос радикалдар пайдаболады.

Синглетті оттек көп органикалық заттармен (RH) реакцияға түсе алады.

Онда олар гидропероксидтерлі түзелі

- Молекулы пигмента в виде синглета или триплета, сталкиваясь с O_2 , основное состояние которого триплетно,
- передают на него энергию в результате у O_2 меняется спин и образуется **химически активный синглетный молекулярный кислород**.



- **ОАФ биологиялық маңызы**

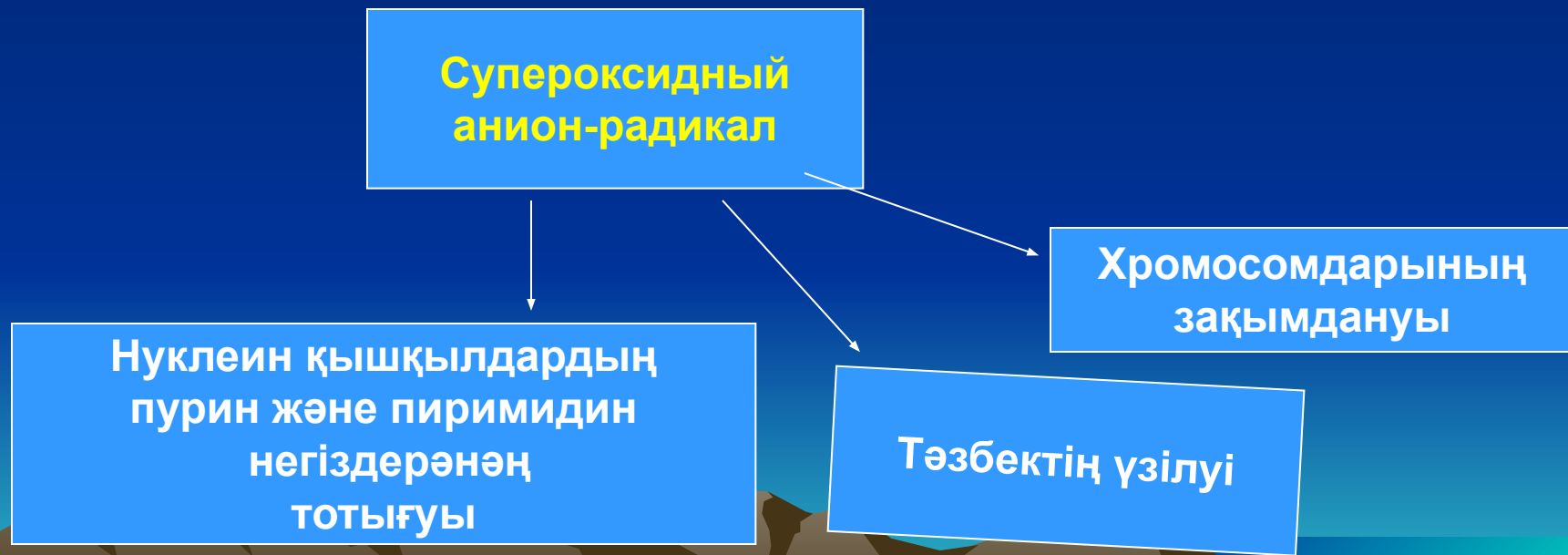
Қалыпты жағдайда **ОАФ** және липидтердің асқын тотығы пайда болатыны белгілі.

Патологиялық салдар ОАФ және пероксидтер жоғары мөлшерде болғанда пайда болады. Ол стресс жағдайда болады:

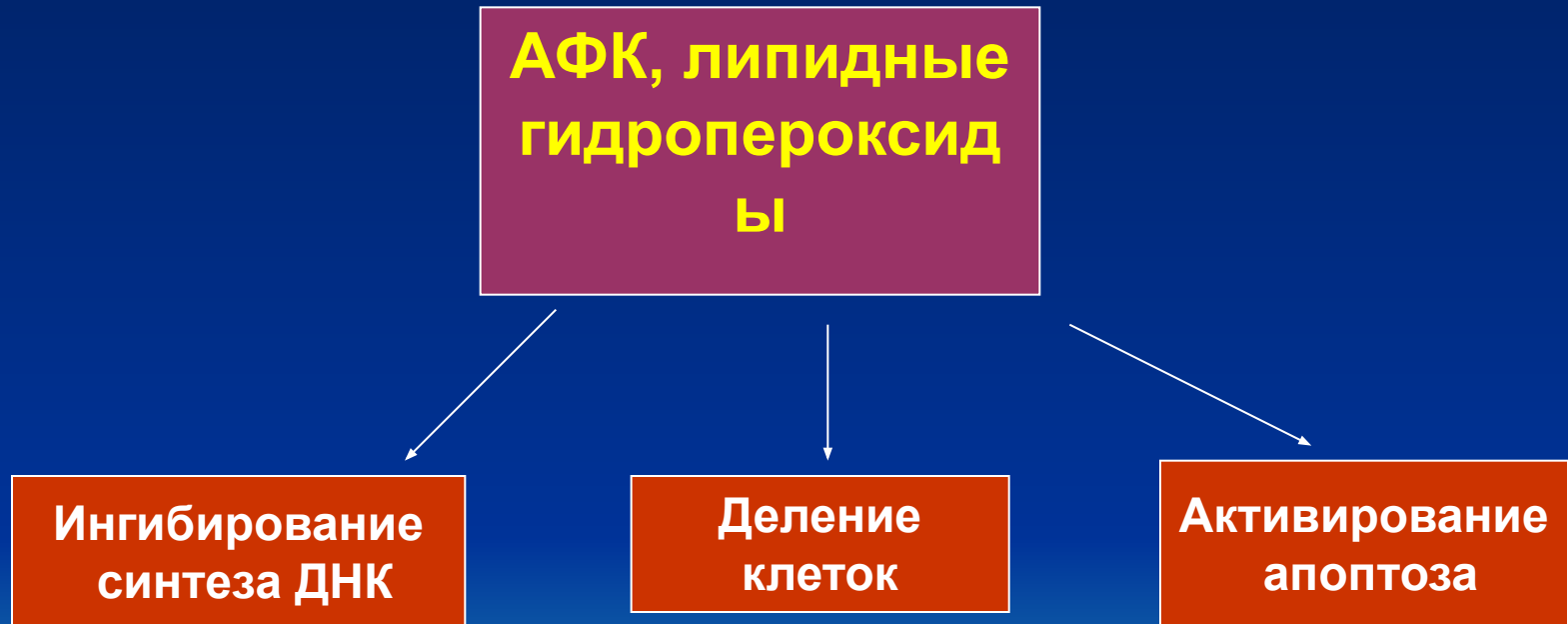
засуха,

- экстремальные температуры,
- загрязнители воздуха,
- УФ- и γ-излучение,
- гипероксия (кислородное отравление),
- нарушение минерального питания (особенно избыток Fe^{2+} ,
- действие тяжелых металлов, ксенобиотиков,
- гипоксия и аноксия

- Тотығу стресс нуклеин қышқылдарды, белоктарды, липидтерді зақымдайды.
- **Супероксид анион-радикал** митохондрияның ішкі мембранасында орналасады, митохондрияның ДНҚсының қасында, ол ең жақсы нысан болып келеді.



- ОАФ мутагендік әсер етеді.



- Окислительные модификации белков, вызванные **АФК**, включают не только изменение аминокислотных остатков.
- Это может быть и нарушение третичной структуры, и даже денатурация белков.
- **ПОЛ** вызывает деградацию прежде всего клеточных мембран.
- Все описанные отрицательные воздействия **АФК** способны серьезно дезорганизовывать функционирование клеток и организма в целом.
- Вместе с тем генерация **АФК** может быть необходима для формирования защитных реакций растений, например, при инфекционных заболеваниях.

**АФК, локализованные
в плазматической мембране
и клеточной стенке**

**Метаболизм
фенольных
соединений**

**Синтез лигнина, обеспечивающего
механическую прочность
клеточной стенки**

**Атака и повреждение
патогенной
микрофлоры**

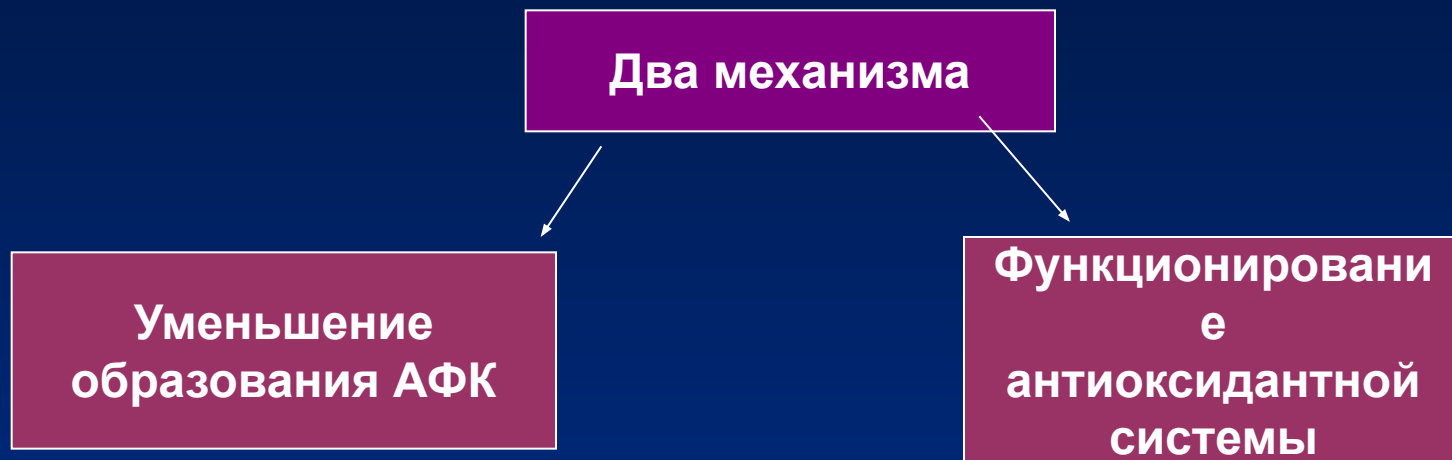
**Внеклеточный защитный
барьер, препятствующий
проникновению патогенных
микроорганизмов
внутри растительной клетки.**

- Образование **АФК** — наиболее ранний ответ растения-хозяина, который позволяет узнать патогена.
- Исследования взаимоотношений патогена с растением-хозяином выявили также сигнальные и регуляторные функции АФК, включающие другие, более поздние защитные реакции в клетках растений. Именно этим функциям АФК уделяется основное внимание в последние годы.



- Накопление в клетке вторичных посредников — циклонуклеотидов: **цАМФ** и **цГМФ**, стимулирует образование **АФК**.
- У животных **цГМФ** образуется в результате активации гидроксильного радикала цитоплазматической **гуанилциклазой АФК** вызывает повышение концентрации **Ca²⁺** в цитозоле и стимуляцию **фосфорилирования белков** в результате активации **протеинказы** (особенно **протеинкиназы С**), **протеинтирозинкиназ** к **ингибированию протеинфосфатаз**.
- Активно исследуется также вопрос о том, могут ли сами АФК непосредственно выполнять функцию вторичных посредников гормонов.
- В пользу этого свидетельствует **модификация эффектов гормонов** под влиянием **АФК** и их **снижение** или **блокада антиоксидантами**

- **МЕХАНИЗМЫ ЗАЩИТЫ**



- **Способы снижения образования активных форм кислорода**

- Торможение образования супероксид-аниона возможно путем уменьшения в клетке содержания молекулярного кислорода или быстрого его использования в дыхании вследствие снятия контроля $\Delta\mu\text{H}^+$ в ЭТЦ.

- Для нормальной работы ЭТЦ дыхания необходима меньшая концентрация O_2 , чем для образования O_2^{*-}

- **Концентрация кислорода**, обеспечивающая половину максимальной скорости ферментативного восстановления ($O_2 \rightarrow H_2O$), принята равной $3 \cdot 10^{-7}$ моль/л.
- **Скорость неферментативного восстановления**
- ($O_2 \rightarrow O_2^{*-}$) линейно повышается с ростом концентрации O_2 .
- **Скорость поглощения кислорода на уровне, соответствующем атмосферному давлению O_2** (0,22 моль/л), принята за 100%.
- **Абсолютная скорость поглощения кислорода, взятого за 100%**, для реакции $O_2 \rightarrow H_2O$ на 2 порядка больше, чем для реакции $O_2 \rightarrow O_2^{*-}$.
- В области **A** молекулярного кислорода слишком мало для того, чтобы насытить **цитохромоксидазу** ($< 5 \cdot 10^{-7}$ моль/л)

Поглощение O_2 , %

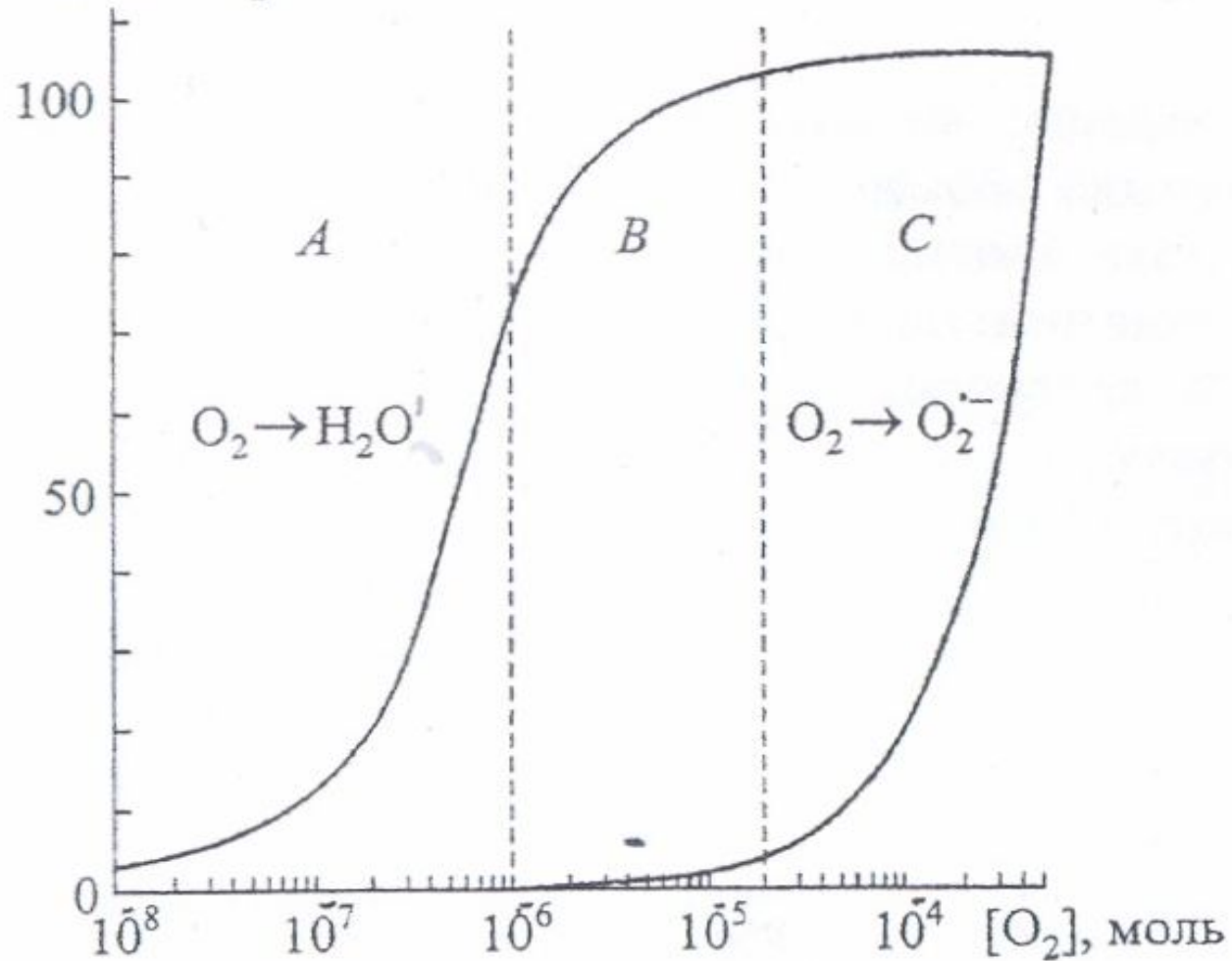


Рис. 3. 1. Ферментативное (четырёхэлектронное) и неферментативное (одноэлектронное) восстановление O_2 как функция от концентрации кислорода $[O_2]$ [по: В. П. Скулачев, 1996].

Объяснения в тексте.

- В области В цитохромоксидаза насыщена кислородом, но его недостаточно для обеспечения заметной скорости образования супероксид-аниона.
- Очевидно, именно эта область оптимальна для аэробной жизни. И только в области С концентрация кислорода оказывается достаточно высокой, чтобы начали накапливаться АФК.
- Однако эта концентрация все-таки очень мала (10^{-6} — 10^{-5} моль/л), поэтому образование АФК возможно в условиях, близких к аноксическим.
- Итак, для того чтобы образование АФК стало невозможным, необходимо очень сильно снизить концентрацию кислорода.



- Известно несколько способов снижения уровня кислорода в клетке.
- Активация **цианидрезистентной альтернативной оксидазы** в ЭТЦ митохондрий.
- В результате такой активации энергия $\Delta\mu\text{H}^+$ не переходит в АТФ, а рассеивается в виде тепла.
- При стрессовых воздействиях **альтернативная оксидаза** обычно активируется



- **Утечка ионов водорода.**
- Г. Биверс и Б. Чанс установили, что образование H_2O_2 митохондриям клеток животных в условиях *in vitro* весьма заметно при дефиците АДФ. т. е. при невозможности образования $\Delta\mu H^+$, а затем АТФ. После добавления АДФ пероксид водорода исчезал.
- Значит, для прекращения накопления H_2O_2 достаточно даже небольшого снижения электрохимического потенциала, вызываемого введением АДФ.
- Такой эффект может достигаться и при сравнительно небольшой утечке H^+ , не сопряженной с синтезом АТФ. Возможно, митохондрии располагают механизмом увеличения утечки протонов в состоянии покоя. Этот механизм мог бы предотвратить полное торможение дыхания. Сильное восстановление дыхательных ферментов и коферментов, накопление CoQ^* .
- Действуя на внутриклеточном уровне, он должен включаться, когда АДФ исчерпывается. и выключаться, когда АДФ появляется вновь.

- **Открывание пор в мембране митохондрий.** Если система утечки протонов оказывается недостаточной, включается более радикальный путь, ведущий к той же цели. Подобную роль могут играть поры на внутренней мембране митохондрий, образующиеся в определенных специфических условиях. Они проницаемы для веществ массой не более 1.5 Д , и их открытие выравнивает все градиенты, включая градиенты концентраций H^+ и субстратов дыхания. В результате $\Delta\mu_{\text{H}^+}$ полностью рассеивается, а скорость дыхания достигает максимальной величины. Ее ограничивает только активность дыхательных ферментов, а величина и скорости трансмембранных потоков субстратов через их переносчики не имеют значения. Поры превращают митохондрии из «электростанций» в «топку, сжигающую субстраты кислородом без накопления энергии.



- **Образование активных форм кислорода (АФК, ROS) являющихся индукторами апоптоза**
- При нарушении наружной мембраны митохондрий При нарушении наружной мембраны митохондрий из межмембранного объема выделяется термолабильный фактор При нарушении наружной мембраны митохондрий из межмембранного объема выделяется термолабильный фактор , вызывающий необратимое превращение ксантиндегидрогеназы При нарушении наружной мембраны митохондрий из межмембранного объема выделяется термолабильный фактор , вызывающий необратимое превращение ксантиндегидрогеназы в ксантиноксидазу При нарушении наружной мембраны митохондрий из межмембранного объема выделяется термолабильный фактор , вызывающий необратимое превращение ксантиндегидрогеназы в ксантиноксидазу [Saksela, ea 1999 При нарушении наружной мембраны митохондрий из межмембранного объема выделяется термолабильный фактор , вызывающий необратимое превращение ксантиндегидрогеназы в ксантиноксидазу [Saksela, ea 1999]. Фактор устойчив к ряду испытанных ингибиторов протеаз При нарушении наружной мембраны митохондрий из межмембранного объема выделяется термолабильный фактор , вызывающий необратимое превращение ксантиндегидрогеназы в ксантиноксидазу [Saksela, ea 1999]. Фактор устойчив к ряду испытанных ингибиторов протеаз , включая ингибиторы каспаз При нарушении наружной мембраны митохондрий из межмембранного объема выделяется термолабильный фактор , вызывающий необратимое превращение ксантиндегидрогеназы в ксантиноксидазу [Saksela, ea 1999]. Фактор устойчив к ряду испытанных ингибиторов протеаз , включая ингибиторы каспаз , ингибиторы сериновых протеаз При нарушении наружной мембраны митохондрий из межмембранного объема выделяется термолабильный фактор , вызывающий необратимое превращение