

*А.Г. Чучалин*

**СИСТЕМА ОКСИДАНТЫ-АНТИОКСИДАНТЫ  
И ПУТИ МЕДИКАМЕНТОЗНОЙ КОРРЕКЦИИ**

НИИ пульмонологии Минздрава РФ, Москва

Прогресс в изучении патогенеза болезней дыхательной системы человека достигнут, в первую очередь, благодаря концентрации исследовательских программ по таким вопросам, как интерреакция между воспалительным процессом и гладкими мышцами; установления роли нейропептидов в функции и дисфункции дыхательной системы. Приоритетные темы исследования: функциональная активность рецепторов и вторичных мессенджеров, факторы роста эпителиальных клеток и их репарация; процесс образования муцина; кровообращение в дыхательной системе. Новые данные получены при изучении роли интегринов и других адгезивных молекул, имбаланса в системе протеаз и антипротеаз; биологических аспектов вирусной, бактериальной инфекции; генетической предрасположенности к бронхиальной астме (БА);

воспалительного процесса у больных, страдающих хроническими обструктивными болезнями легких (ХОБЛ); механизмов иммуномодуляции и ремодулирования дыхательных путей.

В последние годы особый интерес вызывает изучение роли оксидантов в формировании биологических сигналов различных клеточных структур дыхательной системы, а также их роли в антимикробных свойствах различных клеток. Этот интерес связан с установлением механизмов антиоксидантной защиты дыхательной системы, направленной на снижение повреждающего эффекта оксидативного стресса.

Токсические эффекты кислорода в легочной ткани были описаны более 100 лет назад *Lorraine Smith*. Однако активные исследования начались только в конце 1960-х гг. Интерес к проблеме оксиданты-ан-

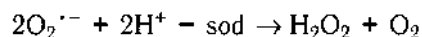
тиоксиданты непрерывно возрастает. В настоящее время число публикаций в области респираторной медицины по этому разделу превысило 7 000.

В данной статье суммируются некоторые данные о роли оксидантов в патогенезе легочных заболеваний, в первую очередь ХОБЛ, и освещаются современные лечебные подходы, направленные на повышение антиоксидантных свойств легочной ткани.

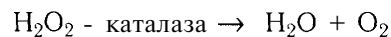
К активным формам кислорода (АФК) относятся анион супероксида ( $O_2^-$ ) и перекись водорода ( $H_2O_2$ ). АФК образуются в аэробных клетках в процессе переноса электронов в митохондриях или же окислительных реакций с участием оксиредуктаз или окислительных реакций, которые катализируются металлсодержащими ферментами (Zn, Cu и др.). Стимулированная продукция АФК впервые была описана в клетках, участвующих в фагоцитозе (нейтрофилы, макрофаги). Процесс фагоцитоза сопровождается повышенным потреблением кислорода. Это явление получило название "респираторного взрыва". Завершенный фагоцитоз в фаголизосомах клеток достигается при высокой активности никотинамид аденин динуклеотидит фосфата (НАДФ). АФК продуцируются не только в фагоцитирующих клетках, что было продемонстрировано в исследованиях *H. Forman, M. Torres* (2002) [1] и рассматривается как процесс формирования биологического сигнала.

Таким образом, современная концепция о физиологической роли системы оксиданты-антиоксиданты рассматривает процесс образования  $O_2$  и  $H_2O_2$  как естественный процесс в различных клетках, необходимый для формирования биологической сигнальной системы. Этот процесс обозначен как сигнальная система редокс (*redox signaling*). В настоящее время внимание привлекает исследование роли НАДФ-оксидазы в формировании сигнальной системы редокс. Особый интерес вызван открытием новых оксидантных ферментов, принимающих участие в сигнальной системе.

Следующим этапом в исследованиях по участию оксидантной и антиоксидантной систем в патологических процессах является исследование роли в них сигнальной системы редокс и антиоксидантных ферментов. Так, было установлено, что соотношение между глутатион сульфидом (GSSH)/2 и глутатионом (GSH) является хорошим маркером в установлении статуса редокс. Этим соотношением определяется состояние процесса элиминации перекиси водорода, концентрация которой, в частности, повышается в процессе фагоцитоза. С другой стороны, уровень глутатиона регулируется активностью глутатион редуктазы. Таким образом, определяется уровень активности оксиданты и антиоксиданты. Необходимо указать на близость обмена  $O_2^-$  и  $H_2O_2$ . Так, образование перекиси водорода может произойти при метаболизме супероксида аниона.



Большая и разнообразная группа ферментов элиминирует перекись водорода. Каталаза, которая обычно содержится в пероксисомах, быстро катализирует реакцию метаболизма перекиси водорода.



Глутатион пероксидаза локализована в цитозоле и митохондриях. Этот фермент относится к селенопротеинам, и при его участии редуцируется содержание перекиси водорода. Глутатион вследствие данной химической реакции трансформируется в глутатион дисульфид.

Одна из возможностей участия редокс-реакции в сигнальной системе состоит в том, что АФК вступают во взаимодействие с дисульфидами глутатиона и тиоловыми протеинами. Реакция между перекисью водорода и тиоловыми протеинами катализируется участием транзитных металлов. Так, происходит превращение тиолового аниона ( $-S^-$ ) в сульфениковую кислоту ( $-SOH$ ); и при физиологических параметрах pH происходит дальнейшее превращение кислоты в сульфенат ( $-SO^-$ ).

В последние годы большое внимание привлечено к семейству пероксидантов, в состав которых входит цистеин (1-2 молекулы). Эти соединения обладают высокой антиоксидантной активностью. Важным звеном в формировании биологических сигналов считается каталитический процесс, происходящий при участии тирозин фосфатазы.

Таким образом, накоплено большое количество данных, подтверждающих, что эндогенная продукция АФК оказывает влияние на большое количество механизмов трансдукции биологических сигналов в самых разных клетках. Особая роль отводится тирозин фосфатазе, которая рассматривается как основная мишень для перекиси водорода.

Наконец, следует указать, что установлен факт влияния редокс на фактор транскрипции. Ядерный фактор транскрипции (NF- $\kappa$ B) играет центральную роль в экспрессии медиаторов воспаления в цитозоле клеток. АФК оказывают депрессивное влияние на активность нуклеарного фактора.

В 1973 г. *Babior et al.* открыли, что макрофаги являются клетками, продуцирующими активные формы кислорода, однако оставалось неясным, какая ферментативная система обеспечивает внутриклеточную продукцию АФК. В последующие годы этот механизм изучался достаточно интенсивно. Образование АФК происходит в нестимулированных макрофагах на границе цитозоля и плазматической мембраны под воздействием НАДФ. Процесс активации макрофагов, который наблюдается при их участии в воспалительной реакции, сопровождается увеличением продукции перекиси водорода и супероксида аниона. Возросшая продукция АФК обеспечивается участием мембрансвязанных субъединиц флавоцитохрома (gp91 и p22). Наибольшая продукция супероксида аниона происходит во время кислородного взрыва.

Продукция АФК изучается, в первую очередь, с позиций участия макрофагов в гибели различных патогенов, играющих этиологическую роль в возникновении инфекционного процесса. В последние годы внимание привлекает также способность макрофагов продуцировать АФК и влиять на развитие гранулематозных процессов в легочной ткани. При некоторых генетических заболеваниях установлено снижение продукции НАДФ, что приводит к нарушению клиренса целого ряда микроорганизмов и грибов. Однако при сравнительной характеристике нейтрофилов, эозинофилов и макрофагов в их способности синтезировать АФК-макрофаги по этой функции уступают первым двум клеткам. Приобретаемая в процессе участия макрофагов в воспалительных реакциях бактерицидная активность регулируется редокс-сигналом. АФК оказывают влияние на процесс экспрессии целого ряда генов, регулирующих синтез цитокинов и их участие в воспалительной реакции. Этот процесс происходит при участии NF-κB. Установлена связь повышенного синтеза тумор некротического фактора, который происходит под действием АФК на NF-κB.

В связи с изучением патогенетической роли системы окислители-антиоксиданты большой интерес вызвало исследование высоко реактогенных субстанций, содержащих молекулу азота (РСА). В этом плане исследования были сфокусированы на участии оксида азота (NO), пероксинитрита ( $\text{ONOO}^-$ ), диоксида азота ( $\text{NO}_2$ ). Химическая реакция с участием РСА индуцируется синтазой NO, поэтому и происходит повышение концентрации NO в конденсате выдыхаемого воздуха. Существует тесная связь между обменом активных форм кислорода и продукцией NO (рис. 1). В процессе генерации супероксида аниона NO быстро метаболизируется в конечный продукт пероксинитрит.  $\text{ONOO}^-$  относится к числу высоко реактогенных молекул, которые вызывают повреждение биологических мембран. Конечным звеном этой реакции, в которой участвует NO, а затем

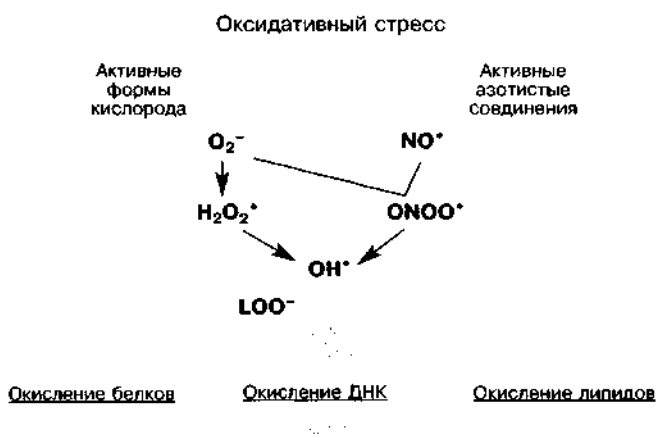


Рис. 1. Связь между активными формами кислорода и высоко реактогенными соединениями, содержащими азот

пероксинитрит, является  $\text{NO}_2$ . Эта химическая реакция применяется в практической медицине для того, чтобы индивидуально титровать дозу NO, который можно использовать для лечения больных с острым респираторным дистресс-синдромом, первичной легочной гипертензией. Личный опыт автора свидетельствует о высокой чувствительности данной реакции при лечении больных с первичной легочной гипертензией. Титрование индивидуальной дозы NO, который у большинства больных (как правило, эта форма легочной патологии встречается у женщин) происходит при мониторинговании концентрации выдыхаемого  $\text{NO}_2$ . Как только его концентрация начинает возрастать, то следует признать, что доза NO является лечебной и индивидуально установленной. Дальнейшее наращивание дозы NO будет сопровождаться увеличением концентрации  $\text{ONOO}^-$ , что и приведет к повреждающему действию легочных структур. В клинической практике это проявится усилением интенсивности разлитого цианоза и одышки. Процессу увеличения концентрации  $\text{NO}_2$  также способствует высокая активность пероксидаз: эозинофильная пероксидаза и нейтрофильная миелопероксидаза. Последние являются маркерами воспалительной активности эозинофилов и нейтрофилов. Генерация  $\text{NO}_2$  происходит под воздействием активных форм кислорода. Таким образом, система окислители-антиоксиданты объединяет как процесс образования активных форм кислорода, так и образование высоко реактогенных соединений, содержащих молекулы азота.

Обсуждаемые патогенетические механизмы имеют важное значение при большой группе легочных заболеваний: ХОБЛ, бронхиальная астма (БА), острый респираторный дистресс-синдром, муковисцидоз, первичная легочная гипертензия и другие формы заболеваний дыхательных путей. *Yvonne et al.* удалось показать, что тяжесть клинического течения БА коррелирует с уровнем активности индуцибельной синтазы NO [2]. NO является чувствительным маркером аллергического воспалительного процесса при БА. Содержание NO в конденсате выдыхаемого воздуха редуцируется при проведении терапии глюкокортикостероидами (ГКС) и практически не меняется при назначении других противоастматических препаратов. Таким образом, мониторингирование NO в выдыхаемом воздухе позволяет судить об эффективности проводимой терапии ГКС. Данный тест с определением концентрации NO используется при проведении экспертизы астмоподобных состояний и позволяет провести дифференциальную диагностику между БА и схожими состояниями, но не имеющими в основе своего патогенетического развития аллергической воспалительной реакции.

Необходимо подчеркнуть, что при первичной цилиарной дискинезии мерцательного эпителия дыхательных путей, первичной легочной гипертензии, муковисцидозе, синдроме Картагенера отмечается предельно низкая концентрация NO в выдыхаемом

воздухе, что также используется для проведения дифференциальной диагностики этой сложной формы легочной патологии. Однако принцип точного действия механизма сниженной концентрации NO при этих формах патологии остается малоизученным вопросом.

Исследование системы оксиданты–антиоксиданты у человека при различных заболеваниях потребовало развития методов, достаточно чувствительных для определения оксидативного стресса. Большие надежды связывают с неинвазивными методами, которые можно было бы применить для определения в конденсате выдыхаемого воздуха различных соединений, прямо или косвенно участвующих в формировании оксидативного стресса. Из газообразующих веществ наибольшая информация накоплена по исследованию NO. Эта тема уже обсуждалась выше. В последние годы накоплены данные по исследованию монооксида углерода (CO). Он образуется при распаде гемоглобина. Под воздействием конституционной гемоксидазы образуется железо и CO. Увеличение концентрации CO наблюдается у больных ХОБЛ; на его концентрацию большое влияние оказывает фактор табакокурения, поллютанты внешней среды. Однако диагностическая роль CO до конца еще не изучена. Чувствительным тестом оказалось исследование перекиси водорода ( $H_2O_2$ ); ее концентрация значительно повышается при оксидативном стрессе. В работах последних лет (*P.Barnes et al.*, *A.B.Емельянов*) показана диагностическая значимость концентрации  $H_2O_2$  в выдыхаемом воздухе у больных ХОБЛ и БА. Автор статьи совместно с *Н.Д.Варфоломеевым* применили специфический биосенсор для определения низких степеней концентрации  $H_2O_2$ .

Центральное место в оксидативном стрессе занимает пероксидация липидов, поэтому такое большое внимание уделяется развитию методов, которые могли бы количественно определять как первичные, так и конечные продукты пероксидации. Первичными продуктами являются конъюгированные диены и липиды, подвергшиеся пероксидации. Вторичными продуктами являются тиобарбитуратовые реактивные субстанции, газообразующие алканы и группа простагландинов, обозначенных термином F2-изопропаны (F2-IsoPs). Они образуются при метаболизме простагландина серии F2. В работах группы профессора *P.Barnes* было показано, что уровень концентрации F2-IsoPs в выдыхаемом воздухе повышается у больных ХОБЛ. Проведено их сравнение с больными, у которых была диагностирована БА. Этот тест стали рекомендовать в качестве дифференциально диагностического между двумя этими заболеваниями. Фактор курения оказывает существенное влияние на уровень F2-IsoPs; их повышенная концентрация сохранялась более 2 нед. после того, как человек переставал курить. Определение простагландинов и их дериватов оказалось достаточно чувствительным тестом для исследования оксидативного стресса у человека.

Таким образом, современный этап исследования системы оксиданты–антиоксиданты пополнился принципиально новыми данными о патогенетической роли при большой группе заболеваний дыхательной системы. Большим прогрессом следует признать разработку методов определения различных дериватов оксидативного стресса. Особенно продуктивным направлением оказалось исследование выдыхаемого воздуха и его конденсата, что позволило сформировать новое направление медицины. В клиническую практику внедрены достаточно чувствительные методы, позволяющие диагностировать разнообразную группу болезней органов дыхания, проводить дифференциальный диагноз между БА и ХОБЛ, индивидуально титровать дозы отдельных препаратов (ГКС, NO и других), мониторировать их противовоспалительную или вазодилатирующую эффективность. Можно предполагать, что в ближайшее время появятся современные диагностические лаборатории, которые позволят комплексно оценить состояние системы оксиданты–антиоксиданты непосредственно у постели больного человека. В этих лабораториях будут применены современные технологии обработки биологической информации.

Активные научные исследования проводятся по поиску новых молекул, обладающих антиоксидантной защитой. В дыхательных путях, в зависимости от анатомической структуры, по-разному распределены субстанции, противодействующие активным формам кислорода. Особое внимание было сосредоточено на характеристике слоя жидкости, прилежащего к поверхности ресничек мерцательного эпителия. Так, антиоксидантной активностью обладает муцин, секретируемый бокаловидными клетками и обогащенный пероксиредоксином. Бактерицидные свойства слизистой поддерживаются также лактоферин, трансферин, дефензины, лактопероксидазы. Более универсальный характер носит экстрацеллюлярный глутатион, витамины С и Е, тиреодин, мочевая кислота, тиоловые протеины, жирные кислоты, экстрацеллюлярная супероксид дисмутаза (рис. 2). Биологическая жидкость, прилежащая к поверхности



Рис. 2. Антиоксиданты, которые сгруппированы на энзиматические и неэнзиматические соединения

ному слою респираторного эпителия, является местом химических реакций системы оксиданты-антиоксиданты.

Особое место в лечении большой группы больных занимает N-ацетилцистеин, который относится к тиолсодержащим субстанциям. Он был внедрен в клиническую практику в начале 1960-х гг.; основным обоснованием к назначению являлись его муколитические свойства. За более чем 40-летний период широкого клинического применения N-ацетилцистеина значительно изменились наши представления о механизмах его действия, показаниях и противопоказаниях. С сегодняшних позиций он рассматривается как одно из наиболее эффективных лекарственных средств, которые назначают в качестве антиоксиданта. Если муколитические свойства связаны со способностью ацетилцистеина приводить молекулы муцина в состояние деполимеризации, тем самым снижая вязкость бронхиального секрета и способствовать эффективной экспекторации, то антиоксидантные характеристики препарата обусловлены его химической структурой, в состав которой входит аминокислота цистеин. Способность ацетилцистеина оказывать влияние на систему оксиданты-антиоксиданты вызывает особый интерес, о чем свидетельствует количество научных публикаций на эту тему. Так, в *Medline* цитируется свыше 4 000 работ, посвященных антиоксидантным и антиотодным свойствам N-ацетилцистеина. Эти свойства были открыты более 10 лет назад *R.Ruffmann* [3] и *A.Wendel*. Толчком к исследованию антиоксидантных свойств ацетилцистеина явились фармакокинетические исследования различных форм лекарственного средства. При ингаляционном способе его назначения проявляются больше муколитические свойства, в то время как при системном назначении практически достигнуть этого эффекта не удается.

Сегодня хорошо известно, что N-ацетилцистеин является хорошим источником сульфгидрильных групп (SH, тиоловая группа). Тиоловая группа в структуре лекарственного средства отвечает за его метаболическую активность, в то время как ацетиловая субстанция проявляет свои антиоксидантные свойства. Аминокислота цистеин является важным субстратом для синтеза глутатиона, с которым связана система антиоксидантной защиты. Метаболиты N-ацетилцистеина играют важную роль в достижении эффекта детоксикации. Так, при токсическом эффекте Парацетамола показано антидотное действие ацетилцистеина. В последние годы одну из ле-

карственных форм N-ацетилцистеина — Флуимуцил — стали широко применять с целью снижения нежелательных свойств некоторых химиотерапевтических препаратов (например, лекарственных средств, применяемых в онкологии).

В настоящее время, когда показания к назначению Флуимуцила значительно расширились, все же следует подчеркнуть, что в области респираторной медицины он назначается в большей степени, чем в других медицинских областях.

Наиболее часто врачи назначают N-ацетилцистеин больным ХОБЛ, учитывая при этом не только муколитические эффекты препарата, но и его антиоксидантные свойства. Как известно, при ХОБЛ ведущим патогенетическим механизмом является нарушение в системе оксиданты-антиоксиданты, имбаланс которой сдвинут в сторону высокого содержания активных форм кислорода. Флуимуцил при такой патологии играет роль патогенетической терапии. *C.Stey et al.* опубликовали в 2000 г. систематический обзор, в котором с позиций медицины, основанной на доказательствах, представили данные об эффективности Флуимуцила у больных ХОБЛ [4]. Так, у больных ХОБЛ, которые получали регулярно терапию Флуимуцилом, число обострений было меньше на 0,11; на 0,65 дня уменьшилось число дней нетрудоспособности, и на 0,65 дня меньше назначали антибиотики.

Следует подчеркнуть, что помимо ХОБЛ данное лекарственное средство было применено в другой группе — тяжело больных идиопатическим легочным фиброзом легких. Больные получали повышенные дозы Флуимуцила (1 200—1 800 мг в сутки), у них удалось снизить прогрессирование фиброзного процесса в легких. Эффект в данном случае объясняется антиоксидантной активностью лекарственного средства и повышением толерантности к проводимой жесткой лекарственной терапии.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. *Forman H.J., Torres M.* Reactive oxygen species and cell signaling: respiratory burst in macrophage signaling. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2002; 166 (12): 4-9.
2. *Yvonne M.V., Persinger R.L., Korn S.H. et al.* Reactive nitrogen species and cell signaling: implications for death or survival of lung epithelium. *Am. J. Crit. Care Med.* 2002; 166 (12): 9-12.
3. *Ruffman R.* N-acetylcysteine — back to the future. *Estrado da tribuna medica ticinese* 2001; 66.
4. *Stey C, Steurer J., Bachmann S. et al.* The effect of oral N-acetylcysteine in chronic bronchitis: a quantitative systematic review. *Eur. Respir. J.* 2000; 16: 253-262.