

К.Н. Новиков, С.В. Котелевцев, Ю.П. Козлов

**СВОБОДНО-РАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ
В БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМАХ
ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ФАКТОРОВ
ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ**

**Москва
Российский университет дружбы народов
2011**

УДК 574
ББК 28.081+24.213.7
Н 73

Утверждено
РИС Ученого совета
Российского университета
дружбы народов

Р е ц е н з е н т ы :

заслуженный профессор МГУ им. Ломоносова,
доктор биологических наук *В.Д. Федоров*;
доктор биологических наук *В.М. Гусаков*

Новиков, К.Н.

Н 73 Свободно-радикальные процессы в биологических системах при воздействии факторов окружающей среды: монография [Текст] / К.Н. Новиков, С.В. Котелевцев, Ю.П. Козлов. – М.: РУДН, 2011. – 199 с.: ил.

ISBN 978-5-209-03659-3

Рассматриваются вопросы, связанные со сравнительной оценкой свойств и механизмов действия активных форм кислорода (АФК) и других свободных радикалов на биологические структуры и процессы, с диагностикой, тестированием и корректировкой состояния живых объектов при их отклике на воздействие факторов окружающей среды. Основное внимание уделяется выяснению условий инициации и протекания свободно-радикальных процессов на разных уровнях организации биосистем. Особую роль АФК и другие свободные радикалы играют при поддержании жизнедеятельности организмов в окружающей среде, в адаптивных реакциях, в обеспечении надежности работы защитных систем организма. Экологические факторы, такие, как вода, воздух, свет, температура, пища, помогают организму, во-первых, все время поддерживать определенный уровень свободных радикалов, а, во-вторых, корректировать функциональные нарушения в организме. Ионизирующая радиация и химическое загрязнение существенно модифицируют уровень свободных радикалов в биосистемах и могут приводить к необратимым изменениям в клетке, организме, экосистеме. В книге обсуждаются конкретные экспериментальные и клинические материалы и результаты, которые предлагаются к рассмотрению в качестве определенных моделей и методических подходов, позволяющих разрабатывать комплексные биологические тест-системы на основе реакций с участием свободных радикалов. Предложено рекомендовать эти тест-системы для выявления патологических состояний организмов и их коррекции, эколого-токсикологического анализа водных экосистем, для выделения групп риска среди населения и прогноза развития нарушений на неблагоприятных по состоянию окружающей среды территориях.

Для экологов, биофизиков, биохимиков и медиков, специалистов в области экологической токсикологии, а также студентов и аспирантов.

ISBN 978-5-209-03659-3

ББК 28.081+24.213.7

© Новиков К.Н., Котелевцев С.В., Козлов Ю.П., 2011

© Российский университет дружбы народов, Издательство, 2011

ВВЕДЕНИЕ

Кислород – основа существования и развития жизни на нашей планете. В отсутствие фотосинтеза жизнь «белковых тел» возможна только в некоторых экосистемах, например, в глубинах океана, за счет растворенного в воде кислорода (Voeikov and Del Giudice, 2009) и где происходят выбросы серы и органических веществ из земной коры (Kochetkova, 2011). Жизнь невозможна без процессов окисления и, естественно, восстановления.

Действительно, кислород и его активные формы (АФК) являются не только основой метаболизма, но и фактором, определяющим старение и гибель – в основном за счет развития свободно-радикальных цепных реакций перекисного окисления липидов (ПОЛ) мембранных структур клетки.

Антропогенные факторы окружающей среды: радиоактивное излучение, интенсивное световое излучение (в первую очередь лазеры), электромагнитные волны, а также ряд химических веществ способны индуцировать свободно-радикальные процессы в клетке и не только влиять на здоровье людей, но и модифицировать подвергающиеся воздействию этих факторов экосистемы.

Некоторые исследователи (Скулачев, 2000; Skulachev, 2002) считают, что основным факторам борьбы со старением является защита клеточных структур от АФК с помощью антиоксидантов. Антиоксидантные свойства химических соединений лежат в основе громадного количества лекарственных препаратов.

Природные антиоксиданты зарекомендовали себя как вещества, продлевающие активную жизнь. Они являются факторами, защищающими нас от самых опасных заболеваний: нарушений в сосудистой системе (включая атеросклероз), предот-

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
ГЛАВА I. Происхождение активного кислорода и возможности его участия в различных реакциях свободно-радикального характера	9
1.1. Реакции, приводящие к образованию АФК.....	9
1.2. Системы, способствующие генерации АФК и других свободных радикалов.....	12
1.3. Субстраты свободно-радикальных реакций и методы определения продуктов их взаимодействия.....	13
1.4. Системы, регулирующие свободно-радикальные процессы – антиоксиданты.....	16
1.5. Двойная роль АФК и свободно-радикальных реакций в жизнедеятельности.....	18
ГЛАВА II. Свободно-радикальные процессы в биосистемах при воздействии физических факторов	24
2.1. Свет и роль свободно-радикальных реакций в зрительной рецепции.....	24
2.1.1. Условия, способствующие активации АФК и свободно-радикальных реакций в структурах глаза.....	24
2.1.2. Возможные механизмы активации кислорода и свободно-радикальных состояний в фоторецепторной системе.....	27
2.1.3. Ферментные и неферментные системы регуляции образования АФК и перекисей липидов в мембранах фоторецепторов.....	29
2.2. Радиоактивность и свободно-радикальные процессы в биосфере.....	37

2.2.1. АФК при монооксигеназном окислении в ЭР	37
2.2.2. Монооксигеназные активности плаценты жителей Алтайского края, подвергавшихся действию испытаний ядерного оружия	41
ГЛАВА III. Оценка свободно-радикальных реакций на микросомной модели при различных воздействиях	47
3.1. Анализ состояния проблемы	47
3.2. Механизмы инициирования ферментативного НАДФН-зависимого ПОЛ в микросомах печени крыс	50
3.3. Взаимосвязь процессов ПОЛ и протеолиза в деградации цитохром Р-450-зависимой системы детоксикации ксенобиотиков в микросомах печени крыс	57
ГЛАВА IV. Антиокислительная активность некоторых лекарственных препаратов в микросомной системе печени крыс	64
ГЛАВА V. Биохимический мониторинг экосистем на основе монооксигеназного окисления в мембранах эндоплазматического ретикулума рыб	73
5.1. Монооксигеназы со смешанной функцией в микросомах печени рыб озера Байкал	73
5.2. Иммунохимический анализ индукции изоформ цитохрома Р-450 в печени пресноводных рыб – эффективная тест-система на воздействие полициклическими ароматическими углеводородами и полихлорированными бифенилами	76
5.3. Изучение ферментных и неферментных систем ПОЛ в микросомах печени рыб озера Байкал	80
5.4. Роль фенольных производных бенз(а)пирена и фенолов – компонентов промстоков в регуляции процесса окисления липидов в микросомах печени рыб озера Байкал	83

ГЛАВА VI. Исследование механизма действия продуктов гидролиза фосфолипидов фосфолипазой A₂ на функциональную активность микросомной системы печени крыс и рыб	88
6.1. Ингибирование деалкилазной активности изоформ цитохрома P-450 в микросомах печени продуктами гидролиза фосфолипидов фосфолипазой A ₂	88
6.2. Сравнительное действие продуктов гидролиза фосфолипидов фосфолипазой A ₂ на деалкилазную активность изоформ цитохрома P-450 в микросомах печени крыс и рыб	91
ГЛАВА VII. Свободно-радикальные процессы в клеточных системах	94
7.1. Модель изолированных гепатоцитов как биологическая тест-система для оценки устойчивости цитохрома P-450	94
7.1.1 Механизмы деструкции цитохром P-450-зависимой детоксицирующей системы в гепатоцитах	96
7.1.2. Антиоксиданты как стабилизаторы цитохрома P-450 в гепатоцитах	99
7.1.3. Продукты гидроксилирования БП – стабилизаторы цитохрома P-450 в гепатоцитах	103
7.2. Функциональный отклик нейтрофилов крови крыс на воздействие метилхолантеном и соволом in vivo	106
7.2.1. О взаимосвязи активности иммунокомпетентных клеток с индукцией монооксигеназной системы ксенобиотиками	106
7.2.2. Влияние ксенобиотиков МХ и СВ на интенсивность ОВ, активированного в нейтрофилах форбол миристат ацетатом. Изменение микровязкости мембран нейтрофилов	109
ГЛАВА VIII. Сверхслабое излучение живых объектов, как результат свободно-радикальных процессов	116

ГЛАВА IX. Роль АФК и свободно-радикальных процессов в функциональной организации крови	126
9.1. Роль АФК в регуляции обмена кислорода в нативной крови человека	126
9.2. Хемилюминесценция цельной крови – результат функционирования ее АФК-генерирующих компонентов и систем	133
9.3. Изменение хемилюминесценции неразведенной крови у больных ишемической болезнью сердца в ходе лазеротерапии	134
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	141
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	143
ПРИЛОЖЕНИЕ. МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СВОБОДНО-РАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ	171
1. Выделение и очистка фоторецепторных мембран	171
2. Методы изучения свободно-радикальных процессов в микросомной фракции печени млекопитающих	173
3. Применение тест-системы на основе монооксигеназных и конъюгирующих активностей плаценты для оценки развития желтухи новорожденных невыясненной этиологии Алтайского региона	179
4. Методы изучения свободно-радикальных процессов в микросомной фракции печени рыб	179
5. Методики гидроксилазной активности изоформ цитохрома Р-450 в микросомной фракции печени рыб	182
6. Процедура выделения изолированной фракции клеток печени крыс	183
7. Методы выделения нейтрофилов из крови крыс. Оценка функциональной активности нейтрофилов (развитие ОВ) и их монооксигеназной системы. Методы хемилюминесценции и ЭПР	185
8. Условия индукции ПОЛ в различных системах	186

9. Определение ГП во фракции фосфолипидов.....	187
10. Определение содержания МДА – молекулярного продукта ПОЛ.....	188
11. Системы генерации АФК и системы регуляции АФК, ПОЛ.....	189
12. Условия инкубации гепатоцитов, индукции процесса ПОЛ, определения его продуктов и количества цитохрома Р-450	191
13. Методические аспекты исследования люминесценции нейтрофилов и цельной крови.....	192