

ЛЕКЦИЯ

АНТИОКСИДАНТЫ

Р. Д. Сейфулла^{1, 2}, Е. А. Рожкова^{1, 2}, Е. К. Ким²

Ключевые слова: свободнорадикальная патология, антиоксиданты, наноантиоксиданты

В настоящее время антиоксиданты представлены многочисленными группами эндогенных и экзогенных биологически активных веществ, в том числе и лекарственных препаратов. Они широко применяются в клинической медицине с целью блокировать влияние свободных радикалов (СР), инициирующих свободнорадикальное окисление (СРО), которое при чрезмерной активации и высоких концентрациях СР является универсальным патогенетическим фактором при многих заболеваниях. Термин “антиоксиданты” появился в середине XX столетия благодаря работам Б. М. Тарусова (1954), М. М. Эммануэля (1963) и других, которые установили роль ненасыщенных жирных кислот, как одного из субстратов окисления биохимических процессов (Ю. А. Владимиров и А. И. Арчаков, 1972). Антиоксиданты, как выяснено в последнее время, являются протекторами функциональной лабильности мембран клеток и субклеточных структур (проницаемость, биоэнергетика, функционирование нуклеиновых кислот, синтез белка и др.). Именно поэтому эндогенные антиоксиданты оказывают терапевтическое действие. В патогенезе заболеваний лежит так называемая свободнорадикальная патология.

Роль свободнорадикального окисления

В физиологических условиях СРО необходимо для нормального функционирования клеток. Само по себе образование свободных радикалов в организме человека является физиологической реакцией. Оно определяет структурные особенности фосфолипидного слоя биологических мембран, энергетического и пластического обеспечения клеток, синтез простагландинов, нуклеиновых кислот, липолиз, транспорт метаболитов, мембранных рецепторов, возбудимость клеток ЦНС и коррекцию других метаболических процессов. (Ю. А. Петрович, Д. В. Гуткин, 1986; Ю. В. Владимиров, 1987 и другие). В частности, свободнорадикальная окись азота (NO) является важнейшим медиатором вазорелаксации, а его недостаток приводит к гипертензии.

Некоторые активные формы кислорода (АФК) оказывают позитивное действие — служат медиаторами в клеточных сигнальных путях. Абсолютная необходимость АФК для жизнедеятельности и благотворное терапевтическое действие антиоксидантов может объясняться образованием электронно-возбужденных состояний — триггеров всех последующих биоэнергетических процессов. Колебательный режим таких реакций может обеспечивать ритмичное протекание биохимических процессов более высокого уровня. Следова-

тельно, образование АФК в организме не всегда является негативным процессом, если его концентрации не достигают критических величин.

По современным воззрениям СРО является одним из универсальных механизмов повреждения клеток организма. В условиях чрезмерной интенсификации СРО развиваются патологические процессы.

Причины активации перекисного окисления липидов

До сих пор нет четкого разделения на причины и следствия активации СРО при воздействии альтерирующего фактора, активации перекисного окисления липидов (ПОЛ) (образование свободных радикалов и развитие свободнорадикальной патологии).

Прием некоторых препаратов с прооксидантными свойствами в высоких концентрациях (витамин Д, тетрациклин, изониазид, парацетамол, аминазин, адриамицин, рубомицин, препараты железа, меди, ртути, свинца и других) и проведение ряда лечебных процедур (кислородотерапия, гипербарическая оксигенация, ультрафиолетовое облучение) могут приводить к активации ПОЛ.

Активные формы кислорода (АФК) повреждают различные белки и ферменты, что нарушает биокаталитические процессы; влияют на генетический аппарат клетки, разрушают ДНК и нарушают ее синтез. Однако одними из самых чувствительных к действию свободнорадикальных форм компонентов клетки являются входящие в состав фосфолипидов клеточных и субклеточных мембран ненасыщенные жирные кислоты. Взаимодействие свободных радикалов с полиненасыщенными жирными кислотами приводит к цепным реакциям, известным как переокисление липидов ненасыщенных жирных кислот.

Физико-химические механизмы действия антиоксидантов

Антиоксидант — это соединение с одним непрочно присоединенным электроном, который легко отдается свободному радикалу, стабилизируя и нейтрализуя его молекулу, переводя ее в устойчивое состояние. При этом, отдав свой электрон, классический антиоксидант может временно сам превращаться в свободный радикал (по типу цепной ядерной реакции). Для такого свободного радикала характерна меньшая “агрессивность”, которая сохраняется до тех пор, пока он не захватит электрон от другого антиоксиданта из каскада передач электронов (например, в дыхательной цепи митохондрий). В результате передач электронов такое соединение постепенно теряет свою “агрессивность” и становится менее “вредным” для организма. Одна молекула антиоксиданта, независимо от ее величины и молекулярной композиции, уступает только один электрон. Именно поэтому

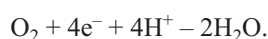
¹ Лаборатория клинической фармакокинетики (зав. — проф. Р. Д. Сейфулла) НЦ Неврологии РАМН, Москва, 123367, Волоколамское шоссе, 80.

² Московский научно-практический центр спортивной медицины, Москва, 107120, Земляной вал, 53.

препараты антиоксидантов — биологически активные вещества (эндогенные и экзогенные) различного химического строения — тормозят или блокируют процесс свободнорадикального окисления.

Антиоксиданты взаимодействуют с свободными радикалами (СР) или блокируют их эффекты. Последние являются молекулами с неспаренными электронами на внешних атомных и молекулярных орбиталях. СР обладают высокой реакционной способностью в течение очень короткого времени (доли секунды), являются промежуточными веществами во многих реакциях. Свободные радикалы “атакуют” жирные кислоты клеточных мембран, нуклеиновые кислоты, белки и другие молекулы, вызывая их повреждение.

В организме человека в нормальных условиях 98 – 99 % молекулярного кислорода подвергается тетравалентному восстановлению в цитохромной системе без образования стабильных промежуточных продуктов:



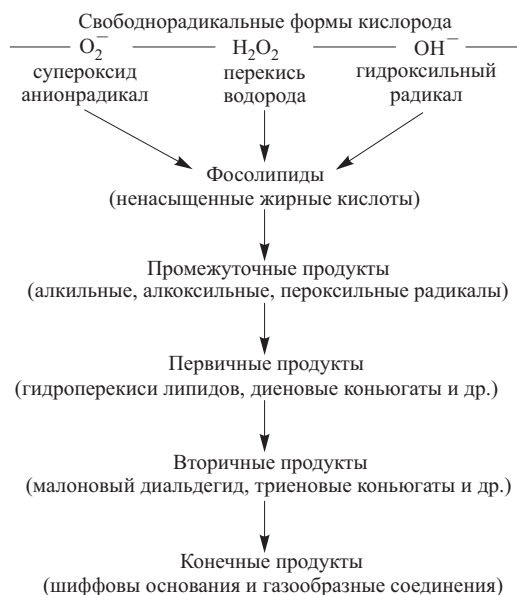
1 – 2 % общего количества потребляемого в организме кислорода подвергается одновалентному восстановлению с образованием активных форм кислорода (АФК), т.е. соединений, имеющих неспаренный электрон (важно обратить внимание на то, что сам кислород является акцептором для H^+ и превращается в АФК, поэтому при избытке кислорода в газовой смеси образование АФК существенно увеличивается).

К АФК относят: супероксидный анион ($O_2^{\cdot-}$), перекись водорода (H_2O_2), гидроксильный ион (OH^-) и синглетный (атомарный) кислород (O_2).

В клинической медицине свободнорадикальная патология со всеми ее особенностями называется “окислительный, или оксидативный стресс”. Пато-генетические эффекты АФК тогда могут объясняться нарушением регуляции как процессов их генерации, так и устранения.

Роль окиси азота и NO-синтаз в свободнорадикальной патологии

Окись азота принимает участие в патогенезе ряда органов и систем заболеваний (нервной, эндокринной, сердеч-



Действие свободных радикалов в организме (по С. В. Оковитому, Клин. фармакол. антиоксидантов, Вып. 5, 2003)

но-сосудистой и др.), а также имеет отношение к свободнорадикальной патологии, описанной в последние годы.

При увеличении кровотока активируется эндотелиальная NO-синтаза (eNOS) и из L-аргинина образуется окись азота. Эндотелиальная дисфункция может возникнуть вследствие снижения способности эндотелия освобождать или инактивировать NO. Свободные радикалы инактивируют NO. Супероксидион реагирует с NO. При этом образуется пероксинитрит (ONOO⁻), который, в отличие от NO, не является вазодилататором. Для биологического действия имеет значение не только количество, но и источник NO. Так, известны три формы NO-синтазы: нейрональная, или мозговая (nNOS, тип I), индуцируемая (iNOS, тип II) и эндотелиальная (eNOS, тип III). Высокая активность iNOS наблюдается при инсульте, сахарном диабете и других состояниях. Эндо-

Таблица 1. Системы эндогенной инактивации активных форм кислорода

Показатель	Реакция
1. Супероксиддисмутаза	Превращает $O_2^{\cdot-}$ в H_2O_2
2. Каталаза	Превращает H_2O_2 в H_2O и O_2
3. Глутатионпероксидаза и другие типы пероксидаз	Превращают H_2O_2 в H_2O и O_2
4. Трансферин, лактоферин, церулоплазмин	Предотвращают катализ свободнорадикальных реакций металлами переменной валентности
5. Аскорбиновая кислота	Блокирует супероксидный кислород, стабилизирует гидроксильный радикал, восстанавливает редуцированный витамин E
7. Альфа-токоферол в виде 7 изомеров	Блокирует синглетный кислород, стабилизирует супероксидный анион
8. Бета-каротин	Блокирует синглетный кислород
9. Мелатонин	Связывает жирорастворимые свободные радикалы
10. L-карнитин	Транспортирует жирные кислоты из цитоплазмы в митохондрии
11. L-карнозин	Корректирует метаболизм клетки. Инактивирует анионрадикалы, взаимодействует с OH^- , стабилизирует pH среды
12. Эстрогены: эстрон, эстрадиол, эстриол	Ингибируют свободнорадикальное окисление липидов
13. Селен, медь, железо и другие	Компоненты супероксиддисмутазы и каталазы. Усиливают действие антиоксидантов.

Примечание. Существуют и другие менее изученные эндогенные антиоксиданты, которые фигурируют как лекарственные средства.

телиальная дисфункция является начальной стадией развития атеросклероза (активность эндотелиальной NO-синтазы снижена).

Защита клеток от повреждающего действия АФК биологически активными веществами

Существует несколько защитных барьеров, в том числе, ферментные и неферментные, систем инактивации активных форм кислорода (АФК):

1. Ферментные системы быстрого антиоксидантного реагирования

супероксиддисмутазы (превращает $O_2^{\bullet-}$ в H_2O_2);

каталазы (превращает H_2O_2 в H_2O и O_2);

глутатионпероксидазы и другие типы пероксидаз (превращают H_2O_2 в H_2O и O_2).

2. Неферментные системы второго уровня защиты от свободных радикалов:

1) витамины:

аскорбиновая кислота (восстанавливает водорастворимые свободные радикалы);

α -токоферол и β -каротин (связывают жирорастворимые свободные радикалы);

2) мелатонин (связывает жирорастворимые радикалы);

3) хелатные агенты — предотвращают катализ свободнорадикальных реакций металлами переменной валентности.

Классификация систем эндогенной инактивации АФК представлена в табл. 1.

Итак, в организме человека имеются как системы генерации АФК, так и достаточно эффективные системы защиты клеток. В норме между этими системами существует равновесие, а при различных патологических состояниях происходит его смещение в сторону некомпенсированной продукции АФК. Сбалансировать нарушенное равновесие можно с помощью антиоксидантов, которые могут непосредственно взаимодействовать с АФК, устранять ионы железа и меди, активирующие свободнорадикальные реакции, изменять структуру мембран, ограничивая доступность полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) для окислителей, повышать активность антиоксидантных эндогенных ферментов и т.д.

Источниками АФК являются: мембраны моноцитов, макрофагов и эозинофилов (в реакциях гипоксантин \rightarrow ксантинооксидаза, в процессе образования метаболитов арахидоновой кислоты, в частности, простагландинов G_2 и H_2 (эндоперексиды) и лейкотриенов), а также в процессе образования катехоламинов, при аутоокислении гемоглобина до метгемоглобина с образованием супероксидного аниона, неферментативное образование АФК в реакции Хабера — Вейса при взаимодействии супероксидного радикала с перекисью водорода в присутствии ионов металла с переменной валентностью (железа или меди) или в реакции Фентона при взаимодействии перекиси водорода с двухвалентным железом.

Классификация антиоксидантов по механизму действия может быть представлена следующим образом:

1. Антирадикальные ингибиторы — препараты, содержащие растительные (адаптогены), животные (гормоны эстрогены) и синтетические полифенолы.

2. Препараты антиоксидантов, которые “разрушают” перекиси — серосодержащие соединения и др.

3. Препараты, которые связывают катализаторы свободнорадикальных процессов — ионы металлов переменной валентности.

4. Лекарственные средства, инактивирующие синглетный кислород — витаминные препараты (токоферолы, каротиноиды и др.).

Антиоксиданты разделяют на две основные группы — прямого и непрямого действия, что объясняется их химической структурой.

Антиоксиданты прямого и непрямого действия

Антиоксиданты обладают антирадикальным действием *in vitro*, в низких концентрациях блокируют свободнорадикальное окисление субстрата. К ним относится большая часть лекарственных средств с антиоксидантным действием. Среди них выделяют пять основных групп: *доноры протона*, полиены, катализаторы, “ловушки” свободных радикалов, комплексообразователи. Доноры протона — представляют соединения с легкоподвижным атомом водорода.

Полиены — соединения с несколькими ненасыщенными связями, которые легко окисляются и конкурируют за АФК и радикалы с биомолекулами (защищают их от окисления). Взаимодействуют с различными свободными радикалами (присоединяются ковалентно по их двойной связи). К ним относятся ретиноиды и каротиноиды.

Катализаторы — вещества, катализирующие элиминацию АФК и промежуточные продукты свободнорадикального окисления (СРО) без образования новых свободных радикалов. Они не расходуются в ходе реакций элиминации АФК и продуктов СРО. Их дозы меньше, а эффект продолжительнее.

“Ловушки” радикалов — связывают супероксидные и гидроксильные радикалы, представители класса нитронов. Эффективны при окислительных поражениях ЦНС, за счет ингибирования всех звеньев СРО и элиминации первично продуцирующихся АФК.

Комплексообразователи (хелаторы) — ЭДТА и ее соли (трилон Б, версен, комплексон 111), дефероксамин, 1, 10 — батофенантролин, карнозин, изоникотиноилные соединения, флавоноиды, карведиллол. Ингибируют только металлозависимые реакции СРО за счет связывания катионов металлов переходной валентности, катализирующих реакции образования АФК.

Кроме того, ряд авторов разделяют антиоксиданты на высокомолекулярные (ферменты, белки и другие), которые с трудом проникают через клеточные барьеры и низкомолекулярные (аминокислоты, витамины А, С, Е, К, полиамины, мочевины, мочевая кислота и др.).

Антиоксиданты непрямого действия проявляют эффект в организме или его клетках, но не эффективны *in vitro*, так как затрагивают множественные метаболические реакции, в том числе селективную индукцию генов, влияние на ферменты, подавление реакций, приводящих к образованию АФК и др. Тяжелые формы окислительного стресса являются важным патогенетическим фактором, приводящим к тяжелым последствиям (инфаркт миокарда, ишемический инсульт, сахарный диабет, гипертоническая болезнь и др., комплекс которых клиницисты обозначают как метаболический синдром).

Наноантиоксиданты

Это новый класс антиоксидантов, который имеет пока ограниченное применение на территории России. Исследованы и внедрены в клиническую практику Патриком и Гейл

Фланаганами (P. and G. Flanagan), которые изучали их уникальные свойства — отдавать электрон свободным радикалам, переводя их в устойчивое состояние. Задача заключалась в том, чтобы найти вещество с очень малыми молекулами, которое бы могло предоставить электрон свободным радикалам. В течение 15 лет научного поиска был разработан 33-стадийный процесс научно-производственной технологии и в 1997 г. начаты клинические испытания наноантиоксидантов. Фланаганы создали препараты, влияющие на структуру воды, а именно, на образование структурированной воды, аналогичной воде, которая находится в клетках организма. Препараты содержат нанокластеры кремнезема и имеют ряд названий, такие как микроколлоидные частицы и микрокластеры кремнезема. Так были созданы кремниевые шарики (*silica Buckyballs*) с сильным отрицательным зарядом, которые представляют собой структурированный углерод в виде сфер (диаметр сферы 5 нанометров). Он состоит из природного кремния, карбоната калия, сульфата магния и жирных кислот сафлорового масла. Основное их действие заключается в упорядочении структуры воды и усилении действия классических антиоксидантов. Эти нанокластеры несут большой отрицательный заряд (Z-потенциал), который изменяет физико-химические свойства воды.

Так, один из препаратов микрогидрин, а также витамины E и C с нанокластерами и другие, разрешенные для клинического применения в России, в настоящее время считаются самыми эффективными природными антиоксидантами.

Окислительно-восстановительный потенциал (ОВП) обычной воды + 150 милливольт, а при взаимодействии с нанокластерами Фланаганов смещается в сторону отрицательных значений до – 50 милливольт. Жидкокристаллическая структура воды восстанавливается, так как последняя величина соответствует ОВП межклеточных жидкостей организма (как это имеет место в клетках организма — при замерзании такая вода имеет идеальную кристаллическую структуру), что свидетельствует об упорядочении диполей молекул воды. Клеткам организма не приходится тратить энергию (АТФ) на выравнивание ОВП, а энергия расходуется на обеспечение внутриклеточного метаболизма.

Как известно, структурирование воды влияет на третичную структуру макромолекул и на скорость ферментативных реакций. Если активные центры ферментов локализованы в структурированной воде, то можно получить объяснение большей скорости ферментативных реакций. На границе раздела липид/вода в биологических мембранах за счет неподеленных пар электронов атомов азота или кисло-

Таблица 2. Наноантиоксиданты, применяемые с профилактической и лечебной целью

Показатель	Структура	Применение
Микрогидрин (тысячи нанокластеров Фланаганов в капсуле)	Капсула содержит обогащенный водородом кремний. Слабосвязанный дополнительный электрон отдается для нейтрализации свободных радикалов, нестабильных молекул, образующихся в организме	При приеме микрогидрина активируется синтез АТФ, происходит восстановление энергетических процессов и поврежденных мембран клеток и субклеточных структур. Курсовое применение микрогидрина повышает работоспособность добровольцев, ускоряет процессы восстановления после истощающих физических нагрузок.
Витамин E	C нанокластерами (кремнезем, поташ, сульфат Mg, витамин A, тиамин, рибофлавин, кальций, железо)	Антиоксидант. Защищает организм от действия свободных радикалов, предохраняет от окисления ненасыщенные жирные кислоты клеточных мембран, стимулирует деятельность мышц, оптимизирует функцию эндокринных желез, участвует в метаболизме белков и углеводов, способствует усвоению витаминов, особенно A и D, микроэлементов, укрепляет стенки мелких кровеносных сосудов, сердечную и нервную ткани.
Витамин C	Со специальной формой витамина C, спирулины, биофлавоноидов и нанокластеров	Антиоксидант. Применяется при мышечной дистрофии, боковом амиотрофическом склерозе, заболеваниях сердца и периферических сосудов, заболеваниях печени, при других состояниях для коррекции физической работоспособности.
Микрокластеры кремнезема	Кремнезем	Антиоксидант. Влияет на структуру воды. Микрокластеры легко проникают через биологические мембраны. Способствуют транспорту метаболитов и выведению отработавших веществ из клетки. Повышает умственную и физическую работоспособность, иммуномодулятор, нормализует обмен веществ.
Коллоидное золото	Сверхмалые частицы золота (1 нм) в деминерализированной воде	Оказывает протекторное действие на головной мозг.
Гинкго билоба	Гинкго билоба с нанокластерами	Повышает эластичность сосудов сердца и мозга, применяют после черепно-мозговых травм, инсультов, при нейроциркуляторных дистониях, сахарном диабете, снижении концентрации внимания. Стимулирует обменные процессы.

Таблица 3. Сравнительная характеристики наноантиоксидантов

Название наноструктуры	Строение, размер	Свойства
Нанокластеры Фланаганов (микрогидрин)	Нанокластеры кремнезема, 5 нанометров	Ингибируют СОЛ, отдают электроны свободным радикалам. Структурируют воду в клетках, ингибируют ПОЛ, повышают синтез АТФ
		
Фуллерены	Циклические структуры C ₆₀ , 1 – 5 нанометров	Ингибируют СОЛ, отдают электроны свободным радикалам. Структурируют воду в клетках.
		
Липосомальные антиоксиданты (эмоксипин, фридокс, перфторан, тестостерон)	Антиоксиданты, загруженные в структуру липосом, 50 – 150 нанометров	Классические антиоксиданты, транспортируемые в липосомах и ингибирующие ПОЛ
		

Примечание: СОЛ — свободное окисление липидов, ПОЛ — перекисное окисление липидов.

рода, которые формируют полярные головки, образуются водородные связи с молекулами воды. Гидрофобные участки молекул ориентируются и проникают в липидный слой. Биодоступность и биоактивность в структурированной воде значительно выше, биологически активные вещества в такой воде действуют более эффективно. Названия, структура и показания к применению препаратов с нанокластерами приведены в табл. 2.

В последние годы опубликованы данные об экспериментальном изучении и практическом применении еще двух классов антиоксидантов — в липосомальной форме и фул-

леренов. Эти антиоксиданты являются наиболее эффективными препаратами из известных в настоящее время.

Фуллерены представляют циклические сферические структуры размером 5 нанометров, которые структурируют воду и тем самым отдают свободные электроны свободным радикалам. При этом они не переходят в свободные радикалы, что приводит к обрыву цепной реакции образования АФК.

Антиоксиданты (эмоксипин, фридокс, перфторан, тестостерон и др.), содержащиеся в липосомах, легко проникают в клетки организма за счет последних и оказывают отчетливое действие. Фармакодинамика нанооксидантов представлена в табл. 3.

Количество публикаций по антиоксидантным эффектам лекарственных средств и биологически активных добавок к пище в литературе весьма значительно. В современных справочных изданиях перечень препаратов, обладающих антиоксидантным свойством, невелик по сравнению с их востребованностью в каждодневной лечебной практике. Среди них витамин Е, дигидрохверцитин, димефосфон, левокарнитин, мельдоний, натрия дезоксирибонуклеат, натрия оксибат, полидигидрооксифенилентиосульфат натрия, триметазидин, эмоксипин, этилметилгидроксипиридина сукцинат (мексидол) и некоторые другие.

В то же время в периодической медицинской печати описаны сотни препаратов, которые оказывают антиоксидантное действие, с чем связаны их лечебные эффекты. Суть клинического применения антиоксидантов должна соответствовать критериям доказательной медицинской практики, когда устанавливается наличие свободнорадикальной патологии при том или ином заболевании осуществляется подбор антиоксидантов, его дозы и сроки применения, а также проводится лекарственный мониторинг.

Таким образом, эндогенные и экзогенные антиоксиданты являются важнейшими биологически активными веществами, которые регулируют клеточный гомеостаз в организме человека путем ингибирования патогенного действия свободных радикалов, а при образовании высоких концентраций активных форм кислорода необходимы для профилактики и лечения многих заболеваний, сопровождающихся оксидативным стрессом.

ANTIOXIDANTS

R. D. Seifulla^{1,2}, E. A. Rozhkova^{1,2}, and E. K. Kim²

¹ Laboratory of Clinical Pharmacokinetics, Research Center of Neurology, Russian Academy of Medical Sciences, Volokolamskoye Shosse 80, 123367 Moscow, Russia

² Laboratory of Clinical Pharmacology and Doping Control, Moscow Research Center of Sport Medicine, ul. Zemlyanoi Val 53, Moscow, 107120 Russia;

Key words: Free radicals pathology, antioxidants, nanoantioxidants