

УДК 577.353.01

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ МЕМБРАН И ПРИРОДНЫЕ АНТИОКСИДАНТЫ

Бурлакова Е. Б., Храпова Н. Г.

Рассмотрены пути окисления липидов мембран и дана классификация пусковых и защитных систем, влияющих на скорость этого процесса. Обсуждена регулярная роль взаимосвязи состава липидов мембран и интенсивности их окисления, позволяющая этот процесс рассматривать как способ быстрого обновления состава липидов и изменения функциональной активности мембран. Приведены кинетические характеристики природных антиоксидантов как ингибиторов радикальных процессов и выявлены особенности их действия, которые обсуждаются в плане их участия в регуляции перекисного окисления липидов.

Библиография — 119 ссылок.

ОГЛАВЛЕНИЕ

I. Введение	1540
II. Системы, регулирующие скорость перекисного окисления липидов мембран	1540
III. Состав липидов и интенсивность их окисления	1547
IV. Природные антиоксиданты	1548

I. ВВЕДЕНИЕ

Начало исследований в СССР по перекисному окислению липидов (ПОЛ) было положено работами, выполненными в 1954—1956 гг. в Московском государственном университете и в Институте химической физики АН СССР, которые были признаны как приоритетные работы Советского Союза [1, 2].

В настоящее время это направление успешно развивается не только в СССР, но и за рубежом. Вопросу биологической значимости окислительных процессов, протекающих в липидах мембран, не случайно уделяется такое большое внимание. Установлено, что накопление в мембранах продуктов окисления липидов меняет структуру мембран и приводит к изменению их функциональной активности. Наибольшее внимание исследователей привлекают перекиси липидов, которые являются первичными и лабильными продуктами окисления липидов.

Перекисное окисление липидов довольно долго рассматривалось многими исследователями как процесс нежелательный и даже вредный для организма. Этому способствовало установление следующих фактов: 1) наиболее часто перекиси были обнаружены в органах животных при развитии различных патологий; 2) в ряде работ было показано, что введение животным окисленных липидов токсично для организма [3, 4]; 3) появление перекисных группировок в жирнокислотных остатках фосфолипидов мембран изменяет такие их свойства, как проницаемость, устойчивость липид-белковых комплексов, вызывает инактивацию ферментов [5—11].

В настоящем обзоре рассмотрены вопросы, связанные с ролью природных антиоксидантов в регуляции ПОЛ.

II. СИСТЕМЫ, РЕГУЛИРУЮЩИЕ СКОРОСТЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ МЕМБРАН

Открытие в 1963 г. [12] двух путей перекисного окисления липидов — ферментативного и неферментативного и интенсивное изучение этих процессов за последние годы несколько изменило оценку биологической роли перекисей.

Ряд моментов оказался важным для утверждения положения о существенной роли перекисного окисления для нормального метаболизма.

1. Усовершенствование и повышение чувствительности методов определения перекисей позволило обнаружить их во многих органах и тканях интактных животных.

2. Обнаружены и изучены ферментативные системы, регулирующие как скорость образования перекисей, так и скорость их утилизации [13—18]. Это означает, что процессы образования и утилизации перекисей свойственны нормальному метаболизирующему клеткам и количество перекисей в мембране должно поддерживаться на определенном стационарном уровне.

3. Тщательное изучение токсичности окисленных липидов показало, что токсичными для организма являются не столько перекиси, сколько продукты более глубокого окисления липидов — альдегиды, кетоны, кислоты [19].

4. Показано, что перекиси липидов являются интермедиатами, которые используются организмом для синтеза биологически активных веществ: простагландинов, тромбоксанов, стероидных гормонов и т. д. [20—23], и поэтому их нельзя рассматривать как побочные и нежелательные продукты окисления.

Синтез этих веществ в организме из ненасыщенных жирных кислот осуществляется в несколько стадий через образование короткоживущих, лабильных эндоперекисей под влиянием специфических ферментов. Например, при циклизации арахидоновой кислоты образуются эндоперекиси (простагландины Г₂ и Х₂), которые трансформируются в простагландины Е₂, Д₂, Ф_{2α}. В том же случае, если на эндоперекиси действует тромбоксансилипаза, локализованная в мембранах микросом тромбоцитов, образуются тромбоксаны А₂, В₂ — вещества с ярко выраженным адгезионным свойствами. Если на эти эндоперекиси действуют ферменты микросомальной фракции артериальных сосудов, биосинтез обращается в сторону образования простациклина — вещества, обладающего антиадгезионным и деагрегирующим действием, в десятки раз превосходящим антитромбатическую активность простагландинов [20]. Следовательно, из одного и того же предшественника — эндоперекиси арахидоновой кислоты, в зависимости от того, какая ферментная система включается в биосинтез, образуются биологически активные вещества с различными, иногда прямо противоположными свойствами. Перекиси являются универсальным сырьем, которое используется организмом для самых разнообразных целей.

5. Перекисное окисление липидов взаимосвязано с процессом обновления состава фосфолипидов мембран. Показано, что интенсификация ПОЛ приводит к ускорению обмена фосфолипидов, изменению их относительного состава, к изменению липид-белковых отношений и, как следствие, к изменению структуры мембранны [24—27].

В основе взаимосвязи между скоростью ПОЛ и изменением состава липидов лежит ускорение выхода фосфолипидов из мембран при увеличении скорости перекисного окисления. В модельных экспериментах с выделенными мембранами было обнаружено уменьшение отношения фосфолипид/белок при индукции перекисного окисления и уменьшение относительного количества легко окисляемых фосфолипидов, таких как фосфатидилэтаноламин, фосфатидилсерин, кардиолипин, фосфатидилинозит. Показано ускорение «флип-флопа» и пассивного переноса липидов [28, 29]. В то же время данные, касающиеся активного переноса с помощью липид-переносящих белков, весьма противоречивы. Так, в работе [29] обнаружено, что индукция перекисного окисления не влияет или даже угнетает перенос липид-переносящим белком фосфатидилхолина между мембранами.

В работах [30, 31] представлены данные о роли текучести липидов мембран в активности липид-переносящих белков. Показано, что наиболее благоприятным для работы липид-переносящих белков является ригидное состояние мембраны — донора липидов. Так как перекиси липи-

дов увеличивают микровязкость липидного бислоя мембран [32], то таким образом они могут увеличивать активность липид-переносящих белков и скорость выхода липидов из мембраны.

Следует иметь в виду и ускорение расщепления окисленных фосфолипидов с помощью фосфолипаз по сравнению с неокисленными [33]. В экспериментах *in vivo* во всех изученных случаях показано, что интенсификация перекисного окисления приводит к обогащению липидов мембран более резистентными к окислению фракциями (фосфатидилхолином, сфингомиелином, холестерином) [34—36]. Полученные результаты, которые трактуются с точки зрения изменения скорости катаболизма фосфолипидов, находят свое подтверждение в изменении времен обновления фосфолипидов. Интенсификация ПОЛ приводит к уменьшению времени обновления липидов мембран. Это хорошо продемонстрировано для облученных растительных клеток [36, 37].

Расчеты показывают, что для легко окисляемых фосфолипидов времена обновления находятся в хорошем соответствии со скоростью их перекисного окисления, что позволяет считать перекисное окисление липидов одним из важных факторов, обуславливающим процесс обновления липидов мембран.

В последнее время появилось большое число работ, показывающих липид-зависимость мембранных белков — ферментов, рецепторов, канализаторов, транслокаторов и т. д. Поэтому изменение состава липидов, вызванное изменением скорости перекисного окисления, будет менять и активность этих мембранных белков.

6. Показано, что сами перекиси липидов могут как активировать, так и ингибировать активность ферментов [38—40], а также выступать в роли аллостерических эффекторов. Взаимодействия перекисей липидов с каталитическим и аллостерическим центрами белков дает основание среди липид-зависимых ферментов выделять отдельно группу пероксилипид-зависимых ферментов [38, 41, 42].

Важным моментом в действии перекисей липидов на ферменты является возможность трансформации ими ферментативной активности [41].

Таким образом, все эти данные говорят в пользу того, что перекисное окисление липидов следует считать физиологическим процессом, а перекиси — продуктами обмена нормальных метаболизирующих клеток. Низкий уровень перекисей липидов, свойственный нормальным тканям, совсем не означает, что в них не происходит перекисного окисления, а объясняется тем, что в тканях хорошо сбалансированы процессы образования и расходования перекисей и окисление липидов протекает на определенном стационарном уровне [43].

При развитии патологических состояний такой баланс может нарушаться, образующиеся перекиси накапливаются в тканях, приводя к серьезным нарушениям в биомембранах.

Рассмотрим, каким же образом в мембранах поддерживается стационарный уровень окисления липидов.

Окисление липидов мембран является сложным многостадийным процессом. Ему присущи свои характерные особенности, обусловленные прежде всего участием в окислении ряда ферментов, структурированностью липидного бислоя мембран, высокой степенью ненасыщенности жирных кислот, входящих в состав фосфолипидов, многокомпонентностью состава липидов, присутствием в них веществ, способных усиливать или ослаблять действие природных антиоксидантов, инициировать окисление.

Следует отметить, что нормальным физиологическим процессом в настоящее время признан только ферментативный путь перекисного окисления липидов. Неферментативный путь автоокисления липидов до сих пор многими исследователями считается неуправляемым, а потому не свойственным норме процессом. Такая точка зрения нам кажется неправильной.

Автоокисление липидов является частным случаем жидкотекущего окисления углеводородов, теоретические основы которого детально разработаны школой Н. М. Эмануэля [44—49], и представляет собой типичный цепной процесс с вырожденным разветвлением. Отличительной чертой этих процессов является чрезвычайно большая чувствительность к самым незначительным изменениям в составе и соотношении компонентов окисления, в концентрации различных добавок, которые могут играть роль ингибиторов или активаторов окисления. Именно такие качества важны для процессов, участвующих в регуляции функциональной активности мембран. В отличие от окисления *in vitro*, скорость которого можно значительно варьировать в широких пределах, меняя температуру, состав и соотношение компонентов, в мембранах такие изменения возможны в очень ограниченных пределах. Поэтому регулирующую функцию могут выполнять только те процессы, скорость которых существенно зависит от небольших изменений в составе компонентов. Таким требованиям вполне отвечают цепные вырожденно-разветвленные процессы окисления. Поэтому неферментативное окисление липидов вряд ли можно рассматривать как лавинообразный, нерегулируемый процесс. Вопрос о том, может ли неферментативное окисление идти в липидном бислое мембран, жирнокислотные остатки фосфолипидов которых структурированы, до сих пор дискутируется. Однако признание мозаичной структуры мембран с «липидными морями» позволяет допустить, что при окислении липидов выполняются все условия, необходимые для протекания гомогенного окисления в жидкой фазе.

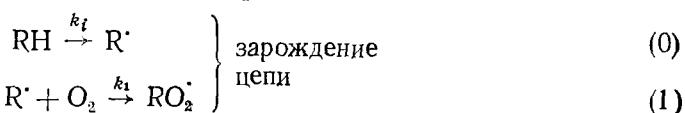
Высокая структурированность липидного бислоя мембран в какой-то мере приближает свойства липидов как субстрата окисления к свойствам полимеров. Для низкотемпературного окисления полимеров [50], показана правомочность применения закономерностей, выведенных для жидкотекущего окисления органических веществ. Исходя из этого можно предположить, что все особенности окисления липидов, установленные в модельных системах, будут проявляться и при окислении липидов мембран, но, безусловно, строение биологических мембран должно оказывать существенное влияние на интенсивность этого процесса.

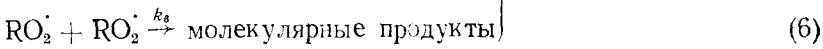
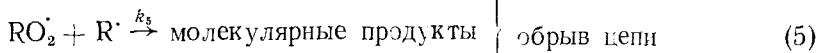
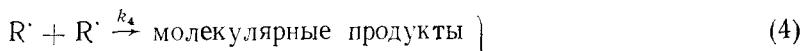
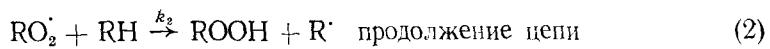
Таким образом, можно полагать, что окисление липидов в мембранах может идти и неферментативным путем. Возникает вопрос, есть ли необходимость проводить резкую границу между двумя путями окисления липидов? Следует отметить, что оба пути окисления липидов имеют много общего, хотя и различаются способом инициирования, набором промежуточных и конечных продуктов окисления.

В обоих случаях окисление липидов идет через стадию образования свободных радикалов липидов, которые являются достаточно активными, коротковивущими радикалами. Скорость окисления существенно зависит от состава фосфолипидов мембран (особенно от количества двойных связей в ненасыщенных жирных кислотах (НЖК), от структурированности липидной фазы мембранны, от присутствия ингибиторов, активаторов и прочих веществ, высоко эффективных даже в малых концентрациях. По всей вероятности, пути окисления на разных стадиях могут переходить один в другой. Так, активные формы кислорода, образовавшиеся ферментативным путем, могут инициировать неферментативное окисление [51—53]. С другой стороны, глутатионпероксидаза разлагает перекиси липидов независимо от того, каким путем (ферментативным или нет) они образовались [54—57].

Независимо от того, протекает ли окисление липидов неферментативно или с участием ферментов следует рассматривать следующие основные элементарные стадии его развития: инициирование, продолжение, разветвление цепи и обрыв целей окисления (схема 1) [44—49]:

Схема 1





RH — субстрат окисления

Общая скорость окисления липидов мембран определяется соотношением скоростей каждой из этих стадий. Изменение скорости любой стадии окисления приводит к нарушению стационарности процесса, к изменению общей скорости окисления и накопления перекисей липидов в мембранах, что в свою очередь может привести к возникновению состояний, не свойственных клетке в норме. Мы полагаем, что в клетке существует несколько пусковых и защитных систем, которые изменяют скорость окисления липидов и которые можно рассматривать как регуляторные. Эти системы можно разбить на 4 группы [43].

Система I, ответственная за строго определенную структурную организацию липидов и влияющая таким образом на скорость реакции инициирования, продолжения и обрыва цепи.

Ферменты, ответственные за образование и гибель активных форм кислорода и свободных радикалов, инициирующих окисление и ферменты участвующие в разложении перекисей без образования свободных радикалов из них (система II).

Система III, регулирующая обмен фосфолипидов мембран и влияющая на скорость окисления путем изменения состава НЖК фосфолипидов, отношения липид/белок, фосфолипиды/холестерин и т. д.

Низкомолекулярные вещества, выполняющие роль инициаторов, катализаторов, ингибиторов, туннелей, синергистов и т. п. и влияющие на стадию разветвления и обрыва цепи (система IV).

Сейчас уже можно сказать, что действие этих систем взаимосвязано и что ни одной из них нельзя приписывать главенствующую роль: каждая из этих систем работает в строго очерченных границах, в разных случаях преобладающие и лимитирующие реакции будут меняться. Поэтому говорить о первой или второй линии защиты, как это сказано в работах Фридовича [14, 17, 18], по-видимому, нецелесообразно.

Коротко рассмотрим работу этих систем на разных стадиях окисления.

Стадия зарождения и продолжения цепи. Стационарная концентрация перекисных радикалов липидов будет определяться составом НЖК липидов (прочностью их двойных связей), концентрацией веществ, способных разрывать двойные связи и скоростью гибели перекисных радикалов липидов.

В настоящее время известно, что в клетке существует несколько типов свободных радикалов, которые различаются как по способу образования, так и по активности. Мы не будем рассматривать первичные механизмы зарождения свободных радикалов в мембранах, поскольку этим вопросам посвящен целый ряд обзоров [18, 51, 57, 58]. Отметим только, что независимо от природы образовавшихся свободных радикалов, по принципу неуничтожимости свободной валентности, они обмениваются на перекисные радикалы липидов, причем скорость этого обмена достаточно высока. Повышение концентрации перекисных радикалов липидов в мембранах приводит к увеличению общей скорости окисления, которая пропорциональна их концентрации. Следует особо подчеркнуть, что мы рассматриваем только короткоживущие перекисные радикалы липидов. Изменение концентрации перекисных радикалов липидов, дополнительное их образование или гибель, вызванные изменением ско-

ности работы тех или иных систем, приводит к изменению стационарности процесса.

Поэтому системы, влияющие на условия образования активных радикалов в липидах мембран, будут менять и общую скорость окисления. По всей вероятности, определяющую роль здесь играет структурная организация липидов мембран (I система), которая влияет на доступность остатков НЖК фосфолипидов мембран к действию кислорода. Чем плотнее упаковка НЖК в фосфолипидах мембран, тем меньше к ним доступ O_2 или синглетного кислорода (O_2^*), тем ниже скорость зарождения свободных радикалов. Любые агенты, нарушающие упаковку НЖК (например, хаотропные агенты) ускоряют окисление липидов. Факторы, поддерживающие структуру липидов мембран, тормозят окисление.

Вещества, способныеdezактивировать O_2^* , тушители синглетного кислорода, также будут менять скорость зарождения и тормозить общую скорость окисления (IV система).

Изменение активности ферментов, участвующих в образовании или гибели свободных радикалов и активных форм кислорода (II система), также оказывают большое влияние на общую скорость окисления липидов. При этом активность таких ферментов зависит от структурированности липидного бислоя мембран.

Действительно, показано, например, что активность ферментов, ответственных за образование перекисных радикалов, требует для своей работы жидкого состояния липидов, повышение вязкости приводит к торможению работы этих ферментов [56, 59]. В то же время и при неферментативном зарождении свободных радикалов на скорость инициирования большое влияние оказывает изменение вязкости липидной компоненты. Выход радикалов из клетки существенно тормозится при увеличении вязкости [60, 61].

Следует обратить внимание на то, что в нормальной метаболизирующей клетке, мембранны которой существенно не изменены, структурированность липидов, по всей вероятности, будет меняться в ограниченных пределах. При моделировании перекисного окисления липидов в мембранах *in vitro* нарушается структурированность липидного бислоя. Поэтому количественные характеристики, полученные в таких модельных системах, могут быть с определенной осторожностью перенесены на окисление липидов *in vivo*, структурированность которых оказывает решающее влияние на скорость их окисления.

Способностью стабилизировать липиды мембран за счет улучшения структурированности липидного бислоя обладают некоторые витамины, имеющие длинноцепочечные боковые заместители (IV система). В последнее время широкое распространение получила гипотеза о структурном взаимодействии токоферолов с компонентами биологических мембран [62—64]. Согласно концепции этих авторов, молекула токоферола стабилизирует мембранные благодаря специальному взаимодействию между ее боковой фитильной группой и жирнокислыми цепями фосфолипидов мембран. Эта модель предусматривает взаимодействие между метильными группами боковой цепи токоферолов и *cis*-двойными связями НЖК таким образом, что CH_3 -группа у C(4) и C(8) боковой цепи токоферолов входит в «карманы», образованные двойными связями остатков НЖК фосфолипидов. Взаимодействие осуществляется посредством сил Ван-дер-Ваальса и увеличивает плотность упаковки фосфолипидов мембран. Это препятствует проникновению кислорода к двойным связям НЖК и образованию перекисных радикалов липидов, к уменьшению общей скорости окисления.

Витамины другого строения, образующие при окислении промежуточные радикальные формы (витамины А, С, D, F) при определенных концентрациях, могут выполнять роль инициаторов и ускорять окисление липидов, увеличивая скорость образования свободных радикалов [13, 65—68].

Такую же роль инициаторов могут выполнять ионы металлов переменной валентности, особенно ионы Fe^{2+} , Cu^{+} [7, 9, 69] (IV система).

Скорость продолжения цепи окисления существенно зависит от состава НЖК фосфолипидов, от степени их ненасыщенности. Поэтому изменение скорости обмена фосфолипидов, скорости выхода их из мембран будет менять и общую скорость окисления (III система).

Таким образом, общая скорость окисления липидов на стадии зарождения и продолжения цепи зависит от всех четырех систем: от изменения структурированности липидов мембран (I и IV системы); от активности системы ферментов, участвующих в образовании и гибели свободных радикалов и активных форм кислорода (II система); от наличия тушителей синглетного кислорода (IV система); от состава НЖК фосфолипидов (III система); от присутствия в липидах веществ, выполняющих роль инициаторов окисления (IV система).

Стадия разветвления цепей. Первичными продуктами окисления липидов являются гидроперекиси, достаточно лабильные вещества, способные к самопроизвольному распаду на свободные радикалы, что позволяет рассматривать окисление липидов как цепной вырожденно-разветвленный процесс. Скорость реакции разветвления цепей определяется как устойчивостью образовавшихся гидроперекисей, так и их количеством. В свою очередь устойчивость гидроперекисей зависит прежде всего от строения НЖК. Поэтому факторы, изменяющие жирнокислотный состав фосфолипидов мембран (III система), будут менять не только окисляемость этих липидов, но и устойчивость образовавшихся гидроперекисей. Стационарное количество перекисей в липидном бислое будет зависеть как от скорости их образования, так и от скорости выхода их из мембран.

Поэтому ферменты, утилизирующие ROOH (II система), будут уменьшать их количество и, следовательно, скорость реакции разветвления цепи и общую скорость окисления (например, глутатионпероксидаза, каталаза, пероксидаза) [14—17, 69, 70]. Такое же действие на общую скорость окисления оказывают меркаптосоединения, разлагающие перекиси молекулярным путем, без образования свободных радикалов (IV система) [71]. Ионы металлов переменной валентности, особенно ионы Fe^{2+} в невысоких концентрациях, катализируют разложение перекисей на свободные радикалы и тем самым увеличивают общую скорость окисления [69].

Таким образом, общая скорость окисления на стадии разветвления цепи непосредственно зависит от действия трех систем: от активности системы ферментов, регулирующих обмен фосфолипидов мембран (III система); от активности системы ферментов, утилизирующих гидроперекиси без образования свободных радикалов (II система); от присутствия в липидах фосфор- и серусодержащих веществ, разлагающих перекиси без образования свободных радикалов и от концентрации ионов металлов переменной валентности (IV система).

Что касается участия I системы в регуляции скорости разветвления цепи, то ее влияние опосредуется через работу других систем (II, III). Как уже указывалось, от вязкости липидов мембран зависит эффективность переноса липидов между мембранами, катаболизм окисленных форм липидов, работа ряда ферментов II системы. Нельзя исключить и влияние вязкости среды на константу распада перекисей на радикалы. Однако специальных работ, посвященных этим вопросам, мы в литературе не встречали.

Стадия обрыва цепи состоит из реакций квадратичного обрыва перекисных или алкильных радикалов липидов (их рекомбинации или диспропорционирования) и реакций линейного обрыва на границе раздела фаз или в объеме, например на молекулах природных антиоксидантов.

Изменение состава перекисных радикалов при изменении состава фосфолипидов (III система) может привести к изменению скорости их рекомбинации, стационарной концентрации перекисных радикалов и в конечном счете к изменению общей скорости окисления липидов.

Изменение концентрации веществ, на молекулах которых может осуществляться линейный обрыв цепей (IV система) сильно меняет общую скорость окисления липидов.

Следует особо подчеркнуть, что способностью непосредственно реагировать с перекисными радикалами липидов обладают только природные антиоксиданты [АО]. Если при каком-либо воздействии в липидах мембран образовалось дополнительное количество свободных радикалов, возникновению которых не смогла препятствовать ни структурная (система I) ни ферментативная (система II) системы защиты, то в результате обменной реакции с линейным субстратом эти радикалы могут обмениваться на перекисные радикалы липидов. Уничтожить избыточную концентрацию перекисных радикалов липидов могут только природные антиоксиданты, причем их влияние на общую скорость окисления значительно превышает эффективность воздействия других систем. Это определяет особую роль природных антиоксидантов в регуляции процессов перекисного окисления липидов [5].

Таким образом, общая скорость окисления липидов на стадии обрыва цепи зависит от изменения состава НЖК при обмене фосфолипидов (III система) и от активности системы природных антиоксидантов и их синергистов (IV система).

В рамках данного обзора разобраны основные закономерности работы III и IV систем. Характеристики работы I и II систем детально не рассматриваются, поскольку в литературе имеется ряд серьезных обзоров на эту тему [15, 18, 57, 72, 73].

III. СОСТАВ ЛИПИДОВ И ИНТЕНСИВНОСТЬ ИХ ОКИСЛЕНИЯ

Настоящий этап изучения закономерностей перекисного окисления липидов характеризуется повышением внимания к кинетическим исследованиям в сравнительном аспекте окисления отдельных фосфолипидов и в составе мембран через ряд моделей возрастающей сложности.

Применяемые модели позволяют выяснить роль текучести, заряда, гидрофобности и других физико-химических характеристик липидного бислоя в кинетических закономерностях перекисного окисления.

Ранее было известно, что наиболее легко окисляются фосфолипиды, в состав которых входят ненасыщенные жирные кислоты. Работами последних лет показано, что на окисление фосфолипидов влияет строение не только жирнокислотных остатков, но и других составляющих. Так, при окислении одинаковых по жирнокислотному составу фосфатидилхолина (ФХ) и фосфатидилэтаноламина (ФЭА) выявлено более быстрое окисление последнего [75]. Одним из важных вопросов в кинетике окисления фосфолипидов является изучение вопроса о том, как изменяются кинетические характеристики окисления в липосомах или мицеллах по сравнению с окислением фосфолипидов в гомогенном растворе инертного растворителя. В табл. 1 представлены кинетические характеристики процесса инициированного окисления метиловых эфиров олеиновой, лино-

Таблица 1

Влияние среды на кинетические характеристики инициированного окисления липидных субстратов разного состава

Субстрат окисления	Выход радикалов	$10^3 \cdot k_2 / V k_b^{1/2}$, (л/моль·с) $^{1/2}$	Ссылки
Метилолеат*	0,7	4,4	[76]
Метиллинолеат*	1,2	13	[76]
Метиллиноленат*	0,83	32	[76]
Холестерин*	—	3,2	[77]
Фосфатидилхолин*	0,66	610	[78]
Фосфатидилхолин**	0,04	17,0	[78]

* Раствор в хлорбензоле.

** Водная суспензия.

левой и линоленовых кислот, а также холестерина в хлорбензоле и фосфатидилхолина в хлорбензоле и в виде мицелл [76—78]. Как видно из табл. 1, фосфолипид окисляется в гомогенной среде с существенно большей скоростью (в 20 раз), чем метиловые эфиры жирных кислот и холестерин. Переход к окислению в виде мицелл приводит к резкому уменьшению выхода радикалов и снижению в 35 раз отношения констант $k_2/\sqrt{k_6}$. По мнению Ингольда [78], изменения вязкости и полярности среды основное влияние оказывают на скорость реакции продолжения цепи (реакция (2) схема 1).

Большая полярность перекисного радикала увеличивает возможность его миграции к поверхности мицеллы, в результате вероятность рекомбинации увеличивается, а скорость реакции продолжения цепи уменьшается.

Дальнейшее усложнение модели и приближения ее к реальным условиям протекания ПОЛ в клеточных мембранах связано с изучением закономерностей окисления и его ингибирования в системах окисления смесей углеводородов. При окислении двух или нескольких субстратов необходимо учитывать появление так называемых перекрестных реакций обрыва и продолжения цепи. В работе [79] приведены данные о кинетических закономерностях соокисления метиловых эфиров жирных кислот.

В результате соокисления один и тот же субстрат может усиливать окисление медленно окисляющихся субстратов и тормозить быстро окисляющиеся. В работах, выполненных авторами данного обзора, обнаружено, что добавление фосфатидилхолина к быстроокисляющимся липидам микросом приводит к торможению их окисления, а к медленно окисляющимся — к усилению его. Аналогичные данные получены для холестерина и фосфатидилэтаноламина [80, 81].

Следующим этапом усложнения является изучение закономерностей протекания реакций, в ходе которых образуются продукты, которые выполняют роль ингибиторов или инициаторов окисления. К такого рода веществам относятся, в частности, холестерин и фосфатидилхолин [80]. Для этих липидов показано антиоксидантное действие продуктов их окисления [80, 81].

Изучение процессов перекисного окисления в смеси липидов заставляет исследователей принимать во внимание не только изменение скорости инициирования и появление перекрестных реакций продолжения и обрыва цепей, но и изменение заряда, вязкости и гидрофобности смеси. Изменение последних в свою очередь приводит к изменению элементарных констант реакций, а также активности ферментов, инициирующих или тормозящих процесс ПОЛ. Таким образом, в процессе окисления происходят сложные изменения взаимоотношения компонентов как III, так и IV систем регуляций. Для понимания особенностей регуляции перекисного окисления липидов антиоксидантами необходимо более подробное рассмотрение их кинетических характеристик.

IV. ПРИРОДНЫЕ АНТИОКСИДАНТЫ

К природным антиоксидантам или биоантиоксидантам относятся вещества растительного или животного происхождения, тормозящие в модельных реакциях развитие процессов окисления. На модельных реакциях окисления показано, что липиды, выделенные из различных органов интактных животных (печень, селезенка, мозг, кровь) действительно тормозят развитие процессов окисления [5]. Методом хемилюминесценции [5] была определена суммарная антирадикальная активность природных антиоксидантов, содержащихся в липидах печени интактных животных, которая имеет высокое значение $k_t = 2,0 \cdot 10^6$ л/моль·с, вычислена эффективная действующая доля природных антиоксидантов, которая составляет 0,3% от массы липидов.

Биоантиоксиданты клетки состоят из экзогенных, доставляемых с пищей, и эндогенных антиоксидантов, которые поступают в клетку гуморальным путем или синтезируются в ней.

Ряд экспериментальных данных свидетельствует о том, что недостаток в организме тех или других природных антиоксидантов приводит к интенсификации окислительных процессов в липидах и к появлению в них продуктов окисления в количествах, больших чем в норме.

В модельных опытах антиокислительную активность проявляют различные биологические активные вещества: токоферолы, убихиноны, стероидные гормоны и др.

Предполагается, что антиокислительную функцию в организме эти вещества выполняют наряду с другими специфическими для них функциями.

В литературе широко обсуждается вопрос о вкладе различных компонентов липидов в их антиокислительную активность (АО). Однако в этом вопросе не существует единой точки зрения. Одни исследователи связывают антиокислительную активность липидов с присутствием в них какого-то одного индивидуального вещества (например, токоферола или убихинона). Другие считают, что активность липидов определяется совокупностью свойств различных компонентов, изменение в составе которых выражается в изменении свойств липидов в целом [5]. Мы полагаем, что АО липидов зависит от антиокислительных свойств природных антиоксидантов, их количества, от возможного взаимного влияния друг на друга, от взаимодействия с веществами, которые сами не являются АО, но увеличивают или уменьшают активность последних. Для доказательства той или иной точки зрения необходимо изучение кинетических характеристик природных антиоксидантов.

По своей структуре природные антиоксиданты имеют много общего. Наиболее близки по химическому строению три группы веществ: токоферолы, убихиноны и витамины группы К [82—87]. Исходя из близости строения этих соединений и взаимосвязанности их метаболизма, было выдвинуто предположение, что они могут в организме превращаться друг в друга. Однако опыты по введению ацетата α -токоферола меченого по ^{14}C показано, что такое предположение неверно [110, 119].

В каждую из этих групп входят структурно родственные соединения: хиноны, хинолы, хроменолы и хроманолы [87]. Хинолы (гидрохиноны) и циклические хроменолы и хроманолы являются восстановленными формами, хиноны — окисленными. В ходе различных реакций, протекающих в липидах, могут образовываться такие промежуточные формы, как эпокси соединения, феноксильные радикалы, семихинонны анион-радикалы. В организме в липидном бислое мембран эти формы могут переходить одна в другую, причем существуют ферменты, катализирующие этот переход. Каждая группа природных антиоксидантов присутствует в липидах преимущественно в одной наиболее стабильной для данных соединений форме.

Так, например, витамины группы К находятся в крови в виде хинолов. Под действием дегидрогеназы из хинона образуется гидрохинонная форма витамина K₁, которая принимает участие в процессе образования протромбина на этапе карбоксилирования γ -глутаминовой кислоты. При этом гидрохинон с помощью эпоксигеназы превращается в эпоксид витамина K₁, который затем редуктазой переводится в окисленную хинонную форму [88, 89]. Витамин K, выделенный из липидов и переведенный в гидрохинонную форму, крайне нестабилен, легко окисляется на воздухе и теряет свою способность реагировать с перекисными радикалами.

Для убихинонов также наиболее устойчивой является хинонная форма. При транспорте электронов по дыхательной цепи в присутствии восстановителей типа НАД убихиноны легко переходят из хинонной формы в гидрохинонную и обратно с образованием семихинонных радикалов. Гидрохинонная форма довольно нестабильна и окисляется в хинонную кислородом воздуха. Циклические формы убихинонов — уби-хроменолы — наиболее стабильны. Эти формы не участвуют в транспорте электронов по дыхательной цепи. Существует предположение, что эти вещества выполняют в липидах роль антиоксидантов [82, 83, 86].

Таблица 2

Константы скорости взаимодействия перекисных радикалов с различными формами антиоксидантов [6, 94, 98, 103]

Антиоксидант	k_7 , л/моль·с		
	хинон	гидрохинон	циклическая форма
Токоферолы *			
α -Токоферол	$(2,5 \pm 0,2) \cdot 10^3$	$(4,7 \pm 0,5) \cdot 10^6$	$(3,1 \pm 0,3) \cdot 10^6$
β -Токоферол	—	—	$(1,9 \pm 0,2) \cdot 10^6$
γ -Токоферол	—	—	$(1,4 \pm 0,1) \cdot 10^6$
δ -Токоферол	—	—	$(0,85 \pm 0,1) \cdot 10^6$
Хроман-C ₁₁	—	—	$(3,2 \pm 0,3) \cdot 10^6$
Хроман-C ₈	—	—	$(2,9 \pm 0,1) \cdot 10^6$
Хроман-C ₁	—	—	$(3,2 \pm 0,3) \cdot 10^6$
Убихиноны **			
Убихинон Q-0	—	$(3,3 \pm 0,1) \cdot 10^5$	—
Убихинон Q-2	—	$(3,4 \pm 0,1) \cdot 10^5$	—
Убихинон Q-6	$(3,0 \pm 0,3) \cdot 10^2$	$(3,4 \pm 0,2) \cdot 10^5$	$(1,4 \pm 0,1) \cdot 10^5$
Убихинон Q-9	$(2,8 \pm 0,2) \cdot 10^2$	$(3,6 \pm 0,3) \cdot 10^5$	—
Убихинон Q-10	—	$(3,3 \pm 0,1) \cdot 10^5$	—
Витамины K ₁ ***			
Витамин K ₁ (20) ****	$(2,1 \pm 0,2) \cdot 10^2$	$(5,8 \pm 0,4) \cdot 10^6$	—
Витамин K ₁ (15)	$(1,9 \pm 0,2) \cdot 10^2$	—	—
Витамин K ₁ (5)	$(1,3 \pm 0,1) \cdot 10^2$	—	—

* Измерение проведено при 60°; ** при 50°; *** при 37°; **** цифра в скобках указывает число углеродных атомов боковой цепи молекулы витамина K₁.

Токоферолы находятся в липидах в основном в циклической форме 6-оксихроманов, как в виде свободного токоферола, так и в виде его сложных эфиров. В организме эфирные формы с помощью ферментов легко гидролизуются до свободного токоферола [90]. В окислительных реакциях токоферолы, выполняя функцию антиоксидантов, реагируют с перекисными радикалами, образуют феноксильные радикалы, превращающиеся затем в хиноны, димеры, тримеры [91].

Все природные антиоксиданты, относящиеся к рассмотренной группе, имеют алифатические заместители во втором положении, состоящие из нескольких изопентановых звеньев. Для убихинонов число изопентановых звеньев меняется от 0 до 10 (от 0 до 50 углеродных атомов), для витамина K от 0 до 4 (до 20 углеродных атомов), для гомологов токоферола, встречающихся в природе, число звеньев всегда равно 3 и фитильная боковая цепь имеет 16 углеродных атомов.

Боковые цепи природных антиоксидантов различаются степенью насыщенности: у токоферолов нет двойных связей в боковых заместителях, у витаминов K — ненасыщенное первое изопентановое звено, цепь убихинонов содержит по одной двойной связи в каждом изопентановом звене.

Таким образом, наличие длинных боковых заместителей является общим свойством данной группы природных антиоксидантов.

Исследование разных форм этих веществ показало, что они могут непосредственно реагировать с перекисными радикалами углеводородов, т. е. обладают антирадикальной активностью.

В табл. 2 представлены константы реакций природных АО с перекисными радикалами. Как видно из табл. 2, значительной антирадикальной активностью обладают только восстановленные формы природных антиоксидантов, которые имеют константы скорости реакции взаимодействия с перекисными радикалами порядка $10^5 \div 10^6$ л/моль·с, самую высокую константу $k_7 = (5,8 \pm 0,4) \cdot 10^6$ л/моль·с имеет восстановленная форма витамина K₁. Антирадикальная активность фенольных форм токоферолов (гомологов и аналогов) является величиной того же порядка (10^6 л/моль·с). Убихиноны и убихроменолы имеют значения константы $k_7 \cdot 10^5$ л/моль·с, причем у циклической формы, имеющей только одну

гидроксильную группу, k_t , в два раза ниже, чем у гидрохинонной [92—94].

Для хинонных форм токоферолов, убихинонов и витаминов К константы скорости этой реакции на два порядка ниже. Эфиры (ацетат токоферола) практически не реагируют со свободными радикалами [92].

Таким образом, способность ингибиовать реакции ПОЛ присуща только восстановленным формам природных антиоксидантов и связана с наличием в молекуле гидроксильной группы.

Поскольку из всех восстановленных форм природных АО наиболее устойчивыми являются токоферолы, то на их примере более подробно изучена антирадикальная активность веществ разного строения, отличающихся числом заместителей в бензольном кольце хроманового цикла (гомологи) и длиной алифатического заместителя во втором положении (аналоги), насчитывающего от 16 до 1 углеродного атома (хроманы). Установлено, что все изученные токоферолы имеют константу скорости реакции с перекисными радикалами порядка 10^6 л/моль·с, энергия активации этой реакции лежит в интервале $12,5 \div 15$ кДж/моль [92].

Гомологи токоферола, встречающиеся в природе в разных растениях, различаются количеством и положением CH_3 -групп в бензольном кольце хроманового цикла, но всегда имеют одинаковые боковые заместители во втором положении. Установлено [92], что последовательное введение метильных групп в положении 5, 7, 8 молекулы токоферола увеличивает величину константы k_t . Эти данные хорошо согласуются с опытами по фотолизу токоферолов и с величинами их окислительно-восстановительных потенциалов [96, 97].

Сравнение антирадикальной активности синтетических аналогов α -токоферола, не встречающихся в природе, показало [92, 98], что на эту величину длина боковой фитильной цепи не оказывает существенного влияния: укорачивание боковой цепи на каждое изопентановое звено (5 углеродных атомов) уменьшает значение константы k_t на 10—15% (см. табл. 1). Примерно также влияет введение в боковую цепь одной двойной связи.

Аналогичные данные получены в работе Ингольда с соавтором [99] для α -токоферола и хромана С₁, имеющего в положении два метильный радикал. Значения k_t для убихинонов Q-2 и Q-10, отличающихся на восемь изопентановых звеньев, практически не различаются (табл. 2) [94]. Значения k_t для синтетических аналогов витамина К₁ изменяются при укорачивании на две изопентановых звена не больше, чем на 30% (табл. 2). Следовательно, длина и степень ненасыщенности боковой цепи в молекуле природных антиоксидантов не оказывают значительного влияния на скорость их реакций с перекисными радикалами. Принимая это во внимание, из сопоставления констант k_t токоферола и циклической формы убихиона (убихроменола) можно сделать вывод, что замена CH_3 -группы на метоксильную снижает антирадикальную активность более чем в 10 раз [93, 94].

Аналогичная зависимость наблюдается и для гидрохинонных форм витамина К и убихинола QH₂-6, значения констант которых различаются на порядок.

Таким образом, природные антиоксиданты имеют лабильную гидроксильную группу и сравнительно легко реагируют с перекисными радикалами углеводорода. Существенное влияние на антирадикальную активность природных антиоксидантов оказывают заместители, расположенные в *o*-положении к гидроксильной группе. Боковые алифатические заместители слабо влияют на величину антирадикальной активности природных антиоксидантов.

Сравнение суммарной антирадикальной активности природных антиоксидантов, содержащихся в липидах печени интактных животных, и индивидуальных антиоксидантов показало, что они имеют значения сопоставимые с активностью восстановленной формы витамина К₁ и α -токоферола.

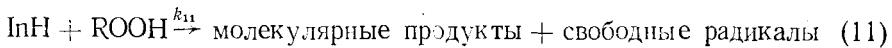
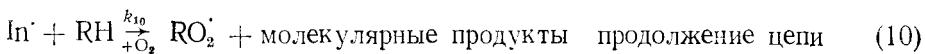
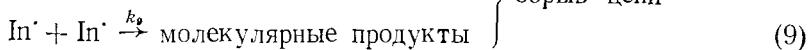
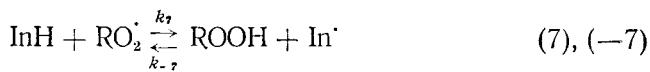
Однако восстановленная форма витамина К₁ нестабильна и в выделенных липидах витамин К₁ может присутствовать только в виде хинона, поэтому активность суммы природных антиоксидантов имеет смысл сравнивать с активностью α -токоферола. Эта величина для липидов оказалась в 1,5 раза ниже активности α -токоферола, что, по нашему мнению, связано с присутствием в липидах антиоксидантов, которые обладают более низкой, чем токоферол, антирадикальной активностью.

Интересно отметить, что природные антиоксиданты имеют константы k_7 на 1-2 порядка выше, чем большинство фенолов, наиболее широко используемых в качестве антиоксидантов [100]. Энергия активации реакции взаимодействия перекисных радикалов этилбензола с токоферолами разного строения ($12 \div 15$ кДж/моль) [92] и для убихинона QH₂-9 ($17,4 \pm 3,3$ кДж/моль [94]) ниже, чем для ионола ($E = 20,5$ кДж/моль) [101, 102]. Исходя из низких значений энергии активации реакции обрыва перекисных радикалов на молекулах природных антиоксидантов и высоких значений констант скоростей этих реакций, можно было ожидать, что эти вещества будут тормозить окисление модельных систем эффективнее, чем синтетические фенолы. Однако в моделях низкотемпературного автоокисления (самых разнообразных, и в простых и в сложных) природные антиоксиданты оказались значительно менее активными в торможении окисления, чем синтетические антиоксиданты, такие как ионол, бутилоксианизол, пропилгаллат, нордигидрогваяритовая кислота, имеющие значения констант $k_7 = 10^4 \div 10^5$ л/моль·с. В опытах по тестированию токоферолов, выполненных различными исследователями, установлено, что эффективность их антиокислительного действия сложным образом зависит от концентрации антиоксидантов, степени ненасыщенности субстрата и температуры окисления.

Проведенный нами анализ кинетических кривых окисления в присутствии токоферолов, полученных в собственных экспериментах и взятых из работ [92, 103—106] других исследователей показал, что во всех случаях зависимость периода индукции окисления от концентрации токоферола имеет необычный вид. В то время как для большинства синтетических ингибиторов зависимость эффективности торможения от концентрации является гиперболической, для токоферолов такая зависимость имеет экстремальный характер, с максимальным эффектом торможения при определенной концентрации [103]. Наиболее четко максимум эффективности действия токоферолов выражен при низких температурах окисления (при 20 и 40°С). Сравнение антиокислительного действия различных гомологов токоферола показало, что такая экстремальная зависимость характерна для всех гомологов, не зависит от субстрата окисления и наиболее ярко выражена для α -токоферола [103]. Для аналогов α -токоферола, имеющих короткие боковые заместители, также было установлено отклонение от линейности и уменьшение тормозящего эффекта с ростом их концентрации [92], т. е. длина боковой цепи не оказывала существенного влияния на эту особенность токоферолов. По всей вероятности, эта особенность антиокислительного действия токоферолов присуща самим молекулам 6-оксихромана и связана с активностью и устойчивостью радикалов, из них образующихся.

В схеме 2 рассмотрены элементарные реакции окисления с участием антиоксидантов и их радикалов. Ослабление антиокислительного действия токоферолов может быть объяснено протеканием в окислительной системе побочных реакций с участием токоферола или его радикалов. Такими реакциями могут быть: реакция взаимодействия радикала ингибитора с молекулой углеводорода (реакция (10)), с молекулой гидроперекиси (реакция (7)), реакция ингибитора с гидроперекисью (реакция (11)) или кислородом (реакция (12)). Скорость этих реакций существенно зависит от строения антиоксиданта и условий окисления. Нас интересовали свойства токоферолов в условиях, близких к физиологическим: невысокая температура окисления (20—40°), малая глубина окисления, высокая степень ненасыщенности субстрата.

Схема 2



НПп — ингибитор

В этих условиях реакцией окисления самого токоферола (реакция (12)) можно пренебречь, так как токоферолы устойчивы и при нагревании до 100° С [107].

В условиях малой глубины окисления, когда концентрация гидроперекисей в субстрате мала, можно пренебречь реакциями (—7) и (11). Остается рассмотреть возможность протекания реакции (10).

Реакция (10) введена в схему ингибионного окисления углеводородов для расчета элементарных констант, определяемых с помощью метода хемилюминесценции [95, 108]. В зависимости от значений констант k_6 , k_8 , k_9 , соотношение которых позволяет оценить граничные условия изменения величины k_{10} , для α -токоферола в модели инициированного окисления этилбензола, эта величина находится в интервале (0,5—1,2) · 10^{−1} л/моль·с, т. е. представляет собой величину, которой нельзя пренебречь при оценке антиокислительной активности [92].

Соотношение скоростей реакций, уменьшающих эффективность действия антиоксидантов, может изменяться в зависимости от концентрации свободных радикалов, так как при увеличении скорости инициирования (W_i) скорость реакций (8) и (9) возрастает квадратично, а реакции (10) — линейно. Таким образом, при увеличении W_i в системе вклад реакции продолжения цепи радикалами антиоксидантов в общую скорость окисления уменьшается, т. е. возрастает эффективность АО. В работе [95] рассмотрена расширенная кинетическая схема окисления углеводородов и получены зависимости, подтверждающие увеличение эффективности антиоксидантов при повышении концентрации свободных радикалов в системе. Этим объясняется тот факт, что наибольшую эффективность природные антиоксиданты проявляют в моделях окисления высоконенасыщенных жирных кислот.

Если в системе окисления будут присутствовать вещества, способные выводить из сферы реакции радикалы природных АО или вещества, регенерирующие окисленные их формы, то в этом случае должен наблюдаться эффект синергизма. Роль синергистов выполняют обычно вещества, имеющие невысокий окислительно-восстановительный потенциал и легко переходящие из окисленной формы в восстановленную (например аскорбиновая и лимонная кислоты) [45, 109].

Для токоферолов синергизм с двухосновными органическими кислотами был установлен еще в 1942 г. [111].

Недавно прямыми опытами показано [112], что аскорбиновая кислота непосредственно реагирует с радикалами токоферола, при этом возрастает концентрация радикалов аскорбиновой кислоты, а концентрация радикалов токоферола падает.

Рассмотрим, какие свойства липидов мембран и природных антиоксидантов обеспечивают высокую эффективность регуляции ПОЛ.

Как указывалось, окислительные процессы, протекающие в мембранах, имеют свои характерные особенности: структурированность липид-

ного бислоя, многокомпонентность состава липидов, высокую степень ненасыщенности жирных кислот, входящих в состав фосфолипидов мембран; присутствие в них веществ, способных усиливать или ослаблять действие природных антиоксидантов.

В недавно опубликованной работе [113] показано, что в структурированных субстратах активность токоферолов возрастает на 1-2 порядка по сравнению с окислением в жидкой фазе. Такое повышение активности, по мнению авторов, связано с тем, что в структурированном субстрате ОН-группы токоферолов обращены в сторону гидрофильной среды. Если оттуда к мембране подходят радикалы типа OH^- , O_2^- , то их обрыв на молекулах токоферола будет тем эффективнее, чем больше гидроксильных групп антиоксидантов находится на внешней поверхности мембраны.

Максимальный эффект торможения окисления природными антиоксидантами в модельных системах может быть получен при окислении высоконенасыщенных субстратов с малым содержанием перекисей и при низких температурах. Именно такие условия присущи окислению липидов в биомембранах, т. е. физиологические условия являются оптимальными для проявления антиокислительного действия природных антиоксидантов. Высокие значения антирадикальной активности природных антиоксидантов лежат в основе резкого изменения скорости ПОЛ, что обеспечивает высокую эффективность регуляции даже при незначительном изменении их концентрации [106].

Поскольку восстановленные фенольные формы природных антиоксидантов имеют значения констант k_t , которые в 100—1000 раз выше значений k_t для хинонов, то переход природных антиоксидантов из одной формы в другую со значительным уменьшением или увеличением антирадикальной активности также можно рассматривать как способ быстрого изменения интенсивности окислительных реакций, протекающих в липидах [106, 114].

Можно ли убихиноны и витамины группы К₁, имеющие неустойчивые восстановленные формы, легко переходящие в неактивные хиноны, рассматривать как природные антиоксиданты? По всей вероятности можно, поскольку в липидах всегда присутствуют различные восстановители и ферменты, способные переводить хиноны в фенольные формы.

Кроме того, следует иметь в виду, что в липидном окружении устойчивость фенольных форм этих соединений будет выше. Будет ли в мембране реализовываться активность радикалов, образующихся из молекул антиоксидантов?

В опытах на животных установлено, что зависимость между АОА липидов и количеством природных антиоксидантов, в них содержащихся, так же как и в модельных системах, имеет экстремальный характер [92]. Это позволяет сделать вывод, что природным антиоксидантам и в системах *in vivo* присущи свойства слабых антиоксидантов, установленные для них в модельных экспериментах. Эту особенность антиокислительного действия природных антиоксидантов также можно рассматривать как регуляторную; при их избытке в липидах снижается их ингибирующая активность. Мы полагаем, что радикалы, образующиеся из природных антиоксидантов, выполняют как бы роль буфера, поддерживающего скорость окисления липидов на определенном уровне [43, 114].

Такого рода явления — резкое изменение эффективности при незначительном увеличении концентрации вещества вплоть до обращения эффекта — впервые были открыты и подробно исследованы в работах академика Н. М. Эмануэля и получили название «критические явления» в ингибируемых реакциях жидкофазного окисления [44].

В модельных реакциях окисления углеводородов найдено, что ионы металлов переменной валентности в малых концентрациях активируют окисление, катализируя разложение гидроперекисей, а в больших — ингибируют. Такая же зависимость для ионов Fe^{2+} установлена в работе по окислению липидов в мембранах [69]. Ретинол в малых дозах активирует окисление липосом, в больших — стабилизирует их [9, 68]. По-

видимому, такая двойственность действия является способом быстрого изменения скорости окисления (регуляция концентрацией).

Изменение состава липидов мембран, приводящее к изменению скорости перекисного окисления за счет изменения скорости инициирования, оказывает существенное влияние на скорость реакции продолжения цепей радикалами, образующимися из природных антиоксидантов (рекакция (10)). Так, в работе [95] установлено, что вклад скорости реакции (10) в антиокислительную активность природных антиоксидантов менее значим в случае больших скоростей инициирования и высокой ненасыщенности субстрата окисления (регуляция субстратом).

Природные антиоксиданты участвуют в регуляции перекисного окисления липидов не как независимые вещества, а как взаимодействующие компоненты единой системы. Доказательством этого положения является возможность изменения концентрации и активности одних природных антиоксидантов путем введения животным других. Так, например, при однократном введении α -токоферилацетата (200 мг/кг) интактным животным в липидах печени наблюдается повышение концентрации суммарных природных АО (в 37 раз), в то время как количество свободного α -токоферола на те же сроки возрастает только в 10 раз [5]. Увеличение количества того или другого природного АО возможно только в том случае, если произведение антирадикальной активности вводимого АО на его концентрацию ($k_t \cdot c$) сопоставимо с таковым для уже имеющихся в клетке [5].

В то же время надо иметь в виду, что в клетке возможно превращение малоактивных форм антиоксидантов в высокоактивные и поэтому при введении, например, хинонов, которые могут восстанавливаться до фенолов, будет также наблюдаться повышение общего количества природных АО [115]. Хотя убихинон и витамин К₁ в виде хинонов не могут конкурировать с токоферолами, в восстановленной форме, в виде гидрохинонов или убихроменола, они могут подменять токоферол в свободно-радикальных реакциях окисления.

В случае введения витамина К₁ установлено не только увеличение количества природных антиоксидантов в липидах, но и повышение активности липидов опытных животных по сравнению с активностью липидов контроля, т. е. в липидах происходит накопление веществ, антирадикальная активность которых выше суммарной активности природных антиоксидантов и даже активности индивидуального α -токоферола. Такой высокой активностью обладает только восстановленная форма витамина К₁ [6].

Приведенные данные подтверждают наше предположение о том, что токоферолы, убихиноны и витамины группы К взаимосвязаны друг с другом в организме опосредовано, через антиоксидантную функцию. Вопрос о том, связана ли система природных АО с другими системами, регулирующими ПОЛ, остается открытым. Прежде всего надо отметить, что провести четкую границу между этими системами трудно. Действительно, фенольные формы природных антиоксидантов являясь типичными АО, в то же время выполняют роль структурных факторов и на этом основании могут быть отнесены к I системе защиты. В то же время хиноны, будучи потенциальными антиоксидантами, могут взаимодействовать с O_2^- (II система), образуя семихионные радикалы [46, 116, 117]. В результате гибнут не только возможные центры инициирования окисления (O_2^-), но и образуются семихионные радикалы, способные обрывать цепи окисления при рекомбинации с перекисными радикалами липидов или при взаимодействии с OH-группой семихиона. Таким образом, в результате одновременно гибнут центры инициирования окисления и возникают активные акцепторы свободных радикалов, что дает возможность рассматривать эту реакцию как способ включения окисленных форм АО в регуляцию интенсивности ПОЛ в ответ на повышение скорости инициирования окисления.

Во всех рассмотренных случаях в основе взаимосвязи различных систем регуляции ПОЛ лежат физико-химические закономерности.

Однако нельзя забывать и о биохимических механизмах таких взаимодействий. Так, в работах [24, 26, 35] показано, что существует система поддержания стационарности перекисного окисления липидов, основанная на взаимосвязи скоростей, перекисного окисления липидов и изменения их состава. В ответ на интенсификацию ПОЛ состав липидов изменяется таким образом, что они становятся более устойчивыми к окислению [24]. Наличие такой связи делает рассмотрение закономерности регуляции ПОЛ более сложным, однако позволяет клетке быстро перестраивать скорость перекисного окисления и связанный с ним метаболизм на новый уровень в ответ на действие эндогенных и экзогенных факторов. Следствием этого является изменение структуры и в конечном счете изменение функциональной активности мембран.

Стационарность процесса окисления липидов является основой поддержания определенного состава, структуры и функции мембран, как высокоспецифичных, сложных и многокомпонентных систем. Липиды мембраны выполняют двоякую функцию: с одной стороны, поддерживают строго определенную структурную организацию мембран, ответственную за эффективное выполнение их биологических функций, с другой — обеспечивают лабильность их состава и быструю реакцию клетки на изменения в организме.

ЛИТЕРАТУРА

1. Эмануэль И. М. В кн.: Химическая кинетика и цепные реакции. М.: Наука, 1966, с. 34.
2. Эмануэль И. М., Кавецкий Р. Е., Тарусов Б. Н., Сидорик Е. П. Биофизика рака. Киев: Наукова думка, 1975.
3. Horgan J. V., Philpot L., Porter W., Roodyn D. Biochem. J., 1957, v. 67, p. 551.
4. Plas G. L., Witaehi H. Anns. Rev. Pharmacol., 1976, v. 16, p. 125.
5. Бурлакова Е. Б., Алексенко А. В., Молочкина Е. М., Пальмина Н. П., Храпова Н. Г. Биоантоксиданты в лучевом поражении и злокачественном росте. М.: Наука, 1975, с. 214.
6. Бурлакова Е. Б. Успехи химии, 1975, т. 44, с. 1874.
7. Владимиров Ю. А., Арраков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранных. М.: Наука, 1972, 252 с.
8. Каган В. Е., Котелевцев Е. В., Козлов Ю. П. Докл. АН СССР, 1974, т. 217, с. 213.
9. Карножицкий В. В. Успехи химии, 1972, т. 42, с. 1392.
10. Bidlak W. R., Tappel A. L. Lipid, 1973, v. 8, p. 177.
11. Depierre J. W., Dallner G. Biochim. Biophys. Acta, 1975, v. 115, p. 411.
12. Hochstein P., Erhster L. Biochem. Biophys. Res. Commun., 1963, v. 12, p. 388.
13. Губский Ю. И. Биохимия животных и человека, 1978, т. 2, с. 72.
14. Фридович И. В сб.: Свободные радикалы в биологии, 1979, т. 1, с. 272.
15. Chance B., Sies H., Boveris A. Physiol. Rev., 1979, v. 59, p. 527.
16. Flohé L., Günzel W. A., Schnock H. H. FEBS Letters, 1973, v. 32, p. 132.
17. Fridovich I. Horizous Biochem. Biophys., 1974, v. 1, p. 1.
18. Fridovich I. Ann. Rev. Biochem., 1975, v. 44, p. 147.
19. Schauenstein E., Esterbauer H., Lollner H. In: Aldehydes in Biological Systems, 1977, p. 32.
20. Ажчинин И. С. В сб.: Простагландины. М.: Медицина, 1978, с. 6.
21. Mencada S., Yane J. R. Pharmacol. Rev., 1979, v. 30, p. 293.
22. Johnson R. A., Morton D. R., Kiner J. H. Prostaglandins, 1976, v. 12, p. 915.
23. Samuelson B., Goldyne M., Granstrom E., Hamborg M., Hammarstrom S., Malmsten L. Ann. Rev. Biochem., 1978, v. 47, p. 995.
24. Аристархова С. А., Архипова Г. В., Бурлакова Е. Б., Гвахария В. О., Глущенко Н. Н., Храпова Н. Г. Докл. АН СССР, 1976, т. 228, с. 215.
25. Бурлакова Е. Б., Джалаева М. Н., Молочкина Е. М. Там же, 1976, т. 227, с. 991.
26. Burlakova E. B., Arkhipova G. B., Djalgabova M. I., Molotchkina E. M., Khokhlov A. P. In: Biophysical and Biochemical Information Transfer in Recognition, New York — London: Plenum Press, 1979, p. 583.
27. Голощапов А. Н., Бурлакова Е. Б. Биофизика, 1975, т. 20, с. 816.
28. Пальмина Н. П. Укр. биохим. журн., 1984, т. 56, с. 275.
29. Барсуков Л. И., Куликов В. И., Музя Г. И., Бергельсон Л. Д. Биохимия, 1980, т. 47, с. 1437.
30. Helcamp G. M. (Jr.). Biochem. Biophys. Acta, 1980, v. 595, p. 223.
31. Kasper A., Helmcamp G. M. (Jr.) Biochemisiry, 1981, v. 20, p. 146.
32. Каган В. Е., Азизова О. А., Архипенко Ю. В., Клан Н. К., Козлов Ю. П., Владимиров Ю. А. Биофизика, 1977, т. 22, с. 625.
33. Каган В. Е., Шведова А. А., Новиков К. Н. Там же, 1978, т. 23, с. 279.
34. Бурлакова Е. Б., Алексенко А. В., Аристархова С. А., Архипова Г. В., Кайране Ч. Б., Мальцева Е. М., Молочкина Е. М., Пальмина Н. П., Хохлов А. П., Шелудченко Н. И. В сб.: Липиды биологических мембран. Ташкент: Изд-во ФАН УзССР, 1982, с. 16.

35. Burlakova E. B., Molochkina E. M., Palmina N. P. *Advanc. Enzyme Regul.*, 1980, v. 18, p. 163.
36. Бурлакова Е. Б., Архипова Г. В., Пальмина Н. П., Молочкина Е. М. В кн.: Надежность клеток и тканей. Киев: Наукова думка, 1980, с. 34.
37. Сорочинский Б. В., Гродзинский Д. Я. Радиобиология, 1983, т. 23, с. 802.
38. Бурлакова Е. Б., Джаялабова М. М., Гвахария В. О., Глущенко Н. Н., Молочкина Е. М., Штолько В. Н. В кн.: Биоантокислители в регуляции метаболизма в норме и патологии. М.: Наука, 1982, с. 113.
39. Горкин В. З. Молекулярная биология, 1976, т. 10, с. 717.
40. Туровицкий В. Б., Ситковский М. Б., Афанасьев Н. М., Данилов В. С., Козлов Ю. П. Изв. АН СССР. Сер. биол., 1974, № 4, с. 599.
41. Горкин В. З. В кн.: Биомембранные структуры. Функции. Медицинские аспекты, Рига: Зинатне, 1981, с. 63.
42. Horberg J., Moldeus P., Arborgh B., O'Brier P. J., Orrenius S. *Europ. J. Biochem.*, 1975, v. 59, p. 457.
43. Храпова Н. Г. В сб.: Биохимия липидов и их роль в обмене веществ. М.: Наука, 1981, с. 147.
44. Эмануэль Н. М., Денисов Е. Т., Майзус З. К. Цепные реакции окисления углеводородов в жидкой фазе. М.: Наука, 1965, с. 375.
45. Денисов Е. Т., Эмануэль Н. М. Кинетика и катализ. 1973, т. 14, с. 823.
46. Эмануэль Н. М. Изв. АН СССР. Сер. хим., 1974, № 5, с. 1056.
47. Эмануэль Н. М., Денисов Е. Т. Нефтехимия, 1976, т. 16, с. 366.
48. Эмануэль Н. М. Успехи химии, 1978, т. 47, с. 1329.
49. Эмануэль Н. М., Гал Д. Окисление этилбензола (модельные реакции). М.: Наука, 1984.
50. Эмануэль Н. М., Рогинский В. А., Бучаченко А. Л. Успехи химии, 1982, т. 51, с. 361.
51. Афанасьев И. Б. Там же, 1979, т. 48, с. 977.
52. Прайор У. В. В кн.: Свободные радикалы в биологии, т. 1. М.: Мир, 1979, с. 272.
53. Nishikimi M., Machlin L. J. *Arch. Biochem. Biophys.* 1975, v. 170, p. 684.
54. Chistopherson B. O. *Biochem. Biophys. Acta*, 1969, v. 176, p. 463.
55. Flohé L., Günzler W. A., Schnock H. H. *FEBS Letters*, 1973, v. 32, p. 132.
56. Levander O. A., Morris V. S., Higgs D. J. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1974, v. 58, p. 1047.
57. Sanger B. A., O'Neal F. O., Aust S. D. *Photochem. Photobiol.*, 1978, v. 28, p. 803.
58. Tocopherol, Oxygen, Biomembranes. Proc. Int. Symp. Amsterdam — New York: Biomed. Press, 1978, p. 1.
59. Pistsov M. Yu., Potapenko A. Ya. *Arch. Dermatol. Res.*, 1979, v. 266, p. 91.
60. Kiefer H., Traylor I. G. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1967, v. 89, p. 6667.
61. Kiefer H., Traylor I. G. *Tetrahedron Letters*, 1966, p. 6163.
62. Maggio B., Diplock A. T., Lucy J. A. *Biochem. J.*, 1977, v. 161, p. 111.
63. Lucy J. A. Ann. N.—Y. Acad. Sci. USA, 1972, v. 203, p. 3.
64. Lucy J. A. *FEBS Letters*, 1974, v. 40, p. 8105.
65. Деев А. И., Еремина Т. В., Спиричев В. Б. Вопросы мед. хим., 1978, т. 24, с. 795.
66. Krinsky N. J. *Pure and Appl. Chem.*, 1979, v. 51, p. 649.
67. Kartha V. N. R., Krishnamurthy S. *Int. J. Vit. and Nutr. Res.* 1977, v. 47, p. 394.
68. Халмурадов А. Т., Тоцкий В. Н., Чаговец Р. В. Транспорт жирорастворимых витаминов. Киев: Наукова думка, 1980. 213 с.
69. Владимиров Ю. А., Оленев В. И., Суслова Т. Б. В кн.: Биофизика молекулярной патологии мембранных структур. М., 1975, с. 56.
70. Мерзляк М. Н., Соболев А. С. В кн.: Биофизика, т. 5. Итоги науки и техники. М.: ВИНИТИ, 1975, с. 118.
71. Бурлакова Е. Б., Эмануэль Н. М. Докл. АН СССР, 1960, т. 135, с. 599.
72. Chance B., Boveris A., Nakase Y., Sies H. In: *Functions glutation in Liver and Kidney*. Berlin, 1978, S. 95.
73. Bartoli G. M., Galeotti T. Biological and Chemical Aspects of Superoxide and Superoxide Dismutase, 1980, p. 107.
74. McCay P. B., Fong Kuo-Lan, Lai E. K., King M. In: *Tocopherol, Oxygen and Biomembranes*. Amsterdam — New York: Biomed. Press, 1978, p. 41.
75. McCay P. B., Gibson D. D., Fong Kuo-Lan, Hornbrook K. R. *Biochem. Biophys. Acta*, 1976, v. 431, p. 459.
76. Скибидя И. П., Янишиева Н. Р., Майзус З. К. Изв. Бълг. Акад. наук. Отд. хим., 1971, т. 4, с. 1.
77. Варданян Р. Л., Дингунян Т. Э., Ханукаев Б. Б., Варданян А. С. Кинетика и катализ, 1978, т. 19, с. 72.
78. Burton G. W., Page Y. L., Gabe E. J., Ingold K. U. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1982, v. 102, p. 7792.
79. Skibida I. P., Yanishlieva N., Rafikova Y. S. *Rev. France Corps. Gas.*, 1970, v. 17, p. 1105.
80. Алешина Н. Г., Бурлакова Е. Б., Терехова С. Ф. Вопросы мед. химии, 1976, № 3, с. 329.
81. Бурлакова Е. Б. Кардиология, 1980, т. 8, с. 48.
82. Folkers K. *Amer. J. Clin. Natr.* 1974, v. 27, p. 1026.
83. Smith J. L., Scholler J., Moore H. W. *Arch. Biochem. Biophys.* 1966, v. 116, p. 129.
84. Tappel A. L. Ann. N.—Y. Acad. Sci. USA, 1972, v. 203, p. 12.
85. Tappel A. L. *Fed. Proc.*, 1973, v. 32, p. 1870.

86. Littarru G. P., Jones D., Scholles J., Folkers K. Int. J. Vit. and Nutr. Res., 1972, v. 42, p. 127.
87. Folkers K. In: Metabolism of Lipids as Related to Atherosclerosis, Springfield, 1965, p. 262.
88. Sadovski J. A., Schnoes M. K., Suttie I. W. Biochem. 1977, v. 16, p. 3856.
89. Winterbourn C. C., French I. K., Claridye R. F. C. FEBS Letters, 1978, v. 94.
90. Gall-Torres H. E., Miller O. N. Internat. J. Vitamins and Nutr. Res. 1971, v. 41, p. 339.
91. Березовский В. М. Химия витаминов. М.: Пищевая промышленность, 1973, 632 с.
92. Бурлакова Е. Б., Кухтина Е. Н., Храпова Н. Г., Сарычева И. К., Евстигнеева Р. Н. Докл. АН СССР, 1983, т. 272, с. 729.
93. Наумов В. В., Храпова Н. Г. Биофизика, 1983, т. 28, с. 730.
94. Наумов В. В., Храпова Н. Г. Там же, 1985, т. 30, с. 5.
95. Наумов В. В., Храпова Н. Г. Кинетика и катализ, 1984, т. 25, с. 563.
96. Boguth W., Nieman H. Biochim. Biophys. Acta, 1971, v. 248, p. 121.
97. Lehmann J., Slover H. T. Lipids, 1976, v. 11, p. 853.
98. Бурлакова Е. Б., Кухтина Е. Н., Ольховская И. П., Храпова Н. Г., Сарычева И. К., Синкина Е. Б. Биофизика, 1979, т. 24, с. 965.
99. Burton G. W., Le Page Y., Gabe E. J., Ingold K. N. J. Amer. Chem. Soc., 1980, v. 102, p. 7791.
100. Денисов Е. Т. Константы скорости гомолитических жидкокфазных реакций. М.: Наука, 1971. 710 с.
101. Цепалов В. Ф., Харитонова А. А., Гладышев Г. П. Докл. АН СССР, 1975, т. 225, с. 152.
102. Цепалов В. Ф., Харитонова А. А., Гладышев Г. П., Эмануэль Н. М. Кинетика и катализ, 1977, т. 18, с. 1261.
103. Храпова Н. Г., Бурлакова Е. Б., Кухтина Е. Н., Синкина Е. Б. Нефтехимия, 1978, т. 18, с. 724.
104. Храпова Н. Г. В сб.: Липиды: структура, биосинтез и превращение в организме животных и человека. М.: Наука, 1977, с. 157.
105. Yanishlieva-Maslarova N., Popov A., Ivanov St. A. Fette, Seifen Anstrichmittel, 1977, B. 79, S. 357.
106. Храпова Н. Г. Биофизика, 1977, т. 22, с. 436.
107. Knapp F. W., Tappel A. L. J. Amer. Oil. Chem. Soc., 1961, v. 38, p. 151.
108. Бурлакова Е. Б., Храпова Н. Г. В кн.: Теория и практика жидкокфазного окисления. М.: Наука, 1974, с. 244.
109. Эмануэль Н. М., Лясковская Ю. Н. Торможение процессов окисления жиров. М.: Пищепромиздат, 1961, с. 360.
110. Martius C., Fuerer E. Biochem. Z., 1963, B. 336, S. 474.
111. Columbik C. Oil and Soap. 1942, v. 19, p. 181.
112. Packer J. E., Slater T. F., Wilson R. L. Nature, 1979, v. 278, № 5706, p. 737.
113. Simic M. G. In: Oxygen and Oxy-radical in Chemistry and Biology/Ed. by Rodgers M. A. J., Powers E. L. New-York: Acad. Press, 1981, p. 109.
114. Храпова Н. Г. В кн.: Биоантиоксиданты в регуляции метаболизма в норме и патологии. М.: Наука, 1982, с. 59.
115. Заславский Ю. А., Храпова Н. Г., Терехова С. Ф., Акоев И. Г., Бурлакова Е. Б. Биофизика, 1977, т. 22, с. 359.
116. Wilson R. L. Trans. Faraday Soc. 1971, v. 67, p. 3020.
117. Pouprko R., Rosenthal O. J. Phys. Chem., 1973, v. 77, p. 1722.
118. Бурлакова Е. Б., Пальмина Н. П. Вестник АМН СССР, 1982, № 3, с. 74.
119. Thompson J. H., Pitt G. A., Morton R. A. Biochim. Biophys. Acta, 1960, v. 45, p. 396.

Институт химической физики
АН СССР, Москва