

С.В. Гудков

ЧАСТНЫЕ ВОПРОСЫ РАДИАЦИОННОЙ БИОФИЗИКИ

С.В. Гудков | ЧАСТНЫЕ ВОПРОСЫ РАДИАЦИОННОЙ БИОФИЗИКИ

Учебное пособие содержит сведения о молекулярных механизмах биологического действия излучений на живые системы. В учебном пособии рассмотрены фундаментальные и прикладные аспекты действия излучений, а именно физиологические и патофизиологические основы свободнорадикальных патологий; классификация и перспективы применения радиозащитных веществ; обзор возможностей направленной радионуклидной терапии опухолей человека; сравнение химической и радиационной токсичности радиоактивных изотопов на примере урана; возможность применения видимого света для воздействия на свойства биологических объектов.

ISBN 978-5-91326-750-4



9 785913 267504

Учебное пособие

Рекомендовано методической комиссией
Института биологии и биомедицины для студентов ННГУ,
обучающихся по направлению подготовки 06.03.01 «Биология»
и специальности 30.05.02 «Медицинская биофизика»

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего образования
«Национальный исследовательский
Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»

С.В. Гудков

ЧАСТНЫЕ ВОПРОСЫ РАДИАЦИОННОЙ БИОФИЗИКИ

Учебное пособие

Рекомендовано методической комиссией
Института биологии и биомедицины для студентов ННГУ,
обучающихся по направлению подготовки 06.03.01 «Биология»
и специальности 30.05.02 «Медицинская биофизика»

Нижний Новгород
2022

УДК 577.34(075.8)
ББК 28.707я73+28.57я73
Г93

Рецензенты:

К.Н. Белослудцев – д.б.н., доц., профессор кафедры биохимии,
клеточной биологии и микробиологии
ФГБОУ ВО «Марийский государственный университет»,
С.С. Антипов – д.б.н., доцент кафедры биофизики и биотехнологии
ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет»

Гудков С.В.
Г93 **ЧАСТНЫЕ ВОПРОСЫ РАДИАЦИОННОЙ БИОФИЗИКИ:** Учебное пособие / С.В. Гудков. – Нижний Новгород: Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, 2022. – 235 с.

ISBN 978-5-91326-750-4

Учебное пособие содержит сведения о молекулярных механизмах биологического действия излучений на живые системы. В учебном пособии рассмотрены фундаментальные и прикладные аспекты действия излучений, а именно физиологические и патофизиологические основы свободно-радикальных патологий; классификация и перспективы применения радио-защитных веществ; обзор возможностей направленной радионуклидной терапии опухолей человека; сравнение химической и радиационной токсичности радиоактивных изотопов на примере урана; возможность применения видимого света для воздействия на свойства биологических объектов.

Учебное пособие предназначено для студентов ННГУ, обучающихся по направлению подготовки 06.03.01 «Биология» и специальности 30.05.02 «Медицинская биофизика».

Ответственный за выпуск:

председатель методической комиссии Института биологии и биомедицины
ННГУ, к.б.н., доц. **Е.Л. Воденеева**

УДК 577.34(075.8)
ББК 28.707я73+28.57я73

ISBN 978-5-91326-750-4

© Нижегородский государственный
университет им. Н.И. Лобачевского, 2022
© Гудков С.В., 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	6
1. АФК, СВОБОДНЫЕ РАДИКАЛЫ И ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС	10
1.1. Источники АФК.....	10
1.2. Классификация АФК.....	11
1.3. Повреждения биологических молекул, вызванные действием АФК	16
2. АНТИОКСИДАНТЫ	21
2.1. Эволюция антиоксидантной системы.....	21
2.2. Эволюция тиолсодержащих оксидоредуктаз	24
2.3. Тиоредоксин-подобные оксидоредуктазы	26
3. СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПАТОЛОГИИ	40
3.1. Лучевая болезнь.....	44
3.2. Свободнорадикальные патологии сердечно-сосудистой системы.....	49
3.3. Применение экзогенных ферментов-антиоксидантов при свободнорадикальных патологиях.....	59
4. РАДИОЗАЩИТНЫЕ ВЕЩЕСТВА: ИСТОРИЯ, ТЕНДЕНЦИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ	65
4.1. Сульфгидрильные соединения	68
4.2. Низкомолекулярные и высокомолекулярные антиоксиданты	71
4.3. Соединения и экстракты растительного происхождения	74
4.4. Ингибиторы ангиотензин-1-превращающего фермента.....	75
4.5. Агонисты Toll-подобных рецепторов.....	76
4.6. Иммуномодуляторы и цитокины	76
4.7. Простагландины	78
4.8. Соли металлов и металлотионеин	79
4.9. ДНК связывающие агенты	80
4.10. Соединения, вызывающие гипоксию и сосудистоактивные вещества	80
4.11. Селен.....	81

4.12. РНК, гидролизаты РНК, нуклеозиды	82
4.13. Фуллерены	83
4.14. Адсорбенты	84
4.15. Перспективы	85
5. РОЛЬ ПЕРОКСИРЕДОКСИНА 6 В РАЗВИТИИ И НЕЙТРАЛИЗАЦИИ РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННОГО ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА	88
5.1. Регуляция экспрессии Prx6	88
5.2. Роль эндогенных Prx в радиорезистентности клеток млекопитающих	89
5.3. Применение экзогенного Prx6 в качестве радиопротектора.....	91
5.4. Молекулярные механизмы радиозащитного действия эндогенного и экзогенного Prx6.....	99
5.5. Перспективы применения Prx6	105
6. НАПРАВЛЕННАЯ РАДИОНУКЛИДНАЯ ТЕРАПИЯ ОПУХОЛЕЙ ЧЕЛОВЕКА	108
6.1. Особенности направленной радионуклидной терапии	110
6.2. Выбор радиоизотопа	110
6.3. Выбор молекулы-переносчика	114
6.4. Выбор антигена-мишени опухолевой клетки	116
6.5. Направленная радионуклидная терапия гематологических злокачественных новообразований	117
6.6. Направленная радионуклидная терапия солидных злокачественных новообразований	117
6.7. Имеющиеся коммерческие фармпрепараты для направленной радионуклидной терапии	120
6.8. Перспективы применения направленной радионуклидной терапии	122
7. ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ПРОЦЕССЫ У РАСТЕНИЙ.....	125
7.1. Влияние ионизирующего излучения на рост и развитие растений	126
7.2. Влияние ионизирующего излучения на процессы биосинтеза	130
7.3. Влияние ионизирующего излучения на фотосинтез	133

7.4. Влияние ионизирующего излучения на дыхание	138
7.5. Влияние ионизирующего излучения на транспорт у растений	140
7.6. Влияние ионизирующего излучения на антиоксидантную систему растений	142
7.7. Влияние ионизирующего излучения на гормональную систему растений	146
7.8. Сочетанное действие радиации и неблагоприятных факторов и развитие к ним адаптации	148
7.9. Влияние ионизирующего излучения на генетическую регуляцию физиологических процессов	150
7.10. Перспективы, направления исследований	152
8. ХИМИЧЕСКАЯ И РАДИАЦИОННАЯ ТОКСИЧНОСТЬ СОЕДИНЕНИЙ УРАНА	156
8.1. Обедненный уран и токсичность при его использовании	157
8.2. Токсичность урановых соединений: химическая и радиационная компонента	160
8.3. Образование активных форм кислорода под действием ионов уранила	162
8.4. Эффекты ионов уранила на клеточном и организменном уровнях	164
8.5. Защита организма от токсического воздействия урановых соединений	166
9. ВЛИЯНИЕ ВИДИМОГО СВЕТА НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОБЪЕКТЫ: ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ	167
9.1. Роль света в жизни биологических объектов	167
9.2. Физические механизмы действия света	168
9.3. Влияние света на физиологические реакции человека	169
9.4. Влияние света на микрофлору человека	172
9.5. Использование световых воздействий в диагностике и терапии	173
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	176
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	179

ВВЕДЕНИЕ

Ионизирующее излучение (ИИ) – это потоки фотонов, элементарных частиц или осколков деления атомов, способных ионизировать вещество (Таблица 1). Под ионизацией обычно понимают превращение нейтральных атомов или молекул в ионы. В случае квантов ионизирующего излучения, электрон в молекуле получает энергию для преодоления потенциального барьера «притяжения ядра». Минимальную энергию, необходимую для отрыва электрона от свободного атома в его низшем энергетическом состоянии, называют энергией ионизации [Sankaranarayanan, 2001]. Для нейтральных атомов энергия ионизации изменяется от 3,9 эВ (Cs) до 24,6 эВ (He). Для воды, которая является основным компонентом живых систем, энергия ионизации равна 12,6 эВ [Ward, 1988]. Обычно данную энергию и используют для разделения ионизирующих и неионизирующих излучений.

Разложение воды и других химических соединений при ионизации, вызванной ионизирующим, излучением называют радиоллиз. В результате радиолиза воды образуются активные формы кислорода (АФК) (Рис. 1), нужно отметить, что АФК образуются и при действии других физико-химических факторов, но механизм их образования существенно отличается [Garayev et al., 2014; Ge et al., 2014].

АФК обычно являются сильными окислителями или крайне реакционноспособными свободными радикалами. На 100 электрон-вольт поглощенной энергии ионизирующего излучения в водной среде в среднем образуется: 2,4 ОН-радикала; 2,8 сольватированных электрона; 0,4 атомов водорода; 0,8 молекул H_2O_2 ; 0,4 молекулы H_2 и значительно меньше других соединений [Ward, 1988]. Увеличение внутриклеточной концентрации АФК свыше уровня антиоксидантной защиты вызывает «окислительный стресс» [Kreslavskii et al., 2012; Mittler, 2017; Waszczak et al., 2018], который сопровождается опасными для жизнедеятельности клеток процессами, такими как перекисное окисление липидов [Miret, Munne-Bosch, 2015], окислительная модификация белков [Davies, 2005; Bruskov et al., 2012] и нуклеиновых кислот [Cooke et al., 2003; Chernikov et al., 2017]. Повреждения молекул ДНК зачастую являются одной из основных причин пострадиационной гибели живых систем. Значительная часть (около 70–80%) повреждений ДНК, вызванных радиацией, формируется за счет АФК, образующихся при радиоллизе воды и лишь только 20–30% за счет прямого поглощения высокоэнергетичных квантов ионизирующего излучения молекулами-мишенями (Рис. 1) [Gudkov et al., 2016]. В результате действия ИИ в молекулах ДНК образуются одно- и двунитевые разрывы.

Большая часть таких повреждений репарируема, однако ошибки при репарации могут приводить к хромосомным aberrациям, возникновению и закреплению в популяции различных мутаций. Кроме того, двунитевые разрывы ДНК посредством АТМ-киназы запускают сигнальные каскады, регулирующие физиологические стрессовые ответы клетки, включая системы репарации, контроля клеточного цикла, синтеза белков и др. [Culligan et al., 2006; Esnault et al., 2010].

Для противодействия развитию окислительного стресса в живых системах присутствует большое количество различных антиоксидантов [Blokhina et al., 2003; Sharapov et al., 2017]. Благодаря им, живые системы способны поддерживать стационарный физиологический уровень АФК и, как следствие, свой окислительно-восстановительный гомеостаз. Установлено, что быстрое изменение концентрации АФК относительно стационарного уровня может не только повреждать молекулы клеток, но выполнять в живых системах ещё и сигнально-регуляторную роль [Miller et al., 2009; Shabala et al., 2015]. Современная концепция о передаче сигналов посредством АФК рассматривает три общих механизма действия: 1) через АФК сенсоры 2) за счёт изменения внутриклеточного окислительно-восстановительного потенциала и 3) при образовании окислительных модификаций белков [Kreslavskii et al., 2012; Czarnocka, Karpinski, 2018]. Основными мишенями АФК являются такие белки, как тирозиновые протеинкиназы, тирозиновые протеинфосфатазы, серин/треонин киназы, металлопротеиназы, АФК-чувствительные ионные каналы и другие белки-компоненты сигнальных каскадов. Другой заметной мишенью являются пептидные факторы роста. Считается, что для данных соединений основным механизмом активации с помощью АФК, является окисление и восстановление цистеиновых аминокислотных остатков [Waszczak et al., 2018]. Редокс регуляция у растений активно идёт и на уровне транскриптома, за счёт окислений и восстановления транскрипционных и ядерных факторов, что в существенной степени влияет на уровни экспрессии генов [Dietz, 2014]. Изменение уровня экспрессии генов приводит к многочисленным изменениям, как на молекулярном, так и физиологическом и морфологическом уровнях. Учебное пособие рекомендовано методической комиссией Института биологии и биомедицины для студентов ННГУ, обучающихся по направлению подготовки 06.03.01 «Биология» и специальности 30.05.02 «Медицинская биофизика». Рекомендовано к использованию в рамках дисциплин «Биофизика», «Радиационная биофизика», «Свободнорадикальные процессы в биосистемах» и «Медицинская радиобиология».

Таблица 1

Основные виды ионизирующих излучений (ИИ) и их характеристики

Основные виды ИИ	Кем открыто, (год открытия)	Тип	Энергия, кэВ	ЛПЭ**, кЭВ/мкм	Пробег на воздухе, см	ОБЭ***	Масса, атомные единицы	λ , нм
Альфа распад	Е. Резенфорд (1998)	Частицы	2000–11000	>10	2–10	20	4	–
Бета распад	Е. Резенфорд (1998)	Частицы	20–20000	>0.1	100–2500	1	3×10^{-4}	–
Гамма распад	П.У. Виллард (1900)	ЭМИ	5–6000	>3	>15000	1	–	<0.1
Рентген	В.С. Рентген (1995)	ЭМИ	0.04–12.4	>0.1	>30000	1	–	0.1–30
ЭУФ*	В.Н. Беннет (1934)	ЭМИ	0.012–0.124	>0.1	–	1	–	10–100
Протоны	К.П. Джексон (1970)	Частицы	<1500	>10	>2	1–3	1	–
Ускоренные частицы	Е.О. Лоуренце (1930)	Частицы	<1500	>10	>2	1–10	>1	–

* Экстремальное ультрафиолетовое излучение, полностью ионизирующее излучение по некоторым определениям

** Линейная передача энергии

*** Относительная биологическая эффективность

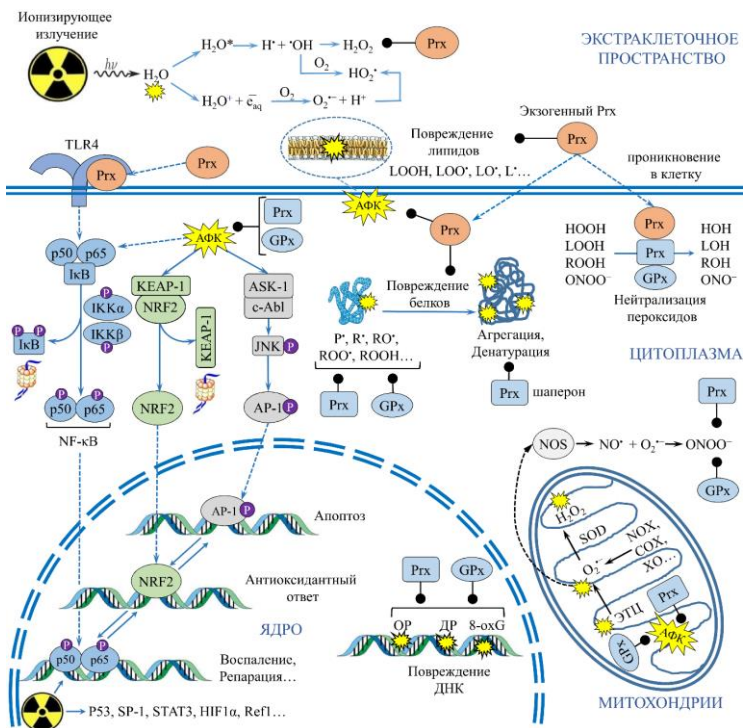


Рис. 1. Механизм действия ионизирующего излучения: прямое (ионизация макромолекул) и не прямое воздействие (генерация АФК). Радиозащитная роль пероксиредоксинов – Prx (эндогенных и экзогенных) и глутатионпероксидаз – GPx, которые представлены во всех компартаментах клетки, осуществляется через подавление свободнорадикальных реакций (отмечено линией с точкой). Стимулирующий эффект отмечен стрелкой. Опосредованный эффект (стимуляция сигнального каскада, пересечение плазматической мембраны) отмечен пунктирной стрелкой. Представлена реакция радиолитиза воды, а также основные продукты радиолитиза органических молекул: липидные радикалы (LOO^{\cdot} , LO^{\cdot} , L^{\cdot}), алкил радикалы (R^{\cdot}), алкоксил радикалы (RO^{\cdot}), пероксил радикалы (ROO^{\cdot}) и радикалы белков (P^{\cdot}). Основные субстраты GPx и Prx: липогидропероксиды (LOOH), алкилгидропероксиды (ROOH), пероксид водорода (H_2O_2), пероксинитрит ($ONOO^{\cdot}$). В условия окислительного стресса 2-Cys Prx (Prx1-4) проявляют шаперонную активность, которая препятствует денатурации и агрегации белков. Повреждения ДНК: OP – одноцепочечные разрывы, DP – двуцепочечные разрывы, 8-oxG – 8 оксо-гуанин. ЭТЦ – электрон-транспортная цепь митохондрий. NADPH-оксидазы (NOX), циклооксигеназы (COX), ксантиноксидазы (XO), NO-синтазы (NOS). Отмечены основные сигнальные пути клетки (TLR4/NF- κ B, KEAP1/NRF2, ASK1/AP-1), которые активируются при действии ионизирующего излучения и на которые влияют Prx и GPx. Также отмечены другие сигнальные пути клетки, вовлеченные в радиозащитный ответ клетки [Sharapov et al., 2021]

1. АФК, СВОБОДНЫЕ РАДИКАЛЫ И ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС

1.1. Источники АФК

Известно, что АФК образуются не только при действии ИИ. Примерно 90% АФК в клетке возникают в митохондриях из-за утечки электронов на молекулярный кислород в дыхательной цепи [Меньщикова и др., 2006; Hernansanz-Agustín et al., 2021]. По расчетам, эта утечка составляет от 1% до 2% от общего потока электронов в электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) митохондрий [McCord, 2000]. Примерно 0,2% потребляемого кислорода переходит в супероксидный радикал $O_2^{\cdot-}$, а 0,4% превращается в H_2O_2 . Примечательно, что в нормальных условиях такая пропорция (1:2) между $O_2^{\cdot-}$ и H_2O_2 постоянна и не зависит от концентрации кислорода в воздушной среде и частоты дыхания. При этом, чем выше метаболическая активность тканей / клеток, тем больше образуется АФК [Brand, 2016]. Например, миокард, в котором митохондрии составляют до 25–30% от массы, в минуту образует ~ 0,1 мМ супероксидного радикала. Превышение нормального потребления кислорода клетками чрезвычайно опасно, т.к. во время гипероксии скорость утечки электронов в митохондриях и образования АФК прямо пропорционально увеличению парциального давления кислорода. Например, здоровые взрослые крысы умирают в течение 72 часов, если их поместить в атмосферу 100% кислорода, что в пять раз превышает его нормальную концентрацию в воздухе [Crapo & Tierney, 1974].

Оставшиеся 10% образующихся АФК в клетке в нормальных условиях приходится на работу индуцируемых ферментов-оксидаз: NADPH-оксидазы (NOX), ксантинооксидазы (ХО), циклооксигеназы (COX), NO-синтазы (NOS) и т.д. [Di Meo et al., 2016]. Следует отметить, что вклад индуцируемых ферментов-оксидаз в образовании эндогенных АФК может значительно возрастать. Например, было показано, что NADPH-оксидазы в нейтрофилах, макрофагах и клетках микроглии до 90% потребляемого кислорода могут конвертировать в $O_2^{\cdot-}$ и H_2O_2 [Di Meo et al., 2016].

1.2. Классификация АФК

По физико-химическим свойствам АФК можно разделить на две больших группы: радикальные и нерадикальные. Радикальные формы АФК содержат один или несколько неспаренных электронов, в результате чего они являются чрезвычайно нестабильными и высокореакционноспособными. Такие радикальные АФК за короткий период времени рекомбинируют друг с другом или реагируют с субстратом. Радикал может отдать свой неспаренный электрон, или напротив забрать электрон у другой молекулы, чтобы образовать пару и стабилизировать электронную оболочку. Атакованная радикалом молекула, в свою очередь сама становится свободным радикалом и запускается свободнорадикальная цепная реакция, что приводит к повреждению различных биомолекул, находящихся в непосредственной близости (Halliwell, 2020). К радикальным АФК обычно относят: супероксиданион-радикал ($O_2^{\cdot-}$), гидроксильный радикал (HO^{\cdot}), гидроперекисный радикал (HO_2^{\cdot}), алкоксильный радикал (RO^{\cdot}), пероксильный (RO_2^{\cdot}) радикал, нитрозил радикал (NO^{\cdot}), нитроксильный (NO_2^{\cdot}) радикал и др. К нерадикальным АФК относится множество перекисных соединений, среди которых пероксид водорода (H_2O_2), органические гидропероксиды ($ROOH$), синглетный кислород (1O_2), озон (O_3), альдегиды ($HCOR$), пероксинитрит ($ONOOH$), гипогалоиды ($HOCl$, $HOBr$, HOI) и др. [Меньщикова и др., 2006]. В Таблице 2 приведены характеристики основных видов АФК/РФА и свободных радикалов, встречающихся в живых организмах.

Следует отметить, что термин АФК вообрал в себя очень широкий спектр соединений как неорганической, так и органической природы, обладающих различными свойствами. Это связано с тем, что АФК (особенно радикальные) способны вступать в реакцию практически с любыми молекулами. Например, АФК могут взаимодействовать с соединениями азота, тем самым способствуя образованию реактивных форм азота (РФА). При этом, разделение на АФК и РФА достаточно условное, т. к. в ходе биохимических процессов радикальные и нерадикальные формы этих групп соединений реагируют друг с другом [Soodaeva et al., 2017]. Чтобы избежать путаницы, в настоящее время ведется «борьба» с неуместным употреблением термина АФК, и большинство журналов соответствующей тематики призывают авторов конкретизировать наименование соединений, связанных с развитием окислительного стресса в их исследованиях. В этом отношении, классификация, основанная на природе молекулы (модифицированной АФК), ее локализации, механизму

Таблица 2

Основные виды АФК в биологических системах

АФК	ХФ*	$t_{1/2}$, сек.	R_0 , мкм	E° , В** при рН 7.0	Реакции образования АФК	Катализ ***
Алкил радикал	R [•]	$>10^{-6}$	#	-	$HO^\bullet + RH \rightarrow H_2O + R^\bullet$ $RO^\bullet + LH \rightarrow ROH + L^\bullet$	-
Липоалкил радикал	L [•]	$>10^{-6}$	#	-	$HO^\bullet + LH \rightarrow H_2O + L^\bullet$ $LO^\bullet + LH \rightarrow LOH + L^\bullet$	-
Тиольный радикал	RS [•]	$>10^{-6}$	#	-	$R^\bullet + R^2-SH \rightarrow R^2-S^\bullet + RH$	-
Радикалы белков	P [•]	$1-10^5$	#	-	$P + \gamma \rightarrow P^\bullet + hv$	-
Радикалы антиоксидантов	In [•]	10^{-3}	#	-	$LOO^\bullet + InH \rightarrow In^\bullet$	-
Синглетный кислород	1O_2	10^{-6}	0.3	-	$2H_2O_2 \rightarrow H_2O + ^1O_2$	Cat
					$2HO_2^\bullet \rightarrow H_2O_2 + ^1O_2$	-
					$H_2O_2 + Cl^- \rightarrow H_2O + OCl^-$	MPO
					$OCl^- + H_2O_2 \rightarrow Cl^- + H_2O + ^1O_2$	MPO
					$O_2^{\bullet-} + H_2O_2 \rightarrow OH^\bullet + HO^\bullet + ^1O_2$	-
Супероксид аннион-радикал	$O_2^{\bullet-}$	10^{-6}	0.3	-	$O_2^{\bullet-} + OH^\bullet + H^\bullet \rightarrow H_2O + ^1O_2$	-
					$O_2 + e \rightarrow O_2^{\bullet-}$	NOX, XO, CytC
					$O_2 + hv \rightarrow 2O_3$	УФ
Озон	O_3	сек.	-	-	285 кДж/моль	-
Гидроксильный радикал	HO [•]	10^{-9}	<0.01	-	$O_2^{\bullet-} + H_2O_2 \rightarrow HO^\bullet + HO^\bullet + ^1O_2$	-
					$H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow HO^\bullet + Fe^{3+} + HO^\bullet$	-
Пергидроксильный радикал	HO ^{••}	$10^{-6}-10^{-3}$	10	-	$ClO + Fe^{2+} + H^\bullet \rightarrow HO^\bullet + Fe^{3+} + Cl^-$	-
					$O_2^{\bullet-} + H_2O \rightarrow HOO^\bullet + HO^\bullet$	-
Пероксид водорода	HOON	Стаб.	1-10	-	$O_2^{\bullet-} + O_3^{\bullet-} + 2H^\bullet \rightarrow H_2O_2 + O_2$	SOD
					$2HO_2^\bullet \rightarrow H_2O_2 + ^1O_2$	-

Продолжение табл. 2

АФК	ХФ*	$t_{1/2}$, сек.	$R_{\text{об}}$, мкм	E° , V^{*} при pH 7.0	Реакции образования АФК	Катализ ***
Алкоксил радикал	RO \cdot	10^{-6}	#	RO \cdot /ROH = 1.60 B	Fe $^{2+}$ + ROOH \rightarrow Fe $^{3+}$ + HO \cdot + RO \cdot	-
Пероксид радикал	ROO \cdot	10^{-5}	#	RO $_2^{\cdot}$ /RO $_2$ H = 1.00 B	R \cdot + O $_2$ \rightarrow ROO \cdot	-
Алкилгидропероксид	ROOH	Стаб.	#	-	ROO \cdot + RH \rightarrow ROOH + R \cdot ROO \cdot + Fe $^{2+}$ + H $^+$ \rightarrow ROOH	-
Липоксид радикал	LO \cdot	10^{-6}	#	-	Fe $^{2+}$ + LOOH \rightarrow Fe $^{3+}$ + HO $^-$ + LO \cdot	-
Липопероксид радикал	LOO \cdot	10^{-3}	#	-	L \cdot + O $_2$ \rightarrow LOO \cdot	-
Липогидропероксид	LOOH	Стаб.	#	-	LOO \cdot + LH \rightarrow LOOH + L \cdot LOO \cdot + Fe $^{2+}$ + H $^+$ \rightarrow LOOH	-
Гипохлорит	HOCl	Стаб. (мин)	-	ClO $^-$ /Cl $^-$ = 1.28 B	H $_2$ O $_2$ + Cl $^-$ + H $^+$ \rightarrow HOCl + H $_2$ O	MPO
Гипобромит	HOBr	Стаб. (мин)	-	BrO $^-$ /Br $^-$ = 1.59 B	H $_2$ O $_2$ + Br $^-$ + H $^+$ \rightarrow HOBr + H $_2$ O	EPX
Нитрозил радикал	NO \cdot	1-10	50-1000	NO/N $_2$ O = 1.59 B	L-Arg + NADPH $_2$ + O $_2$ \rightarrow NO \cdot + L-цитруллин	NOS
Нитроксильный радикал	NO $_2^{\cdot}$	10^{-1} - 1	100	NO $_2^{\cdot}$ /NO $_2$ = 1.04 B	ONOOCO $_2^-$ \rightarrow CO $_3^{\cdot-}$ + NO $_2^{\cdot}$	-
Пероксинитрит	ONOO	10^{-3}	1-4	ONOO $^-$ /NO $_2$ = 1.20 B	O $_2^{\cdot-}$ + NO $^+$ \rightarrow ONOO $^-$	-
	-			ONOO $^-$ /NO $_2$ = 1.40 B	ONOO $^-$ + H $^+$ \rightarrow OH $^+$ + NO $_2^{\cdot}$	-
Пероксинитритовая кислота	ONOO	Стаб.	-	NO $_3^-$ /NO $_2$ = 0.95 B	ONOO $^-$ + H $^+$ \rightarrow ONOOH	-
	H			NO $_3^-$ /HNO $_2$ = 0.93 B	NO \cdot + e $^-$ \rightarrow NO $^-$	-
Нитрозильный катион	NO $^+$	Стаб.	-	-	NO $^+$ + e $^-$ \rightarrow NO $^-$	-
Нитроксильный анион	NO $^-$	Стаб.	-	-	NO $^+$ + e $^-$ \rightarrow NO $^-$	-
Триоксид диазота	N $_2$ O $_3$	сек.	-	N $_2$ O $_3$ /N $_2$ O $_3^-$ = 0.9 B	NO + NO $_2$ \rightarrow N $_2$ O $_3$	-
Тетраоксид диазота	N $_2$ O $_4$	сек.	-	N $_2$ O $_4$ /HNO $_2$ = 1.06 B	2NO $_3$ + 2H $_2$ O + 2e $^-$ \rightarrow \rightarrow N $_2$ O $_4$ + 4HO $^-$	-
				HNO $_2$ /N $_2$ O = 1.29 B HNO $_2$ /NO = 0.98 B HNO $_2$ /H $_2$ N $_2$ O = 0.86 B	N $_2$ O $_4$ + 2H $_3$ O $^+$ + 2e $^-$ \rightarrow \rightarrow 2HNO $_3$ + 2H $_2$ O	-
Азотистая кислота	HNO $_2$	сек.	-	-	-	-

АФК	ХФ*	$t_{1/2}$, сек.	$R_{ф}$, мкм	E° , В** при рН 7.0	Реакции образования АФК	Катализ ***
Нитрил хлорид	C/NO ₂	сек.	–	–	H ₂ O ₂ + Cl ⁻ + H ⁺ → HOCl + H ₂ O NO ₂ ⁻ + HOCl + H ⁺ → ClNO ₂ + H ₂ O	MPO

* Химическая формула

** Значения электродного потенциала (E°) взяты из работ [Schöneich, 2019; Bruskov et al., 2012]. # Радиус диффузии (Rd) зависит от размера молекулы. Средняя скорость диффузии липидов в мембране 2 мкм/с [McCord, 2000]. Исходя из времени существования радикалов и гидропероксидов, радиус диффузии таких молекул составляет от 10⁻⁶ до 10⁻³ мкм.

*** Cat – каталаза, MPO – миелопероксидаза, EPH – пероксидаза эозинофилов, NOX – NADPH-оксидаза, XO – ксантиноксидаза, СуtС – пиритохромоксидаза С, SOD – супероксиддисмутаза, NOS – NO-синтазы, hν – фотоны, γ – фотоны большой энергии (гамма-квант, рентгеновское излучение).

образования и действия представляется более удачной. Супероксиданион-радикал, гидроксильный радикал, пероксид водорода, синглетный кислород и озон, несомненно, могут считаться АФК. Гипохлорит может с равным успехом называться «активной формой хлора» (гипогалоиды). Пероксинитрит, как и исходный радикал – монооксид азота, правильнее отнести к «активным/реактивным формам азота» – РФА. Для продуктов цепного окисления липидов: липидных радикалов (алкильные радикалы L^{\cdot} , алкоксильные LO^{\cdot} и пероксильные LOO^{\cdot}) и липидных гидропероксидов, более применим термин «активных форм липидов» [Владимиров, Проскурнина, 2009]. Для белковых радикалов чаще всего используют термины «долгоживущие радикалы белков» и «долгоживущие активные формы белков» [Bruskov et al., 2012]. Как видно из Таблицы 2, (электродный потенциал E°) наиболее реакционноспособными являются радикальные формы АФК, такие как гидроксильный (HO^{\cdot}) или алкоксильный (RO^{\cdot}) радикалы, которые способны модифицировать любые молекулы. Однако менее реакционноспособные АФК являются наиболее долгоживущими и имеют возможность диффундировать на большее расстояние от источника возникновения, что потенциально может нести большую угрозу для клетки.

Окислительный стресс – нарушение окислительно-восстановительный гомеостаза в биологических системах, в результате которого уровень возникающих АФК превосходит возможности антиоксидантной системы, что приводит к накоплению окисленных и поврежденных биомолекул. Следует отметить, что сейчас окислительный стресс подразделяют на эустресс и дистресс [Sies, Jones, 2020].

Окислительный стресс происходит при кратковременном превышении уровня АФК в физиологическом диапазоне (для H_2O_2 это концентрация ниже 100 нМ), обеспечивающая передачу клеточных сигналов, защиту от патогенов и т.д., при этом окислительные изменения макромолекул обратимы. АФК при окислительном стрессе зачастую эндогенного происхождения и связаны с активацией клеточных оксидаз [Sies, Jones, 2020]. Эндогенные АФК регулируют активность многих белков через взаимодействие с редокс-чувствительными элементами (Redox-Sensitive Elements – RSE), представленными в белках остатками метионина, цистеина, селеноцистеина и протетическими группами, содержащими ионы металлов переменной валентности. К таким важнейшим регуляторным белкам с RSE относятся: протеинкиназы (ERK, JNK, STAT, p38 и др.), фосфотазы (PTEN, SHP-2 и др.), металлопротеиназы (MMP), ростовые факторы (TGF, TNF α , EGF и др.) и транскрипционные факто-

ры (NRF2, NF- κ B, HIF, AP-1 и др.) и т.д. [Kohlgrüber et al., 2017; Hernández-García et al., 2010].

Таким образом, АФК играют двойную роль в жизни аэробных организмов. С одной стороны (окислительный эустресс), АФК используются в защите организма от патогенов («кислородный взрыв», опосредованный NADPH оксидазой клеток иммунной системы), участвуют в нейтритализации ксенобиотиков, передаче сигналов внутри клеток и между клетками. С другой стороны, когда продукция АФК превышает антиоксидантные способности клетки (окислительный дистресс), происходят необратимые повреждения на всех уровнях организации (молекулярном, клеточном, тканевом, органном), провоцирующие развитие многих патологических состояний.

1.3. Повреждения биологических молекул, вызванные действием АФК

Общеизвестно, что АФК являются химически высокоактивными агентами, которые легко вступают в реакцию с самыми разнообразными классами веществ, подвергая их окислительной модификации. АФК вызывают окислительные повреждения важнейших биологических макромолекул (нуклеиновых кислот, белков, липидов), что приводит к нарушению их структуры и функции, и впоследствии к разрушению клеток и тканей. Избыточная продукция АФК, особенно в сочетании с недостаточностью компенсаторных возможностей систем антиоксидантной защиты, приводит к окислительно-восстановительному дисбалансу и развитию/усугублению патологических изменений на всех уровнях организации организма [Halliwell, 2020]. Зачастую, уровень АФК увеличивается прямо пропорционально тяжести патологического состояния. При старении в организме человека, так же наблюдается интенсификация образования АФК. Однако большинство из этих процессов протекают достаточно медленно, поэтому организм успевает адаптироваться, что приводит к невилированию повреждающей роли АФК в долгосрочной перспективе. Из этого следует, что крайне важным в развитии и поддержании любой патологии является скорость изменения про- и антиоксидантного равновесия (обычно или резкое увеличение уровня АФК или уменьшение концентрации антиоксидантов). Однако в лабораторной практике и клинике такой параметр определить тяжело, а порой и невозможно, поэтому степень поврежденности клеток, тканей, организма

при воздействии окислительного стресса определяют по наличию его последствий, а именно по наличию модифицированных биомолекул. За последние десятилетия разработан широкий спектр методов и тест-систем, которые позволяют на количественном уровне определять модифицированные окислительным стрессом биологические макромолекулы [Soodaeva et al., 2017].

Окислительные повреждения ДНК. Окислительные повреждения ДНК являются одним из самых критических последствий окислительного стресса для клетки. Окислительные повреждения ДНК тесно связаны с процессами мутагенеза, канцерогенеза, старения и ряда связанных с ним болезней пожилого возраста. В настоящее время идентифицировано более ста продуктов окислительного повреждения ДНК [Cadet, Davies, 2017]. Основными продуктами являются: пиримидиновые димеры, ДНК-белковые сшивки, одонитевые разрывы ДНК, двунитевые разрывы ДНК, окислительные повреждения дезоксирибозы, формамидопиримидиновые производные пуринов, гидроксильные производные и различные другие окисленные дериваты оснований. Одним из основных окислительных повреждений ДНК безусловно является 8-оксо-7,8-дигидрогуанин (8-оксогуанин) [Chernikov et al., 2017].

8-Оксогуанин образуется в ДНК под действием синглетного кислорода и гидроксильных радикалов. При окислительном стрессе любой этиологии данное повреждение составляет не менее 5% от общего количества окисленных оснований в ДНК. Поэтому, в настоящее время, 8-оксогуанин рассматривается как ключевой биомаркер свободнорадикального повреждения ДНК. Установлено, что 8-оксогуанин обладает неоднозначными кодирующими свойствами, следствием этого является появление в ДНК точечных мутаций, нарушения репликации и транскрипции. В клетках человека 8-оксогуанин распознается и восстанавливается с помощью специфического фермента репарации hOGG1 (оксогуанингликозилаза 1 человека), потеря одного аллеля гена *hOGG1* увеличивает мутагенное действие 8-оксогуанина. Рост уровня 8-оксогуанина в ДНК увеличивает количество трансверсионных мутаций, чаще всего: G-C → T-A. Эта мутация является одной из самых распространенных соматических мутаций при онкологических заболеваниях [Poetsch, 2020].

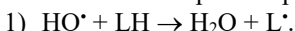
Окислительные повреждения белков. Окислительные повреждения белков приводят к существенным нарушениям в работе большинства

клеточных систем и процессов. Данные повреждения проявляются в изменении функций рецепторов, ферментов, транспортных белков, ответственные за формирование антигенов, способных вызвать аутоиммунную реакцию и т.п. Окисление белков сопровождается рядом структурных изменений, к ним относятся: формирование окислительных повреждений оснований аминокислот, дисульфидных связей, межбелковых сшивков, разрывов полипептидной цепи, денатурации белковых молекул и агрегации белков [Davies, 2016]. Кроме того, окислительные повреждения белков способны инициировать вторичное повреждение других биологических молекул. Классическим примером является повреждение репарационных ферментов, ведущее к их инактивации, что в конечном итоге приводит к изменению кодирующих свойств ДНК.

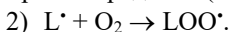
В настоящее время не вызывает сомнений, что свободнорадикальное окисление белков в организме млекопитающих тесно связано с процессами старения и разнообразными физиологическими нарушениями. Считается, что свободнорадикальное окисление белков играет важную роль в развитии атеросклероза, артрита, диабета, катаракты, мышечной дистрофии, сердечно-легочной недостаточности и разнообразных нервно-дегенеративных нарушениях [Kehm, 2021]. Анализ и систематика окислительных повреждений белков является довольно сложной задачей. Окисление белков различными АФК может приводить к образованию аминокислотных радикалов, которые, реагируя с кислородом, образуют пероксильные органические радикалы, которые в свою очередь способны к образованию многочисленных продуктов окисления. Инициатором окисления белков чаще всего выступает гидроксильный радикал: 1) $RH + OH^{\bullet} \rightarrow R^{\bullet} + H_2O$. Образовавшийся алкил – радикал взаимодействует с кислородом образует пероксил – радикал: 2) $R^{\bullet} + O_2 \rightarrow ROO^{\bullet}$. Кроме того, в ходе окисления белков образуются различные карбонильные соединения по следующим механизмам: 3) $R^{\bullet} + OH^{\bullet} \rightarrow ROH$; 4) $ROO^{\bullet} + HO_2^{\bullet} \rightarrow ROOH + O_2$; 5) $ROO^{\bullet} + H^{\bullet} \rightarrow ROOH$. Карбонильные группы белков являются наиболее часто регистрируемыми маркерами окислительных повреждений белков. Карбонильные группы возникают в двух случаях, при прямом окислении аминокислотных остатков АФК и при присоединении к аминокислотным остаткам альдегидов (в том числе и продуктов перекисного окисления липидов) [Ланкин и др, 2017]. При окислительном повреждении аминокислот основными продуктами являются: дитиозин, формилкинуренин, гидроксильированные валин и лейцин, дигидроксифенилаланин, ортотиозин, 2-оксогистидин, глутаминовый полуальдегид и т.п. Дитиозин в орга-

низме не катаболизирует и выводится с мочей, эти два свойства делают его удобным биомаркером повреждения аминокислот при окислительном стрессе.

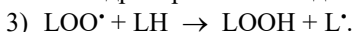
Окислительные повреждения липидов. Неотъемлемым процессом, протекающим во всех живых системах, является перекисное окисление липидов (ПОЛ). Реакция перекисного окисления липидов протекает по цепному механизму, в несколько стадий. Инициирование цепной реакции начинается с внедрения свободного радикала в липидный бислой мембран. Зачастую таким радикалом, как и в случае с белками, является радикал гидроксила. Будучи небольшой по размеру незаряженной частицей, он способен проникать в толщу гидрофобного липидного слоя и вступать в химическое взаимодействие с полиненасыщенными жирными кислотами (LH), входящими в состав биологических мембран и липопротеинов плазмы крови. При этом образуются липидные радикалы:



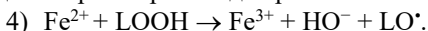
Образовавшийся липидный радикал (L^\bullet) вступает в реакцию с растворенным в среде молекулярным кислородом, при этом образуется липопероксил радикал (LOO^\bullet):



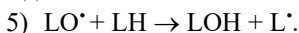
Этот радикал атакует одну из соседних молекул фосфолипида с образованием гидроперекиси липида LOOH и нового радикала L^\bullet :



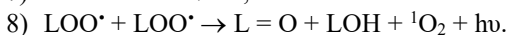
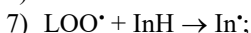
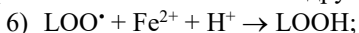
Чередование 2 и 3 реакции представляет собой цепную реакцию перекисного окисления липидов. Существенное ускорение пероксидации липидов наблюдается в присутствии ионов двухвалентного железа, в ходе которого происходит разветвление цепей окисления липидов:



Образующиеся радикалы LO^\bullet иницируют новые цепи окисления липидов:



В биологических мембранах цепи могут состоять из десятка и более звеньев. Но в конце концов цепь обрывается в результате взаимодействия свободных радикалов с антиоксидантами (InH), ионами металлов переменной валентности или друг с другом:



Реакция 8 сопровождается хемиллюминесценцией, интенсивность которой отражает скорость перекисного окисления липидов в различных объектах [Владимиров, Проскурнина, 2009].

Таким образом, перекисное окисление липидов приводит к образованию перекисей ненасыщенных жирных кислот, а в итоге ряда ненасыщенных альдегидов, среди которых наиболее известны: 4-гидроксинонеаль и малоновый диальдегид (МДА), которые являются признанными биомаркерами окислительного стресса. Так же, в качестве биомаркеров окислительного стресса рассматривают изопростаны – специфические продукты окисления ряда ненасыщенных жирных кислот, таких как арахидоновая, эйкозапентеновая и докозагексеновая кислоты. Ненасыщенные альдегиды жирных кислот способны к образованию межмолекулярных ковалентных связей с белками и нуклеиновыми кислотами. В биологических системах нейтрализацию гидропероксидов липидов, предшественников карбонильных соединений, осуществляют два семейства ферментов: глутатионпероксидазы и пероксиредоксины, которые далее будут подробно рассмотрены.

2. АНТИОКСИДАНТЫ

Соединения, способные предотвращать образование АФК или нейтрализующие их, получили название антиоксидантов. В физиологических условиях антиоксиданты нейтрализуют АФК за счет своей способности отдавать или принимать электрон(ы), тем самым устраняя неспаренные/нестабильные состояния активных радикалов. Антиоксидантные молекулы могут напрямую реагировать с радикалами и нейтрализовывать их. Кроме того, в результате взаимодействия антиоксидантов со свободными радикалами могут образовываться другие свободные радикалы, которые зачастую менее активны, обладают меньшим временем жизни и менее опасны, чем исходные [Меньщикова и др., 2006].

Токсическое действие АФК предотвращается в организме за счёт антиоксидантной системы, которая представлена широким спектром низкомолекулярных соединений (например, токоферолы, мелатонин, флавоноиды, глутатион, эрготионеин и др.) и специализированными ферментами-антиоксидантами [Меньщикова и др., 2006]. Несомненно, наиболее эффективный путь элиминации АФК является катализ. Для этой цели в ходе эволюции возникли различные антиоксидантные ферменты, включая супероксиддисмутазы (SOD) для устранения супероксид-анион радикала, а также широкий спектр пероксидаз: каталазы (CAT), глутатион пероксидазы (GPx), глутатион S-трансферазы (GST), глутамил-цистеин синтазы (GCS), глутаредоксины (Grx), тиоредоксины (Trx), пероксиредоксины (Prx) и др. Среди указанных ферментов позже всех были открыты пероксиредоксины (в начале 90-х годов XX века), а также некоторые селенсодержащие глутатионпероксидазы (в 80-х годах 20 века). В данной работе основное внимание уделено именно этим двум семействам антиоксидантных ферментов (Prx и GPx), в связи с необходимостью систематизации накопленных данных.

2.1. Эволюция антиоксидантной системы

В настоящее время у всех исследованных аэробных и анаэробных организмов обнаружены различные антиоксидантные системы защиты. Системы детоксикации АФК стали насущной необходимостью после «великого кислородного события» или «кислородной катастрофы», т.е. появления и накопления в атмосфере Земли свободного кислорода

(~2,4–2,5 млрд лет назад), что привело к глобальной смене восстановительных условий на окислительные. Существует мнение, что при увеличении концентрации кислорода в атмосфере Земли дыхательная цепь бактерий и митохондрии эукариот вначале действовала как средство детоксикации O_2 , т.е. исходно энергетическую и защитную функцию могли выполнять одни и те же биокатализаторы (ферменты или их аналоги). Такими системами «двойного назначения» могли быть компоненты электрон-транспортной цепи, наиболее важными среди которых являются гемопротеиды и железосерные белки. В дальнейшем при специализации этих белков, по-видимому, произошло их разделение на собственно энергопреобразующие и защитные – антиоксидантные (Braakman, 2019). Таким образом, возможно ещё на стадии предбиологической эволюции произошло разделение низкомолекулярных соединений на кофакторы и протекторы (антиоксиданты). Тем не менее, некоторые хиноны (убихинон, пластохинон, менадион и др.) у современных организмов функционируют и как переносчики электронов и в качестве антиоксидантов. Наличие кислорода в воде и атмосфере неизбежно должно было сопровождаться спонтанным образованием его полувосстановленной формы – супероксидного анион-радикала ($O_2^{\cdot-}$). При спонтанной дисмутация радикалов $O_2^{\cdot-}$ (скорость $7 \times 10^5 M^{-1}c^{-1}$) образуется пероксид водорода, причем более эффективно эту реакцию катализирует фермент супероксиддисмутазы – SOD (скорость $2 \times 10^9 M^{-1}c^{-1}$), представленная во всех царствах, а также железосерный белок – рубредоксин (супероксидредуктаза), обнаруженный у архей и бактерий [Calderon et al., 2013]. Примечательно, что у многих прокариот железосерные белки являются регуляторами экспрессии генов антиоксидантных ферментов [Ding, Demple, 2000]. Вероятно, одними из первых ферментов–антиоксидантов, возникших еще на заре «великого кислородного события», является супероксиддисмутазы. Гены, кодирующие SOD, обнаружены во всех известных организмах (от бактерий до человека) и происходят от двух основных предков. Один ген дал начало Cu/Zn содержащим SOD, второй ген – дал начало Mn, Fe и Ni-содержащим ферментам. Супероксиддисмутазы – высококонсервативные ферменты, участки вблизи активных центров обладают высокой гомологией между различными царствами. У млекопитающих обнаружено три изоформы SOD, которые локализуются в митохондриях (Mn-содержащая SOD2), цитоплазме (Cu,Zn-содержащая SOD1) и внеклеточном пространстве (Cu,Zn-содержащая SOD3) [Miller, 2012]. При увеличении уровня O_2 в атмосфере наблюдается адаптивный рост уровня экспрессии SOD как у про-, так и эукариот, что вызывает увеличение

SOD-активности в клетках и позволяет снизить токсическое действие O_2 [Zorov et al., 2014]. Образующийся в процессе катализируемой SOD дисмутации $O_2^{\cdot-}$ радикалов пероксид водорода (H_2O_2) (реакция 1) представляет большую опасность вследствие возможности его разложения в присутствии ионов железа с образованием высокоактивного гидроксил-радикала (HO^{\cdot}) (реакции 2,3), окислительные и повреждающие биологические структуры свойства которого значительно выше, чем у $O_2^{\cdot-}$ радикала (Таблица 2):

- 1) $2 O_2^{\cdot-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$ (в присутствии SOD)
- 2) $H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow HO^{\cdot} + OH^- + Fe^{3+}$ (реакция Фентона)
- 3) $H_2O_2 + O_2^{\cdot-} \rightarrow HO^{\cdot} + OH^- + O_2$ (реакция Хабера-Вайса).

Нейтрализацию H_2O_2 , образовавшейся в ходе дисмутации супероксид-анион радикала, обеспечивают пероксидазы, которые представлены многочисленными семействами ферментов, в активных центрах которых может присутствовать гем, ионы Mn, SH- или SeH- группы. Прежде всего, следует отметить каталазу – гемсодержащий фермент, восстанавливающий H_2O_2 до воды и молекулярного кислорода ($2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$). При этом, максимальную активность каталаза проявляет при очень высоких концентрациях H_2O_2 (сотни миллимоль). Такие высокие концентрации H_2O_2 в живой клетке никогда не встречаются, вероятно, именно поэтому до 80% внутриклеточной каталазы содержится в специализированных органеллах клетки – пероксисомах, в которых наблюдаться локальное повышение концентрации пероксида водорода до миллимолярных значений [Schröder, Eaton, 2008]. В этом отношении, наиболее эффективными являются пероксидазы, содержащие в активном центре цистеин и селеноцистеин, такие как: пероксиредоксины (Prx), Se-содержащие глутатионпероксидазы (GPx) и неселеновые глутатион-S-трансферазы (GST). Важно отметить, что эти ферменты способны восстанавливать не только H_2O_2 , но и различные органические гидропероксиды. Вероятно, процессы окисления HO^{\cdot} радикалом органических субстратов (прежде всего, полиеновых липидов) вызвало в процессе эволюции расширение субстратной специфичности этих пероксидаз. У высших организмов глутатион пероксидазы (GPx) и пероксиредоксины (Prx), по-видимому, в значительной степени вытеснили потребность в каталазе [McCord, 2000]. Например, акаталаземия (болезнь Такахары) не является фатальной, в то время как нокаут генов некоторых глутатионпероксидаз приводит к летальным исходам еще в эмбриогенезе, а нокауты генов пероксиредоксинов приводят к тяжелым окислительным поражениям тканей (см. далее). Эти ферменты эффективно элиминируют избытки

пероксида водорода, а также снижают уровень перекисного окисления липидов, что очень важно для поддержания нормальной структуры и функций биологических мембран.

2.2. Эволюция тиолсодержащих оксидоредуктаз

Среди биологических систем некоторые аминокислоты оказались более чувствительными к молекулярному кислороду или его производным – АФК. Оказалось, что гистидин, метионин, цистеин (Cys), триптофан и тирозин наиболее уязвимы для окислительной модификации. Окисление Cys в белках оказалось особенно важным, поскольку тиольная группа -SH может проходить через несколько стадий окислительных модификаций, которые влияют на структуру и функцию белка. Следует отметить, что остатки Cys в белках проявляют различную восприимчивость к окислению из-за физико-химических свойств тиоловой группы – SH, а также микроокружения (соседние остатки аминокислот) в конкретной третичной структуре. Например, в активных центрах перокси-редоксинов пероксидазный остаток цистеина образует водородные связи с остатками треонина (Thr) и аргинина (Arg), которые способствуют депротонированию Cys-SH. В результате действия этих аминокислотных остатков, константа диссоциации (pK_a) пероксидазного остатка цистеина значительно ниже ~ 7.3 , чем у свободного остатка цистеина ~ 8.5 . Таким образом, при физиологическом значении pH сульфгидрильная группа (-SH) активного Cys может подвергаться депротонированию и принимать широкий спектр обратимых или необратимых окислительных модификаций в ответ на изменения внутриклеточной окислительно-восстановительной среды [Rhee, Kil, 2017].

Первичным продуктом окисления тиольной группы (-SH) является сульфеновая кислота (Cys-SOH), которая обычно нестабильна и реагирует с -SH группой других остатков Cys с образованием внутри- или межмолекулярных дисульфидов. Альтернативно, Cys-SOH реагирует с восстановленным глутатионом (GSH), образуя смешанные глутатион-белковые дисульфиды (так называемое глутатионилирование; Cys-SSG), или окисляется до сульфинового кислоты (Cys-SO₂H). Сульфинового кислоты может быть либо восстановлена обратно до сульфгидрильной формы с помощью сульфиредоксинов и тиоредоксинов, либо подвергаться дальнейшему окислению до сульфоновой кислоты (Cys-SO₃H), что является необратимой стадией, зачастую ведущей к инактивации белка или

изменению его функции (см. ниже). Кроме того, Cys-SH может реагировать с химически активными формами азота (РФА) и ковалентно присоединять группу монооксида азота в реакции, называемой S-нитрозилированием (Cys-SNO). Среди окисленных форм Cys особый интерес представляют внутримолекулярные дисульфиды, поскольку они стабильны, при этом обратимы и в значительной степени устойчивы к дальнейшему окислению. Образование и разрыв дисульфидных связей эволюционно использовались для изменения функции белка, позволяя адаптировать активность белка к изменяющейся окислительно-восстановительной среде. Эти процессы находятся в основе регуляции многих метаболических процессов клетки, в соответствии с условиями окружающей среды и потребностями клетки [Olson, 2020].

Восстановление дисульфидных связей белков до уровня сульфидрила (-SH) осуществляется главным образом за счет тиоредоксиновой системы, которая состоит из субстрата восстановителя глутатиона (GSH), FAD-зависимого фермента глутатионредуктазы (GR), тиоредоксинредуктазы (TrxR) и тиоредоксина (Trx). Благодаря тиольным группам вся тиоредоксиновая система основана на общей биохимии серы. Следует отметить, что в живых организмах помимо трипептида глутатиона (GSH), обнаружены другие тиольные восстановители: коэнзимы (А, В, М), глутатионамид, глутатионспермидин, гамма-глутамил цистеин, миколтиол, бациллоттиол, эрготионеин, овоптиол, трипанотиол. Однако наиболее распространенным восстановителем, встречающимся во всех царствах, является именно GSH. Глутатион – это универсальная молекула-адаптер, а система глутатион/тиоредоксин (GSH / Trx) в большинстве аэробных организмов служит центральной метаболической сетью для удаления или модификации эндогенных электрофильных соединений (АФК, РФА, карбонилы), а также многочисленных ксенобиотиков. GSH представлен в высокой концентрации в цитозоле (1–11 мМ), ядре (3–15 мМ) и митохондриях клетки (5–11 мМ). Вероятно, система GSH/Trx возникла у аэробных организмов на самых ранних этапах эволюции, что отчасти объясняет ее вовлеченность практически во все клеточные процессы [Lu, Holmgren, 2014].

Таким образом, вышеуказанные тиолсодержащие оксидоредуктазы, посредством дитиол-дисульфидного обмена, участвуют в структурной и функциональной модификации различных окисленных белков, в том числе регуляторных. Именно благодаря изменению степени окисления остатков Cys регуляторных белков, клетки нашли способ модулировать различные сигнальные пути. При этом важнейшую роль в регуляции

таких процессов клетки играют тиоредоксин-подобные оксидоредуктазы. Система тиоредоксинов (Trx) эволюционировала как ключевой окислительно-восстановительный компонент в живых организмах, участвуя в реакциях дитиол-дисульфидного обмена с множеством белков, таким образом контролируя основные сигнальный и каталитические пути клетки, при различных физиологических условиях. Филогенетические исследования тиоредоксин-подобных белков показали, что система белков Trx имеет древнее происхождение и начиная с появления жизни на земле играет ключевую роль донора электронов, управляя антиоксидантными системами и регулируя функцию белков в ответ на изменение окислительно-восстановительной среды [Balsera, Buchanan, 2019].

2.3. Тиоредоксин-подобные оксидоредуктазы

Тиоловые оксидоредуктазы представляют очень обширный класс ферментов, которые невозможно обсудить в рамках одной главы. В данном случае сконцентрируем внимание на двух семействах тиоредоксин-подобных оксидоредуктаз: пероксиредоксинах и глутатионпероксидазах. На основе последних исследований, в том числе собственных, приводятся актуальные данные по этим семействам.

Тиоредоксин-подобные оксидоредуктазы – это глобулярные белки с характерной тиоредоксин-подобной укладкой (фолдом), и представляет собой последовательность четырех β -слоев и трех α -спиралей ($\beta 1$ - $\alpha 1$ - $\beta 2$ - $\alpha 2$ - $\beta 3$ - $\beta 4$ - $\alpha 3$). На Рис. 2 представлены структуры 3-х семейств ферментов: тиоредоксинов (Trx), пероксиредоксинов (Prdx) и глутатионпероксидаз (GPx). Данные семейства достаточно сильно различаются по аминокислотным последовательностям (например, человеческий Trx1 гомологичен с Prdx6 на ~ 12%, а с GPx1 на ~ 8%). При этом, все они имеют общий тиоредоксиновый фолд – высококонсервативную, эволюционно древнюю трехмерную структуру [Ingles-Prieto et al., 2013]. Аналогичная укладка характерна и для других тиоловых оксидоредуктаз: глутаредоксинов (GRx), глутатион-S-трансфераз (GST), протеиндисульфидизомераза (PDI). По некоторым оценкам, впервые тиоредоксиновая укладка появилась еще на заре жизни, около 4 млрд. лет назад у общего предка археобактерий (last archaeal common ancestor - LACA), т.е. задолго до «кислородной катастрофы» на нашей планете [Ingles-Prieto et al., 2013]. Это указывает на то, что свободно-радикальные и окислительные процессы происходили в «первичном» океане при отсутствии кислород-

ной атмосферы, наиболее вероятно это были тиольные радикалы (Таблица 1).

Для всех тиоредоксин-подобных оксидоредуктаз характерно наличие консервативного пероксидазного мотива. Для тиоредоксинов это мотив: CxxC, в котором два остатка цистеина разделены двумя любыми аминокислотами. В случае пероксиредоксинов один из цистеинов замещен на треонин: TxxC. Для глутатионпероксидаз характерен мотив: C/UxxT, где вместо цистеина (на $\beta 3$ -стренде) может быть селеноцистеин – Sec (Рис. 2А). Наличие селеноцистеина почти на 3 порядка увеличивает эффективность пероксидазной реакции, что объясняется высокой реакционной способностью Sec [Johansson et al., 2005].

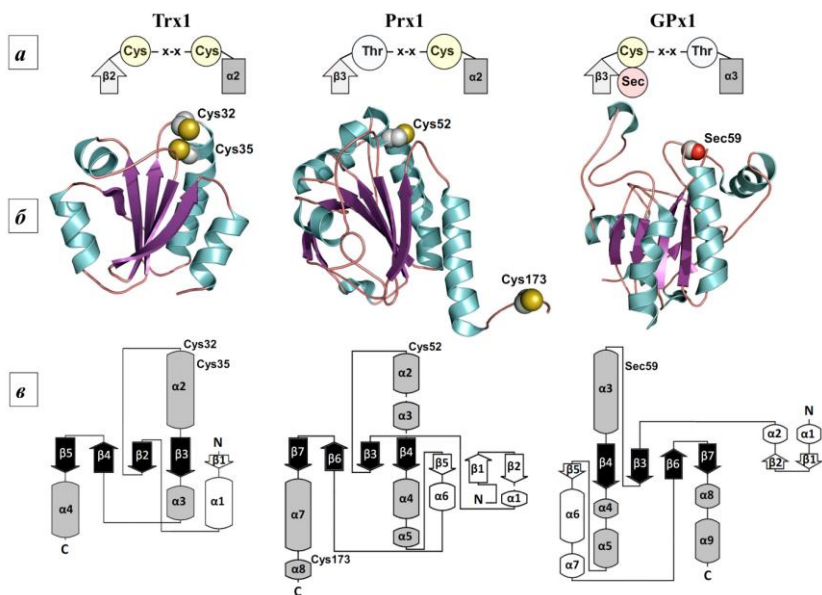


Рис. 2. Структурная характеристика тиоредоксинов (Trx1), пероксиредоксинов (Prx1) и глутатионпероксидазы (GPx1). А) Мотивы пероксидазного каталитического центра. Б) Схема трехмерной структуры Trx1, Prx1 и GPx1 человека (Pymol v0.99). В) Укладка вторичных элементов ферментов. Серым выделены α -спирали и β -стренды, относящиеся к тиоредоксиновой укладке – общей для суперсемейства тиоловых оксидоредуктаз [адаптировано из Sharapov et al., 2021]

Тиоредоксины. Современные биоинформатические исследования указывают, что тиоредоксины являются наиболее древними ферментами среди оксидоредуктаз (около 4 млрд лет), что может объяснить их вовлеченность во многие клеточные процессы, связанные с восстановлением окисленных остатков цистеина. В этом отношении, тиоредоксины можно считать предками пероксиредоксинов и глутатионпероксидаз, поэтому следует рассмотреть их подробнее.

Тиоредоксины (Trx) – семейство небольших белков (~12 кДа), катализирующих окислительно-восстановительные реакции путем дитиол-дисульфидного обмена с участием двух редокс активных остатков Cys, разделенных двумя аминокислотами (Рис. 2). Тиоредоксины осуществляют восстановление дисульфидных связей в белках, благодаря чему участвуют в самых различных процессах клетки:

1) общий метаболизм клетки – например, в качестве субстрата для рибонуклеотидредуктазы в синтезе ДНК и 3'-фосфоаденилсульфатредуктазы при ассимиляции серы;

2) антиоксидантная система – восстановление антиоксидантных ферментов, таких как 2-Cys пероксиредоксины (см. ниже), и метионин-сульфоксидредуктазы;

3) клеточные сигнальные пути, где Trx служит для регуляции ферментов в ответ на сигналы окружающей среды;

4) функции, не связанные напрямую с окислительно-восстановительной реакцией – например, как шаперон, взаимодействующий с развернутыми и денатурированными белками и восстанавливающий их нативную структуру [Balseira, Buchanan, 2019].

Тиоредоксины обнаружены у всех живых организмов: от археобактерий до человека. Геном *E. coli* кодирует два тиоредоксина: Trx1 и Trx2 и одну тиоредоксин редуктазу (TrxR). В геноме человека также обнаружено два гена тиоредоксина: цитозольного (Trx1) и митохондриального (Trx2), и уже две тиоредоксинредуктазы: цитозольная (TrxR1) и митохондриальная (TrxR2). У растений обнаружено 20 изоформ тиоредоксинов, перекрывающиеся по первичной структуре как с прокариотами, так и с эукариотами [Pan, Bardwell, 2006]. Вероятно, такое большое количество изоформ Trx у растений связано с появлением хлоропластов (фотосинтеза), функция которых сопряжена с высоким уровнем образования АФК. Примечательно, что несмотря на различия в первичной структуре (например, Trx1 археобактерий и человека гомологичны на ~27%), все тиоредоксины имеют очень консервативную трехмерную структуру. Небольшие отличия касаются протяженности α 3-спирали, которая ответственна за стабильность структуры белка [Modi et al., 2018].

Каталитический цикл тиоредоксинов включает три этапа. 1) Тиольная группа N-концевого остатка Cys тиоредоксина атакует дисульфидную связь белка мишени, формируя дисульфидную связь с остатком Cys белка мишени. 2) Далее тиольная группа C-концевого остатка Cys тиоредоксина восстанавливает дисульфидную связь комплекса тиоредоксин белок, тем самым восстанавливая белок-мишень, сам тиоредоксин при этом окисляется. 3) Окисленный тиоредоксин восстанавливается тиоредоксин редуктазой (TrxR) в NADPH-зависимой реакции и вновь включается в каталитический цикл [Pan, Bardwell, 2006]. Схема каталитического цикла тиоредоксинов представлена на Рис. 3А. Тиоредоксины играют исключительно важную роль в поддержании окислительно-восстановительного гомеостаза в клетках животных. Мыши, нокаутные по Trx1 или Trx2, погибают еще на ранних стадиях эмбрионального развития [Nonn et al., 2003; Bondareva et al., 2007]. Основные характеристики тиоредоксинов человека представлены в Таблице 3.

Пероксиредоксины. Пероксиредоксины (Prxs / Prdxs) – эволюционно древнее семейство пероксидаз, широко представленное в живом мире. Пероксиредоксины обнаружены во всех компартаментах клетки, представлены во всех тканях, но в большем количестве в эпителиальных. Prxs относительно небольшие белки с молекулярной массой от 17 до 28 кДа. Для катализа пероксиредоксины используют консервативный остаток цистеина (Cys) в активном центре [Rhee, Kil, 2017; Sharapov et al., 2014]. Современная классификация пероксиредоксинов основана на числе цистеинов (1 или 2 остатка) в активном центре и особенностях механизма катализа. Необходимым для катализа и характерным для всех пероксиредоксинов (как 1-Cys Prx, так и 2-Cys Prx) является «пероксидазный» статок цистеина в N-концевой области – C_P (peroxidatic cysteine). У 2-Cys пероксиредоксинов в C-концевой области белка располагается дополнительный «восстанавливающий» остаток цистеина – C_R (resolving cysteine). Пероксидазный остаток цистеина C_P-SH окружен тремя консервативными для всех пероксиредоксинов аминокислотными остатками: Pro44, Thr48 и Arg127 (нумерация для Prx1). Так же, как и все тиоредоксин-подобные ферменты, пероксиредоксины имеют консервативную пространственную структуру – тиоредоксиновую укладку (Рис. 2Б).

По аналогии с тиоредоксинами, в ходе эволюции от бактерий и простейших одноклеточных до многоклеточных организмов происходило увеличение числа изоформ пероксиредоксинов. Так, у бактерий обнаружено 3 изоформы, у дрожжей – 5, у животных – 6, а у растений – 9 изоформ пероксиредоксинов, что, вероятно, связано с их специализацией по возросшему числу компарментов клетки.

Сравнение семейств антиоксидантных ферментов: тиоредоксинов (Trx), пероксиредоксинов (Prx), глутатионпероксидаз (GPx)

Свойства	Trx	Prx	GPx
Количество изоформ у человека	Две: Trx1, Trx2	Шесть: Prx1 – Prx6	Восемь: GPx1 – GPx8
Локализация в клетке	Цитоплазма (Trx1) Ядро (Trx1) Секреция (Trx1) Митохондрии (Trx2)	Цитоплазма (Prx1,2,5,6) ЭПР (Prx4) Митохондрии (Prx3,5) Лизосомы (Prx6) Ядро (Prx1,2,6) Секреция (Prx4,6)	Цитоплазма (GPx1,4) ЭПР (GPx4,8) Митохондрии (GPx4) Мембранный комплекс (GPx8) Ядро (GPx1,4) Секреция (GPx3,5,6,7)
Локализация в тканях, органах	Trx1 и Trx2 обнаружены во всех органах и тканях.	Prx1-6 обнаружены во всех органах и тканях. Больше всего в эпителиальных.	GPx1 – во всех тканях, в большом кол-ве в эритроцитах, печени, почках GPx2 – желудочно-кишечный тракт GPx3 – почки GPx4 – семенники, сетчатка глаз GPx5 – придатки семенников GPx6 – обонятельный эпителий GPx7 – эпителий пищевода GPx8 – преимущественно в почках
Основные регуляторы экспрессии	NRF2, NF-κB, Ref-1, AP-1	NRF2, NF-κB, HIF, AP-1, c-Myc, C/EBP, FOXO3	NRF2, NF-κB, HIF, p63, AP-1, Sp1, NF-Υ

Свойства	Trx	Prx	GPx
Молекулярный вес, кДа	Trx1 – 12, Trx2 – 18	Prx1 – 22, Prx2 – 22, Prx3 – 28, Prx4 – 30, Prx5 – 13 (17), Prx6 – 25	GPx1 – 22, GPx2 – 22, GPx3 – 25, GPx4 – 22 (19,5), GPx5 – 25, GPx6 – 25, GPx7 – 21, GPx8 – 24
Трехмерная структура	Тиоредоксиновая укладка	Тиоредоксиновая укладка	Тиоредоксиновая укладка
Четвертичная структура	Гомодимеры (Trx1,2)	Мономер (Prx5) Гомодимеры (Prx1,2,3,4,6) Олигомеры (Prx1,2,3,4,6)	Гомотетрамеры (GPx1,2,3,5,6) Димеры (GPx4,7,8)
Каталитический центр (мотив)	<u>Cys</u> -X-X- <u>Cys</u>	Thr-X-X- <u>Cys</u>	<u>Sec</u> -X-X-Thr (GPx1,2,3,4,6) <u>Cys</u> -X-X-Thr (GPx5,7,8)
Субстрат восстановитель	(Trx1,2) - GSH	(Prx1-6) - GSH	(GPx1,3,4,7,8) - GSH (GPx2,5,6) - ?
Фермент восстановитель	TrxR	Trx, πGST, ERp46, Grx, PDI	Trx, Grx, PDI
Субстраты окислитель	H ₂ O ₂ (Trx1,2) ONOO ⁻ (+/-) ROOH (-) LOOH (-) PLOOH (-)	H ₂ O ₂ (Prx1-6) ONOO ⁻ (Prx2,5,6) ROOH (Prx1-6) LOOH (Prx6) PLOOH (Prx6)	H ₂ O ₂ (GPx1-8) ONOO ⁻ (GPx1,4) ROOH (GPx1,3,4) LOOH (GPx1,3,4) PLOOH (GPx3,4)
Скорость пероксидазной реакции (H ₂ O ₂)	~ 10 ³ M ⁻¹ s ⁻¹ - -10 ⁵ M ⁻¹ s ⁻¹	~ 10 ⁶ M ⁻¹ s ⁻¹	~ 10 ⁷ - 10 ⁸ M ⁻¹ s ⁻¹
Константы Михаэлиса-Ментен для H ₂ O ₂	10–100 μM	90–200 μM	10 μM – 500 μM
Константы Михаэлиса-Ментен для ROOH	6–20 μM	80–120 μM	50 μM – 1 mM

Свойства	Тгх	Прх	ГРх
Количество белков партнеров https://thebiogrid.org/	Тгх1 – 213, Тгх2 – 133.	Прх1 – 240, Прх2 – 209, Прх3 – 191, Прх4 – 130, Прх5 – 150, Прх6 – 167	ГРх1 – 48, ГРх2 – 3, ГРх3 – 3, ГРх4 – 51, ГРх5 – 30, ГРх6 – 4, ГРх7 – 6, ГРх8 – 22
Участие в сигнальных путях	ASK-1/AP-1, ERK, NF-κB, p53, ASK1/JNK/p38, KEAP1/NRF2, MST1/FOXO3, PI3K, HIF1α, PI3K/PTEN/Akt/mTOR и др.	TLR4/NF-κB, ASK-1/AP-1, APE1/Ref-1, KEAP1/NRF2, MST1/FOXO3, c-Jun/πGST, ERK/cyclin D1, JAK2/STAT3, JNK/p38, ERK1/2, HIF1α, C/EBPβ и др.	ASK-1/AP-1, KEAP1/NRF2, PI3K/AKT/mTOR, NF-κB и др.

Эффективность катализа пероксиредоксинов ниже, чем у каталазы или селенсодержащих глутатионпероксидаз, и находится в диапазоне $\sim 10^5 - 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ [Winterbourn, Peskin, 2016]. Следует отметить, что в нормальных условиях концентрация H_2O_2 внутри клеток редко превышает 1–5 мкМ, при развитии патологических процессов она достигает 150 мкМ, а при концентрации свыше 200 мкМ вызывает апоптоз и некроз клеток [Schröder, Eaton, 2008]. Prx1–6 проявляют максимальную активность именно в вышеуказанных микромолярных концентрациях гидропероксидов, т.к. значения кажущихся констант Михаэлиса-Ментен (app.K_m) находятся в пределах 15–200 мкМ [Peskin et al., 2007]. В то же время, каталаза, миелопероксидаза и большинство глутатионпероксидаз максимальную активность проявляют в миллимолярных концентрациях ($\text{app.K}_m \sim 10\text{--}100 \text{ mM}$) перекисных субстратов [Flohé et al., 2011]. По сравнению с другими пероксидазами, пероксиредоксины способны восстанавливать наиболее широкий спектр перекисных субстратов. Prx1–6 нейтрализуют различные неорганические (H_2O_2 , пероксинитрит) и органические гидропероксиды (алкилгидропероксиды, пероксиды фосфолипидов и т.д.) [Rhee, Kil, 2017; Sharapov et al., 2014], благодаря чему играют важную роль в регуляции окислительно-восстановительного гомеостаза клетки. Основные характеристики пероксиредоксинов представлены в Таблице 3.

В каталитическом цикле пероксиредоксинов можно выделить три этапа: 1) окисление пероксидазного остатка цистеина, 2) образование внутри- или межмолекулярной дисульфидной связи, 3) восстановление каталитического цистеина. Схема каталитического цикла пероксиредоксинов представлена на Рис. 2а-в. В ходе восстановления перекисного субстрата, тиольная группа ($-\text{SH}$) пероксидазного цистеина C_P обратимо окисляется до сульфеновой кислоты ($-\text{SOH}$). В зависимости от концентрации пероксида, окисление сульфеновой кислоты ($\text{C}_P\text{-SOH}$) может происходить дальше до сульфиновой ($\text{C}_P\text{-SO}_2\text{H}$) и сульфоной ($\text{C}_P\text{-SO}_3\text{H}$) кислот [Portillo-Ledesma et al., 2018]. Окисленный пероксидазный остаток цистеина ($\text{C}_P\text{-SOH}$) с участием глутатиона (GSH) и тиоредоксинов восстанавливается до реакционноспособной формы $\text{C}_P\text{-SH}$. При этом, восстановление сульфиновой кислоты $\text{C}_P\text{-SO}_2\text{H}$ типичных 2-Cys пероксиредоксинов до $\text{C}_P\text{-SOH}$ осуществляется сульфоредами (Srx) или сестринами (SESN), с затратой энергии АТФ. Состояние $\text{C}_P\text{-SO}_3\text{H}$ является необратимо окисленным [Budanov et al., 2004; Kim et al., 2015]. Понимание механизма восстановления $\text{C}_P\text{-SOH}$ позволило разделить 2-Cys пероксиредоксины на типичные и атипичные. Атипичные 2-Cys Prx

(Prx5) образуют внутримолекулярную связь в пределах одной полипептидной цепи, что по механизму катализа больше остальных сближает с тиоредоксинами. С этой точки зрения, можно предположить, что Prx5 является наиболее древним представителем семейства пероксиредоксинов. Вероятно, из атипичных 2-Cys пероксиредоксинов возникли типичные 2-Cys (Prdx1-Prdx4), которые в ходе восстановления C_P-SOH стали образовывать межмолекулярные дисульфидные связи между пероксидазным остатком цистеина (C_P) одной молекулы и восстанавливающим цистеином (C_R) другой. Образовавшиеся межмолекулярные или внутримолекулярные дисульфидные связи 2-Cys пероксиредоксинов восстанавливаются с участием тиоредоксинов и глутатиона. В случае 1-Cys пероксиредоксинов (Prx6) образуется дисульфидная связь с GSH, опосредованная глутатион-S-трансферазой (π GST) (Fisher et al., 2018). Вероятно, утрата восстанавливающего остатка (C_R) у Prx6 в ходе эволюции произошла вторично, а механизм катализа 1-Cys пероксиредоксинов является наиболее поздним.

Особенности кинетики каталитического процесса Prx1-6 таковы, что из-за более медленного процесса восстановления сульфеновой кислоты (C_P-SOH), по сравнению с кинетикой окисления C_P-SH, происходит накопление ркисленным пероксиредоксинов C_P-SOH в клетке [Portillo-Ledesma et al., 2018]. В ходе восстановления окисленного цистеина C_P-SOH пероксиредоксины могут образовывать межмолекулярные дисульфидные связи не только с белками – восстановителями (Trx1, Trx2, PDI (ERp46), π GST), но и с другими тиолсодержащими (-SH) белками (транскрипционными факторами, киназами, фосфатазами, рецепторами, ионными каналами и др.), тем самым модулируя их активность и оказывая влияния на многие клеточные процессы [Rhee et al., 2018; Sharapov, Novoselov, 2019].

Кроме пероксидазной функции, пероксиредоксины проявляют шаперонную, фосфолипазную и сигнально-регуляторную активность. Изменение степени окисления пероксидазного цистеина в активном центре пероксиредоксинов влияет на их физико-химические свойства и функцию в клетке [Perkins et al., 2015]. Переокисление типичных 2-Cys пероксиредоксинов (Prx1-Prx4) приводит к изменению конформации белков, образованию кольцеобразные олигомерные структур (тороидов), обладающих шаперонной активностью. Благодаря шаперонной активности, типичные 2-Cys Prx препятствуют агрегации белков и способствуют восстановлению их нативной структуры, обеспечивая выживание клетки в условиях окислительного стресса [Rhee, Kil, 2017]. Переокисление

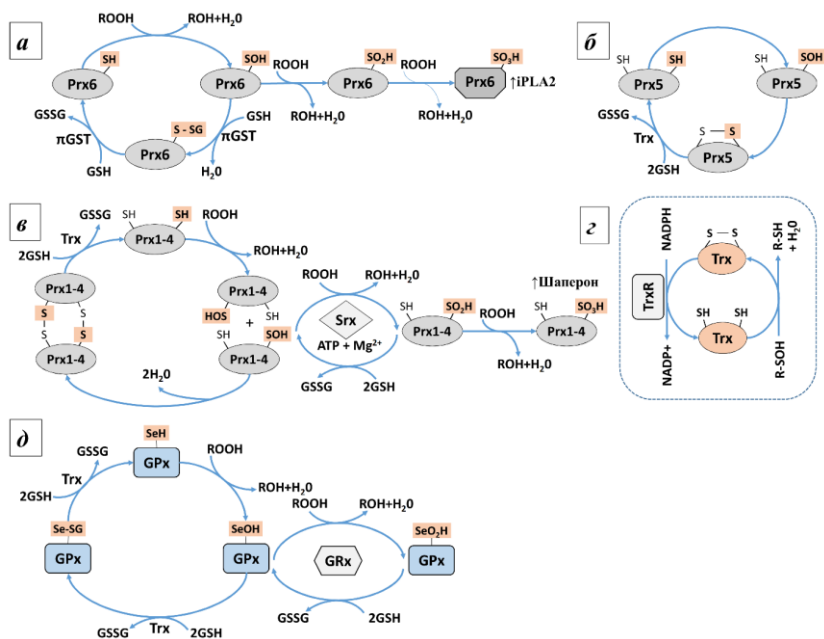


Рис. 3. Схемы каталитических циклов: а) 1-Cys пероксиредоксинов (Prx6), б) атипичных 2-Cys пероксиредоксинов (Prx5), в) типичных 2-Cys пероксиредоксинов (Prx1–4); г) тиоредоксинов (Trx) и д) селеносодержащих глутатионпероксидаз (GPx). ROOH – гидропероксиды, GSH – глутатион восстановленный, GSSG – глутатион окисленный, Srx – сульфореоксины, GRx – глутатионредуктазы, TrxR – тиоредоксинредуктазы. iPLA2 – активность фосфолипазы A2 [адаптировано из Sharapov et al., 2021]

1-Cys пероксиредоксинов (Prx6) приводит к активации Ca²⁺-независимой фосфолипазы A2 (iPLA2), которая в норме проявляется только в кислых условиях (в лизосомах и ламеллярных телах, при pH 4–5) и играет важную роль в метаболизме фосфолипидов и передаче внутриклеточных и межклеточных сигналов [Fisher, 2011]. Кроме того, экстраклеточные формы пероксиредоксинов проявляют иммуномодулирующие и сигнально-регуляторные свойства, опосредованные Toll – подобными рецепторами [Knoops et al., 2018; Sharapov et al., 2021].

Физиологическое значение пероксиредоксинов было продемонстрировано на нокаутных по этим генам мышах. Нокаут по *Prx1* приводит к

гемолитической анемии, увеличению окислительных повреждений тканей, возрастанию числа злокачественных опухолей. Нокаут по *Prx2* приводит к повреждению эритроцитов, патологии селезенки и развитию анемии. Нокаут по *Prx3* приводит к уменьшению массы тела. Нокаут по *Prx4* приводит к атрофии тестисов, олигозооспермии и повышению чувствительности сперматогенных клеток к окислительным воздействиям. Нокаут по *Prx6* приводит к повышенному уровню окислительных повреждений белков, тканей и органов, несмотря на нормальный уровень экспрессии генов других антиоксидантных ферментов [Lee, 2020]. Экспериментов по нокауту гена *Prx5* на животных не проводилось, однако эксперименты на беспозвоночных указывают на его важную роль в иммунном ответе [Radyuk, Orr, 2018]. Таким образом, пероксиредоксины являются важной составляющей антиоксидантной и сигнально-регуляторной системы организма.

Глутатионпероксидазы. Следует отметить, что в отличие от пероксиредоксинов (в активном центре которых содержится 1 или 2 остатка Cys) многие глутатионпероксидазы (GPx) являются селенсодержащими белками. Считается, что замена серы на селен в активном центре GPx связана с тем, что селеноцистеин (Sec) имеет более низкую, чем у цистеина (Cys), константу диссоциации ($pK_a = 5,47$) и более высокий восстановительный потенциал. Из-за химических свойств селена, Sec в белках обычно присутствует в виде селенолята ($-Se^-$) при физиологическом значении pH. Селенолят намного более реакционноспособен, чем тиолаты, что обеспечивает селенсодержащим ферментам высокую каталитическую эффективность. Необходимо отметить, что к селенсодержащим белкам также относятся некоторые тиоредоксинредуктазы (TrxR), входящие в состав антиоксидантной системы. В частности, тиоредоксин и тиоредоксинредуктаза участвуют в регенерации пероксиредоксинов [Perkins et al., 2015].

Несомненно, что среди тиоловых оксидоредуктаз, селенсодержащие глутатионпероксидазы (GPx) являются наиболее поздними ферментами с точки зрения эволюции, т.к. для их биосинтеза было необходимо создать специальные системы транскрипции и трансляции, включающие SECIS – элемент в мРНК (для кодирования Sec вместо стоп-кодона UGA), а также синтез специальной тРНК, несущей Sec [Labunsky et al., 2014]. Глутатионпероксидазы широко представлены в живом мире (от простейших до человека), причем обнаружены как селенсодержащие, так и цистеинсодержащие изоформы. Следует отметить, что в ходе эволюции живых организмов происходило увеличение числа селенсодержащих белков. Известно, что только ~20% прокариот используют Sec в

своих белках, тогда как ~50% эукариот используют Sec в своих ферментах [Gladyshev et al., 2004]. У человека обнаружено восемь глутатионпероксидаз (GPx1–8), из которых пять изоформ (GPx1–4 и GPx6) содержат в активном центре селеноцистеин. Согласно филогенетическому анализу, семейство GPx состоит из трех эволюционных групп, происходящих от общего Cys-содержащего предка: 1) GPx1/GPx2, 2) GPx3/GPx5/GPx6 и 3) GPx4/GPx7/GPx8. Cys-содержащие GPx7 и GPx8 произошли от GPx4-подобных предков. GPx5 и GPx6, по-видимому, являются результатом тандемной дупликации GPx3. GPx1 и GPx2 являются ответвлением GPx1–3, GPx5 и GPx6 [Mariotti et al., 2012]. По структуре, все глутатионпероксидазы имеют тиоредоксиновую укладку (Рис. 2В) и в основном представляют собой гомотетрамерные протеины, за исключением GPx4, которая является мономерным белком. Глутатионпероксидазы имеют различную внутриклеточную и тканевую специфичность, что вероятно связано со «специализацией» каждой из изоформ под определенный перечень образующихся гидропероксидов. GPx1 широко представлена в цитоплазме и митохондриях, обнаружена почти во всех клетках. GPx2 обнаружена в эпителии кишечника и выполняет важную антиоксидантную функцию. GPx3 секретируется эпителием почечных канальцев в кровь, а снижение его уровня/активности приводит к росту тромбов. Изоформа GPx4 экспрессируется практически во всех тканях млекопитающих, связана с мембраной митохондрий и защищает их от окислительного повреждения. GPx5 является секреторным белком предка яичек и участвует в защите созревающих сперматозоидов от АФК. GPx6 обнаружен в обонятельном эпителии и предположительно играет важную роль в метаболизме одорантов. Примечательно, что GPx6 человека и свиньи в активном центре содержит селеноцистеин, в то время как GPx6 мыши и крысы содержат цистеин. GPx7 и GPx8 это относительно недавно открытые изоформы цистеинсодержащих глутатионпероксидаз, которые представлены в ЭПР, где они в комплексе с дисульфид-изомеразой (PDI) и Tx участвуют в дитиол-дисульфидном обмене, препятствуя агрегации белков [Brigelius-Flohé, Maiorino, 2013].

Для GPx характерна высокая пероксидазная активность и более эффективный механизм катализа, по сравнению с тиоредоксинами и пероксиредоксинами. Глутатионпероксидазы восстанавливают пероксид водорода или органических гидропероксиды до воды или соответствующих спиртов, используя в качестве донора электронов восстановленный глутатион. Наличие селеноцистеина в активном центре глутатионпероксидаз обеспечивает им эффективную элиминацию гидропероксидов, с константой скорости $10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, при этом максимальная активность этих ферментов проявляется в широком диапазоне концентраций перок-

сидов [Torro et al., 2009]. Рекombинантные GPx с заменой Sec на Cys имеют пероксидазную активность на 2–3 порядка ниже. Основные характеристики глутатионпероксидаз представлены в Таблице 3. В каталитическом цикле глутатионпероксидаз, как и случае рассмотренных ранее семейств оксидоредуктаз, различают 3 этапа: 1) окисление пероксидазного остатка селеноцистеина (-SeOH), 2) образование межмолекулярной дисульфидной связи с молекулой глутатиона (Se-SG), 3) восстановление Se-SG второй молекулой GSH до активного селеноцистеина (-SeH). Элиминация пероксидов глутатионпероксидазами происходит по механизму «пинг-понг» с участием двух субстратов: окислителя (пероксида/гидропероксида) и восстановителя (GSH) [Brigelius-Flohé, Maiorino, 2013].

При исследовании GPx1 было показано наличие 3-х аминокислот вблизи каталитического центра, которые обеспечивают связывание GSH. Взаимодействие GPx1 с пероксидом водорода приводит к окислению группы -Se-H в активном сайте фермента до -Se-OH, после чего фермент восстанавливается одной молекулой глутатиона GSH (находящейся рядом) с образованием промежуточного продукта Se-SG. Вторая молекула глутатиона взаимодействует со связью Se-SG, что приводит к восстановлению селеноцистеина глутатионпероксидазы (-SeH) и окислению глутатиона (GSSG). Окисленный GSSG восстанавливается NADPH-зависимой глутатионредуктазой до 2-х молекул GSH и вновь включается в каталитический цикл. Схема каталитического цикла селенсодержащих GPx представлена на Рис. 3д. Каталитический цикл цистеинсодержащих глутатионпероксидаз (NS-GPx) напоминает каталитический цикл 2-Cys пероксиредоксинов, с участием Trx и GSH в качестве восстановителей, что еще раз подтверждает генетическую связь этих семейств.

При недостатке селена в рационе питания уменьшается уровень GPx, что снижает устойчивость организмов к окислительному стрессу и может приводить к развитию свободнорадикальных патологий. У человека снижение активности GPx1 в результате дефицита селена выявлено при сердечно-сосудистых заболеваниях и при раке [Lubos et al., 2011]. Снижение активности GPx7 способствует трансформации клеток и развитию злокачественных опухолей молочной железы [Jiao et al., 2017]. Физиологическая роль некоторых GPx была продемонстрирована в экспериментах по нокауту соответствующих генов мыши. Так мыши, нокаутные по одной копии гена *GPx1* имеют нормальный фенотип и нормальную продолжительность жизни, однако у мышей, нокаутных по обоим копиям этого гена, преждевременно развивается катаракта и наблюдаются дефекты в пролиферации вспомогательных мышечных клеток. Повышенная экспрессия гена *GPx1*, защищает мышей от развития окислительного

стресса, однако у таких животных развивается гипергликемия, резистентность к инсулину и ожирение. У мышей с нокаутом гена *GPx2* наблюдается воспаление слизистой кишечника, особенно при дефиците селена в рационе [Esworthy et al., 2005]. Мыши, нокаутные по гену митохондриальной и ядерной изоформы *GPx4*, погибают в течение раннего эмбрионального развития, в то время как нокаут по цитоплазматической изоформе *GPx4* не приводит к таким фатальным последствиям [Yang et al., 2014; Lu et al., 2009]. Нокаут *GPx5* приводит к появлению дефектов в общем развитии и отклонению развития зрительной системы у потомства, полученного от самцов с нокаутом по этому гену [Chabory et al., 2009].

Таким образом, глутатионпероксидазы являются важными антиоксидантными ферментами, регулирующие окислительно-восстановительный гомеостаз, клеточную сигнализацию, апоптоз и дифференцировку клеток. Пероксиредоксины (Prx) и глутатионпероксидазы (GPx) – филогенетически близкие семейства ферментов, которые являются важнейшими регуляторами окислительно-восстановительного гомеостаза клетки. Пероксиредоксины, будучи предшественниками глутатионпероксидаз, эволюционно являются более древними белками. Оба семейства ферментов способны нейтрализовать широкий спектр неорганических и органических пероксидов. По эффективности пероксидазной активности Prx уступают GPx. Однако в ходе своей эволюции пероксиредоксины приобрели дополнительные функции в клетке. 2-Cys пероксиредоксины (Prx1–4), благодаря шаперонной активности, предотвращают агрегацию белков в клетке. Наличие фосфолипазной активности у Prx6 позволяет этому ферменту участвовать в метаболизме фосфолипидов мембран клеток, а также в регуляции дифференцировки, миграции и гибели клеток. Способность образовывать межмолекулярные дисульфидные связи с важнейшими регуляторными белками (транскрипционными факторами, рецепторами) позволяет пероксиредоксинам опосредованно влиять на все основные клеточные процессы. Глутатионпероксидазы, в отличие от пероксиредоксинов, являются эволюционно более поздними и более специализированными белками. Благодаря селеноцистеину, GPx являются наиболее эффективными пероксидазами в отношении различных перекисных субстратов клетки, что делает их незаменимыми элементами антиоксидантной защиты. Пероксиредоксины и глутатионпероксидазы являются ярким примером молекулярной эволюции, функции которых тесно взаимосвязаны, но до сих пор не до конца исследованы.

3. СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПАТОЛОГИИ

В настоящее время общепринято, что многие заболевания связаны с нарушением окислительно-восстановительного гомеостаза, в частности, с активацией свободнорадикальных реакций в тканях. К патологиям такого рода можно отнести: лучевую болезнь, сердечно-сосудистые заболевания (гипертония, инсульт, инфаркт), диабет, бронхолегочные патологии, злокачественные новообразования, нейро-дегенеративные болезни и т.п. [Lankin, Tikhaze, 2016]. Для всех указанных патологий характерны следующие признаки: 1) увеличение концентрации в клетках и тканях свободных радикалов, активных форм кислорода (АФК) и реактивных форм азота (РФА); 2) повышенный уровень содержания продуктов свободнорадикального окисления биомакромолекул; 3) интенсификация собственной биолюминесценции тканей и клеток; 4) уменьшение содержания в клетках и тканях тушителей (скавенджеров) радикалов и антиоксидантов (включая снижение активности антиоксидантных ферментов); 5) наличие характерных клинических синдромов (снижение фертильности, хрупкость сосудов, ослабление реакции на внешние раздражители, вялость, сниженная гемолитическая устойчивость эритроцитов, преобладание катаболических процессов над анаболическими, преждевременное старение и т.п.); 6) возможность моделирования свободнорадикальной патологии за счет индукции генерации свободных радикалов, АФК/РФА в биологической системе; 7) при свободнорадикальной патологии выраженный профилактический или лечебный эффект оказывают препараты антиоксидантного действия. Основным признаком свободнорадикальной патологии является нарушение регуляции свободнорадикальных процессов (нарушение сбалансированности систем генерирования и утилизации АФК и свободных радикалов) [Forman, Zhang, 2021; Sies et al., 2017].

Окислительный стресс. Принято считать, что окислительный стресс, развивающийся при нарушении окислительно-восстановительного гомеостаза в биологических системах, в результате которого уровень возникающих АФК превосходит возможности антиоксидантной системы, является основной причиной развития свободнорадикальных патологий (Sies, Jones, 2020). Образующиеся в ходе окислительного стресса АФК и свободные радикалы, способны модифицировать все важнейшие макромолекулы (нуклеиновые кислоты, белки и липиды), что приводит к нарушению их структуры и функции, и, в конечном сче-

те, – гибели клетки. Однако окислительный стресс сопровождается образованием не только окисленных молекул различной природы, но и некоторых «побочных» продуктов окисления, таких как: карбонилы и нитрозанты, которые в свою очередь при превышении предельной концентрации вызывают развитие карбонильного и нитрозативного стресса. Таким образом, окислительный стресс можно считать триггером каскада патологических процессов и связующим звеном карбонильного и нитрозативного стресса.

Карбонильный стресс. Карбонильный стресс представляет собой острое или хроническое увеличение количества активных карбонильных соединений (reactive carbonyl species – RCS), ведущее к повреждению клетки. Биологические карбонилы представлены широким спектром соединений, которые содержат одну или несколько карбонильных групп. На сегодняшний день идентифицировано более двух десятков карбонильных соединений, участвующих в развитии карбонильного стресса. К наиболее известным карбонилам относятся: α , β -ненасыщенные альдегиды (акролеин, кротоновый альдегид), диальдегиды (малоновый диальдегид, глиоксаль) и кето-альдегиды (метилглиоксаль, рибозон, глюкозон, 3-дезоксиглюкозон). Эндогенные карбонилы образуются в качестве промежуточных продуктов в ферментативных процессах гликолиза, окисления аминокислот. Значительная часть карбониллов образуется в результате гликирования (сахароаминная конденсация или реакция Майяра) и липидной перекиссации. Следует отметить, что при свободнорадикальном окислении полиеновых липидов дикарбонилы (такие как малоновый диальдегид) образуются в качестве вторичных продуктов окисления, образующихся при окислительной деструкции первичных продуктов – липогидропероксидов. Таким образом, окислительный стресс с неизбежностью переходит в карбонильный стресс. По сравнению с АФК, карбонильные соединения (RCS) относительно стабильны. Отсутствие заряда на молекуле и относительно большое время жизни (часы) позволяют им диффундировать через клеточную мембрану и атаковать мишени далеко от места продукции. Карбонилы обладают высокой реакционной способностью, атакуя в биологических макромолекулах: аминогруппы, тиолы, имидазолы, гидроксильные группы, пуриновые и пиримидиновые основания. Воздействие карбониллов приводит к необратимым химическим/структурным изменениям белков, нуклеиновых кислот и фосфолипидов, что приводит к нарушению их нормального функционирования [Lankin et al., 2007].

Карбонильные соединения, по аналогии с АФК, играют двойную роль: в норме участвуют в сигнальных и защитных процессах, а при повышенном уровне приводят к необратимым повреждениям клетки [(Altomare et al., 2021)]. Например, нейтрофилы (с участием миелопероксидазы) продуцируют ненасыщенные альдегиды, такие как гликолевый альдегид, 2-гидроксипропаналь и акролеин, которые подавляют рост патогенных микроорганизмов [Anderson et al., 2021]. Метилглиоксаль может подавлять рост злокачественных клеток и ряда патогенных бактерий [Talukdar et al., 2009]. В клетках существует специализированная система катаболизма карбонильных соединений, включающая следующие классы ферментов: альдегиддегидрогеназы (ADH), альдегидредуктазы (ADR) и глутатион-S-трансферазы (GST). Вероятно, наибольшее значение во внутриклеточной нейтрализации альдегидов имеет процесс их ферментативной конъюгации с глутатионом в глутатионтрансферазной реакции. Однако экстремальное накопление карбонильных соединений (возникающее при длительном карбонильном стрессе), превышающее возможности «антикарбонильной» защиты, приводит к цитотоксическим и генотоксическим эффектам и является причиной развития множества патологических состояний: таких как сахарный диабет, атеросклероз, сердечно-сосудистые, нейродегенеративные заболевания, хроническая обструктивная болезнь легких и др.

Нитрозативный стресс. Нитрозативный и окислительный стресс тесно связаны и их разделение может быть достаточно условным. Продуцирующиеся в ходе окислительного стресса АФК реагируют с NO с образованием реактивных форм азота (РФА). По аналогии с АФК, превышение порогового уровня РФА приводит к повреждению клетки и развитию нитрозативного стресса.

В биологических системах NO образуется из аминокислоты L-аргинина в результате реакции (L-аргинин + NADPH₂ + O₂ → NO• + L-цитруллин), которая катализируется ферментом NO-синтазой [Król et al., 2020]. У млекопитающих известно 3 изоформы NO-синтаз (2 конститутивных и 1 индуцибельная), которые отличаются распределением в тканях/клетках, особенностями активации и ингибирования. Конститутивные изоферменты называются по типу ткани, в которой они были впервые обнаружены: нейрональная NO-синтаза (nNOS) и эндотелиальная NO-синтаза (eNOS). nNOS содержится во многих тканях, но в большем количестве представлена в тканях центральной и периферической нервной системы. Изофермент eNOS присутствует преимущественно в

клетках эндотелия кровеносных сосудов. Конститутивные nNOS и eNOS присутствуют в цитоплазме клеток, их активность зависит от уровня кальция в цитоплазме. В ответ на стимуляцию, конститутивные nNOS и eNOS синтезируют небольшое количество NO (пикомоли). Индуцибельная iNOS в нормальных условиях практически не экспрессируется, и обнаруживается только после стимуляции провоспалительными цитокинами (IL-1, TNF α , INF γ и др.) или в условиях окислительного стресса. В отличие от конститутивных изоформ, iNOS продуцирует NO на 3 порядка больше (наномоли) и ее активность не зависит от ионов Ca²⁺.

NO не имеет заряда, однако легко окисляется или восстанавливается с образованием NO⁺ и NO⁻ соответственно. NO хорошо растворим в воде (при 20 °C растворимость 46 мл в 1 л воды), его молекулы легко диффундируют в биологических средах. Радиус диффузии свободного NO (вне комплекса) около 0,1 мм. Среднее время жизни NO в биологических тканях 5–6 с, в физиологическом растворе 6–30 с, в деоксигенированной воде NO сохраняется в течение нескольких суток. Кроме того, NO образует стабильные комплексы с гемоглобином и сывороточным альбумином и таким образом может транспортироваться в организме, причем время существования таких комплексов в организме млекопитающих может достигать десятков минут [Augusto et al., 2002; Aicardo et al., 2016]. Повреждающее, действие NO во многом зависит от образования оксидов азота: нитрита (NO₂⁻), нитрата (NO₃⁻) и пероксинитрита (ONOO⁻). Продукция высоких концентраций NO (продуцируемые iNOS) в условиях окислительного стресса приводит к образованию высокотоксичного пероксинитрита (O₂⁻ + NO^{*} → ONOO⁻). Период полураспада пероксинитрита короткий (~ 10–20 мс), но достаточен для пересечения биологических мембран, диффузии от одного до двух диаметров клеток и обеспечения взаимодействия с наиболее важными биомолекулами. Пероксинитрит способен окислять липиды, белки (преимущественно остатки Cys, Met и Tyr) и нуклеиновые кислоты (атакуя как основания, так и сахаро-фосфатный остов, что приводит к одноцепочечным разрывам). Кинетические исследования показали, что пероксинитрит окисляет молекулы посредством двух механизмов. Во-первых, пероксинитрит и его протонированная форма пероксиазотная кислота (ONOOH), время полураспада которой около 1 сек [Gupta et al., 2009], напрямую окисляют молекулы посредством одно- или двухэлектронного окисления. Второй механизм опосредован образованием высокорепреактивных радикалов [Phaniendra et al., 2015]. Пероксинитрит может образовывать гидроксильный радикал и радикал диоксида азота (NO₂^{*}) во время гомолитиче-

ского разложения пероксиазотной кислоты ($\text{ONOO}^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{ONOOH} \rightarrow \text{OH}^\cdot + \text{NO}_2^\cdot$). Однако образование гидроксильного радикала по этому механизму, вероятно, играет лишь незначительную роль *in vivo* из-за особенно быстрой реакции пероксинитрита с диоксидом углерода (CO_2). Прямая реакция пероксинитрита с CO_2 дает нестабильный продукт нитропероксикарбонат (ONOOCO_2^-), который быстро распадается на $\text{CO}_3^{\cdot-}$ (карбонатный радикал) и NO_2^\cdot . Поскольку содержание углекислого газа в клетках составляет около 1 мМ (~ 10 000 раз больше, чем количество ионов водорода), образование карбонатных радикалов происходит *in vivo* с большей вероятностью, чем образование гидроксильного радикала из ONOOH . Карбонатный радикал более селективен, чем гидроксильный радикал, но инициирует многие повреждающие реакции, обычно приписываемые гидроксильному радикалу в биологической литературе, и, возможно, более значим как биологический окислитель [Augusto et al., 2002].

В норме, пероксинитрит образуется макрофагами (с участием iNOS и NADPH-оксидаз) и участвует в антимикробной и противоопухолевой активности иммунной системы [Xue et al., 2018]. В настоящее время, только для пероксиредоксинов и селенсодержащих глутатионпероксидаз показана способность нейтрализовать пероксинитрит [Radi, 2013].

Таким образом, окислительный, карбонильный и нитрозативные стрессы тесно связаны друг с другом, так или иначе участвуя в стимуляции некроза и апоптоза клеток [Aicardo et al., 2016]. По-видимому, в реальных условиях процессы окисления, карбоксилирования и нитрозилирования протекают одновременно.

3.1. Лучевая болезнь

Лучевая болезнь является классическим случаем свободнорадикальной патологии, причиной которой является окислительный стресс. Под лучевой болезнью понимают определенный комплекс проявлений поражающего действия ионизирующих излучений на организм. Разнообразие этих проявлений, прежде всего зависит от вида облучения (общее или местное, внешнее или инкорпорированное), от временного фактора (однократное, повторное, пролонгированное, хроническое облучение), от пространственного фактора (равномерное или неравномерное облучение), от облучаемого объема и локализация облучаемого участка [Yarmonenko, Vaison, 2004; Mu et al., 2018]. В 1954 г. Гершман Р. и со-

авт. предположили, что токсическое действие кислорода и радиоактивного излучения имеют общий механизм действия, который обусловлен образованием свободнорадикальных молекул [Gerschman et al., 1954]. Позже, исследование механизмов лучевой болезни явилось первым доказательством патофизиологического эффекта свободных радикалов *in vivo* [Bernheim, 1963].

Ионизирующее излучение – это потоки фотонов, элементарных частиц или осколков деления атомов, способных ионизировать вещество. Ионизация сопровождается превращением нейтральных атомов или молекул в ионы или радикалы (Рис. 1). Ионизирующее излучение имеет прямое и не прямое воздействие на живые организмы. Прямое воздействие включает повреждение биологических молекул за счет непосредственного контакта с квантом или частицей ионизирующего излучения. Непрямое воздействие ионизирующего излучения связано с образованием в клетке продуктов радиолитической воды (свободных радикалов, активных формы кислорода) и различных вторичных продуктов АФК (гидропероксиды, нитрозанты, дикарбонилы и др.). На 100 электронвольт поглощенной энергии ионизирующего излучения в водной среде в среднем образуется: 2.4 гидроксильных радикала HO^{\bullet} , 2.8 сольватированных электрона, 0.4 атомов водорода, 0.8 молекул H_2O_2 и других соединений [Ward, 1988]. Примечательно, что помимо генерирования радикалов и АФК, вызванного ионизирующим излучением (экзогенный источник), после облучения наблюдается рост эндогенных АФК (преимущественно митохондриальных), связанный с нарушением функции электрон-транспортной цепи митохондрий (утечка электронов на кислород и генерация супероксид анион-радикала $\text{O}_2^{\bullet-}$) и активацией ряда оксидаз: NADPH-оксидаз (NOX), моноаминоксидаз (MAO), ксантиноксидаз (XO), циклооксигеназ (COX), миелопероксидазы (MPO), NO-синтаз (NOS) и др. Рост уровня АФК (вызванный как экзогенными, так и эндогенными факторами) приводит к развитию окислительного стресса в облученных тканях. Развитие окислительного стресса сопровождается массовой гибелью активно делящихся клеток (особенно клеток костного мозга, половых клеток, эпителия кишечника и бронхов), причем это может быть, как программируемая гибель (апоптоз, пироптоз), так и некроз, в зависимости от дозы облучения [Dong et al., 2020].

При действии ионизирующей радиации скорость образования АФК и вторичных продуктов окисления зачастую значительно превышает способность живых клеток к их элиминации, что приводит к массовому повреждению нуклеиновых кислот, белков и липидов. Повреждение

биомакромолекул является одной из основных причин пострадиационной гибели. На практике, для предотвращения пагубных последствий действия ионизирующей радиации используются радиозащитные препараты. По способу применения и механизму действия, можно выделить два основных класса радиозащитных соединений: 1) соединения, предотвращающие повреждение (радиопротекторы – применяются до облучения) и 2) соединения, стимулирующие пострадиационное восстановление (радиопротекторы – применяются после облучения). К первому классу можно отнести, низкомолекулярные антиоксиданты (полифенолы, некоторые витамины, сульфгидрильные соединения и т.п.), ферменты антиоксиданты, стабилизаторы молекул, индукторы синтеза антиоксидантов, соединения вызывающие гипоксию и т.д. Ко второму классу относится большое количество соединений влияющих (преимущественно цитокины, гормоны) на пострадиационное восстановление: антиапоптотические агенты, соединения индуцирующие пролиферацию клеток, соединения участвующие в химической репарации и т.д. [Sharapov et al., 2019]. Радиозащитные соединения представлены достаточно гетерогенной группой соединений, которые отличаются по структуре, механизму действия и эффективности. Более подробно с основными классами радиозащитных соединений можно ознакомиться в обзорных работах [Vasin, Ushakov, 2020]. Также следует отметить, что наиболее чувствительны к воздействию ионизирующего излучения активно делящиеся клетки (эпителиальные, стволовые и эмбриональные), поэтому именно этот тип клеток особенно нуждается в радиозащите. В настоящее время, разработка новых эффективных радиозащитных препаратов, направленных в первую очередь на сохранение этих типов тканей, остается важной и актуальной задачей. При этом, особый интерес вызывает направление в создании радиопротекторов на основе ферментов-антиоксидантов [Sharapov et al., 2019], т.к. они отличаются низкой токсичностью и высокой эффективностью.

В ответ на действие ионизирующего излучения и рост уровня АФК в клетке, происходит адаптивная индукция синтеза ферментов-антиоксидантов. В частности, в клетках китайского хомячка CHO, в ответ на облучение наблюдается мощная индукция экспрессии генов супероксиддисмутаз (MnSOD, Cu/ZnSOD) и глутатионпероксидазы (GPx). Суперэкспрессия указанных генов (трансфекция клеток экспрессирующих вектором с соответствующим геном) приводит к росту радиорезистентности клеток. Показано, что после облучения рентгеновскими лучами дозой 10 Гр, выживаемость трансфицированных клеток CHO, с супер-

экспрессией GPx, выросла на 40%, по сравнению с исходными клетками [Sun et al., 1998]. Кроме того, в экспериментах с клетками CHO АА8 было показано, что внесение соединений селена в культуральную среду приводило к существенному росту (в 4 раза) активности GPx, увеличению радиорезистентности клеток и снижению уровня радиационно-индуцированных мутаций [Diamond et al., 1995; Verma et al., 2018]. В то же время, в других экспериментах было показано, что рост экспрессии GPx в клетках лимфобластомы человека (Sup-T1) и китайского хомячка (CHO АА8) приводит к увеличению активности этого фермента в 8 и 30 раз соответственно, но радиорезистентность при этом меняется незначительно [Mansur et al., 2001]. Снижение уровня эндогенных глутатионпероксидаз до 17% (вызванного диетой с дефицитом селена) и глутатиона до 3–4% (комбинацией ингибиторов бутионинсульфоксимины и диэтилмалеата) снижает радиорезистентность клеток почек мыши в 1,4 раза [Stevens et al., 1989].

Таким образом, глутатионпероксидазы несомненно играют важную роль в радиорезистентности клеток животных, которая в первую очередь связана с их антиоксидантной активностью. Для GPx показана высокая пероксидазная активность и наиболее эффективный механизм катализа среди пероксидаз (особенно для селенсодержащих GPx), позволяющий восстанавливать пероксид водорода или органические гидропероксиды до воды или соответствующих спиртов (Рис. 1), в широком диапазоне концентраций [Торро et al., 2009]. Суперэкспрессия GPx позволяет эффективно элиминировать возникшие после облучения гидропероксиды и зачастую приводит к росту радиорезистентности клеток, что особенно характерно для различных форм раковых клеток [Jiao et al., 2017]. Например, в радиорезистентных клетках глиобластомы человека U251 активность GPx примерно в 4 раза выше, чем в исходных глиальных клетках (Lee et al., 2004). Тем не менее, роль глутатионпероксидаз в канцерогенезе неоднозначна, т.к. для некоторых изоформ (GPx1, GPx3, GPx4) показана онкосупрессорная, а для других (GPx2) онкогенная роль [Jiao et al., 2017].

Высокая радиозащитная способность семейства пероксиредоксинов была показана в серии экспериментов на животных и клеточных моделях. Установлено, что при воздействии рентгеновского излучения на кожу крыс происходит рост уровня пероксиредоксинов в клетках [Zhang et al., 2014]. Рентгеновское облучение семенников мыши приводит к многократному усилению экспрессии *PRDX1* и *PRDX2* [Lee et al., 2002]. Кроме того, было показано, что у облученных мышей значитель-

но возрастает уровень Prx1, Prx2 в мозгу [Miura et al., 2007], а в печени и селезенке значительно возрастает уровень Prx6 [An et al., 2006].

Было обнаружено, что многие линии раковых клеток, обладающих высокой устойчивостью к действию ионизирующего излучения, имеют высокий уровень экспрессии пероксиредоксинов. Например, установлена ведущая роль Prx2 в радиоустойчивости клеток рака прямой кишки (HCT116, Caco-2, T84 и LoVo) и молочной железы (MCF+FIR3) человека [Cerdea et al., 2017]. При агрессивной, радиорезистентной форме рака мозга (глиобластоме) наблюдается высокий уровень экспрессии *PRDX4*. Значительное повышение уровня Prx6 обнаружено при различных формах рака (мозга, легких, молочной железы и т.д.), многие из которых обладают высокой радиоустойчивостью [Sharapov, Novoselov, 2019].

В экспериментах *in vitro* и *in vivo* было показано, что подавление экспрессии генов *PRDX1-6* в раковых клетках приводило к потере их радиорезистентности [Cerdea et al., 2017; Chen et al., 2006], что позволяет расценивать их в качестве потенциальных мишеней при радиотерапии рака [Zhang et al., 2009]. Так, подавление экспрессии *PRDX2* существенно снижало устойчивость раковых клеток Caco-2 и MCF+FIR3 к действию радиации [Cerdea et al., 2017]. Нокдаун *PRDX4* в клетках глиобластомы приводил к повышению чувствительности клеток к действию ионизирующего излучения, подавлению роста и метастазирования опухолей [Jia et al., 2019]. Нокдаун *PRDX6* подавляет рост клеток (A549 и NCI-H460) и стимулирует апоптоз [Ho et al., 2010], а нокдаун *PRDX6* в клетках эмбриональных фибробластов мыши 3T3 снижает их устойчивость к действию рентгеновского излучения на 40–50% [Sharapov et al., 2021].

Радиозащитное действие эндогенных пероксиредоксинов реализуется благодаря их способности восстанавливать широкий спектр неорганических и органических пероксидов, а также их участию в сигнально-регуляторных путях клетки, опосредованных гидропероксидами и через образование межмолекулярных дисульфидных связей. Кроме того, в условиях окислительного стресса 2-Cys пероксиредоксины (Prx1–4) проявляют шаперонную активность, которая препятствует инактивации и агрегации белков, тем самым сохраняя жизненно важные функции клетки [Sharapov, Novoselov, 2019] (Рис. 1).

3.2. Свободнорадикальные патологии сердечно-сосудистой системы

Болезни системы кровообращения являются главной причиной смертности от неинфекционных болезней в различных странах. В России ее показатели составляют в среднем 55% от общей смертности, при этом в 90% случаев причиной являются ишемическая болезнь сердца (ИБС) и инсульт мозга. Известно, что как с морфологической, так и с патогенетической точки зрения решающую роль в формировании ИБС и инсульта играет атеросклероз. К настоящему моменту накоплены многочисленные данные, указывающие на ведущую роль процесса перекисного окисления липидов (ПОЛ), в инициации и развитии сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) атеросклеротического генеза [Lankin, Tikhaze, 2016].

Атеросклероз. Атеросклероз – хроническое заболевание артерий, сопровождающееся образованием атероматозных бляшек на стенке сосудов, суживающих их просветы и способствующих тромбообразованию и нарушению кровотока. Предположение о том, что свободнорадикальные процессы играют важную роль в патогенезе атеросклероза были высказаны еще в конце 50-х годов прошлого века, тем не менее, конкретные данные, подтверждающие увеличение содержания первичных продуктов свободнорадикального окисления – органических гидропероксидов в сосудистой стенке при атерогенезе были получены лишь через два десятилетия [Lankin, Tikhaze, 2016; Lankin, Tikhaze, 2003]. В настоящее время общепринято, что атеросклероз является свободнорадикальной патологией [Mushenkova et al., 2021]. Было показано, что активация свободнорадикальных процессов, после тотального облучения мышей рентгеновским излучением, приводит к образованию в сосудах бляшек, подобных атеросклеротическим [Tribble et al., 1999]. Применение антиоксидантов в экспериментальных моделях предотвращало образование атеросклеротических бляшек и снижало риск возникновения заболевания [Mushenkova et al., 2021]. Одним из ведущих факторов, играющих важную роль в этиологии и патогенезе атеросклероза является накопление окисленных липопротеинов низкой плотности (ЛНП). Гиперлипидемия, сопровождающая развитие атеросклероза, создает условия для значительного увеличения содержания субстрата окисления – полиеновых липидов в крови, что неизбежно должно приводить к увеличению скорости их свободнорадикального окисления [Lankin, Tikhaze,

2016]. В работах, выполненных в Кардиологическом центре РАМН, впервые было показано, что в крови и атеросклеротически поврежденной стенке сосудов больных атеросклерозом обнаруживается существенное увеличение содержания продуктов свободнорадикального окисления–липогидропероксидов (LOOH), преимущественно 13-гидропероксилинолеата [Lankin, Tikhaze, 2003]. При детальном анализе методом ВЭЖХ на колонке с хиральной фазой по соотношению стереоизомеров удалось установить, что выявляемые при атеросклерозе LOOH в тканях образуются исключительно в результате неферментативного перекисного окисления липидов [Lankin, Tikhaze, 2016]. Одновременно у больных атеросклерозом было обнаружено снижение активности утилизирующего LOOH фермента – эритроцитарной Se-содержащей глутатионпероксидазы (GPx), причем в атеросклеротически поврежденной стенке сосудов также наблюдали уменьшение активности GPx и Cu/Zn-супероксиддисмутазы (Cu/Zn-SOD), прогрессирующее с нарастанием степени атеросклеротического повреждения [Lankin et al., 2007]. Было показано, что у больных атеросклерозом ЛНП были значительно более окислены, чем частицы ЛНП практически здоровых людей [Lankin, Tikhaze, 2016]. Окисление ЛНП в плазме крови может происходить как путем многоступенчатой активации различных оксидаз (НАДН-оксидаз, ксантинооксидазы, NO-синтазы, липоксигеназы и миелопероксидазы), так и за счет автоокисления при катализе ионами металлов переменной валентности на фоне снижения антиоксидантной защиты. Известно, что свободнорадикальное окисление углеводов протекает двухстадийно, причем на первой стадии образуются первичные продукты свободнорадикального окисления – нестойкие органические гидропероксиды, которые подвергаются дальнейшей окислительной деструкции с образованием карбонильных соединений. Таким образом, окислительный стресс при атерогенезе, характеризующийся резким увеличением содержания LOOH в тканях, неизбежно переходит в карбонильный стресс, сопровождающийся накоплением вторичных продуктов липопероксидации, таких как гидрокси-ноненали и малоновый диальдегид (МДА) [Lankin et al., 2007]. Альдегидные группы МДА способны легко реагировать с аминоклассами биополимеров (включая нуклеиновые кислоты), вследствие чего МДА может проявлять свойства природного мутагена. МДА также может вызывать модификацию белков, образуя внутри- и межмолекулярные сшивки в их молекулах. В частности, было показано, что МДА способен модифицировать апопротеин В-100 частиц ЛНП [Lankin et al., 2007]. Окислительно модифицированные частицы

ЛНП, взаимодействуя со скавенджер-рецепторами макрофагов стенки сосудов, эффективно захватываются этими клетками и накапливаются в их липидных вакуолях. Вследствие этого, макрофаги превращаются в так называемые «пенистые клетки», образуя липидные кластеры (зоны липодоза) – первичные предатеросклеротические повреждения стенки сосудов. Было установлено, что ферментативное окисление полиеновых ацилов фосфолипидов наружного слоя частиц ЛНП не вызывает увеличения скорости захвата ЛНП культивируемыми макрофагами, тогда как МДА-модифицированные ЛНП поглощаются этими клетками с экстремально высокой эффективностью. Из этого следует, что ведущую роль в атерогенном повреждении стенки сосудов играют не окисленные ЛНП (обогащенные ЛООН-производными фосфолипидов в наружном слое частиц), а частицы ЛНП, включающие МДА-модифицированный апопротеин В-100 [Lankin et al., 2012]. Кроме того, в последние годы стало понятно, что окисленные ЛНП (по всей видимости, карбонил-модифицированные ЛНП) играют важную роль в развитии дисфункции эндотелия [Chistiakov et al., 2016]. Скавенджер-рецептор эндотелиоцитов LOX-1 может взаимодействовать с частицами окислительно модифицированных ЛНП и этот комплекс вызывает экспрессию NADPH-оксидазы, которая генерирует $O_2^{\cdot-}$, вызывая повреждение эндотелиальных клеток, выстилающих внутреннюю поверхность сосудов. Следовательно, начальные стадии дисфункции эндотелия сосудов – процесса, играющего ведущую роль в атерогенезе, напрямую зависят от образования окислительно модифицированных ЛНП. Следует отметить, что широкое использование в последние годы антиатерогенных холестерин-снижающих препаратов из класса ингибиторов β -гидрокси, β -метил-глутарил-коэнзим А редуктазы (статинов) вызывает необходимость дополнительной защиты ЛНП от окисления [Bernheim, 1963]. Статины ингибируют не только биосинтез холестерина, но и синтез коэнзима Q, восстановленная форма которого защищает наружный фосфолипидный монослой частиц ЛНП от окисления, т.о., при терапии статинами защита частиц ЛНП от окисления должна быть ослаблена. Увеличение окисляемости ЛНП при терапии статинами было подтверждено [Bernheim, 1963], причем дотации коэнзима Q или синтетического фенольного антиоксиданта пробуккола полностью нивелировали негативное действие статинов по индукции свободнорадикального окисления ЛНП *in vivo* [Bernheim, 1963]. Коэнзим Q, следовательно, играет ведущую роль в защите частиц ЛНП от свободнорадикального окисления, причем восстановление образующихся семихинонных радикалов обеспечивается

при их взаимодействии с аскорбатом, присутствующим в плазме крови в высокой концентрации [Lankin, Tikhaze, 2016]. Эта система *биорегенерации* настолько эффективна, что для обеспечения защиты ЛНП от окисления достаточно присутствие всего нескольких молекул коэнзима Q на частицу липопротеина. Поскольку биорегенерация фенолов осуществляется *неферментативно*, очевидно, что эта система может участвовать также и в регенерации синтетических фенольных антиоксидантов. Действительно, показано, что в присутствии аскорбиновой кислоты происходит эффективное восстановление радикалов синтетического антиоксиданта пробукола *in vitro* и *in vivo* [Shumaev et al., 1997]. Необходимо подчеркнуть, что, хотя витамин E транспортируется в организме частицами ЛНП, он не участвует в защите ЛНП от окисления, поскольку витамин E (как и другие жирорастворимые витамины) переносится в гидрофобном ядре частицы и не может восстанавливать гидропероксидрадикалы, образующиеся в полиеновых ацилах фосфолипидов, т.к. окисленные ацилы вследствие увеличения полярности «выдвигаются» в водную фазу [Lankin et al., 2002]. Отсутствие влияния высоких доз введенного витамина E на окисляемость частиц ЛНП *in vivo* подтверждена нами экспериментально [Lankin et al., 2003]. Таким образом, исследования по использованию антиоксидантов (преимущественно витамина E) при атеросклерозе, исходившие из правильной установки о необходимости подавления окислительной модификации ЛНП, не могли увенчаться успехом и разочарование в результатах этих исследований вполне понятно, поскольку проекты по использованию антиоксидантов были весьма трудоемкими и затратными [Chen et al., 2006]. На основании вышеизложенного можно утверждать, что перспективы использования низкомолекулярных фенольных антиоксидантов (включая синтетические) в кардиологии далеко не исчерпаны, однако будущие исследования в этой области должны опираться на теоретические знания об окислительном метаболизме биофенолов в организме.

В конечном итоге, $O_2^{\cdot-}$ зависимое повреждение эндотелиоцитов провоцирует стимуляцию апоптоза и гибель клеток эндотелия, что, в свою очередь, облегчает проникновение окислительно модифицированных ЛНП в стенку сосудов, вызывая их предатерогенное (липоидозное) повреждение [Chistiakov et al., 2016]. Таким образом, можно утверждать, что развитие окислительного и последующего карбонильного стресса при атерогенезе, приводит к нарушению сбалансированности процессов образования и утилизации физиологически активных липогидропероксидов и является ключевым фактором, вызывающим предатерогенные

повреждения стенки сосудов и последующее формирование атеросклеротических бляшек (Рис. 4) [Lankin et al., 2018].

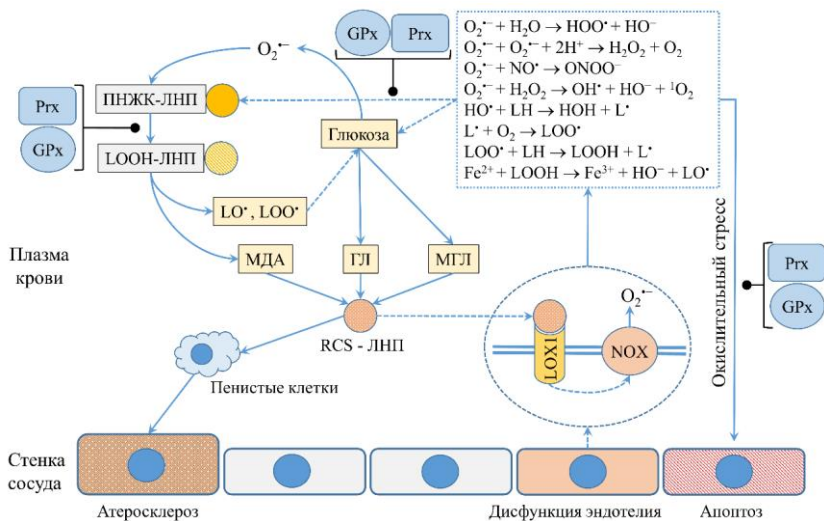


Рис. 4. Механизм развития атеросклероза, роль пероксиредоксов (Prx) и глутатионпероксидаз (GPx) в этом процессе. Подавление свободнорадикальных реакций под действием Prx и GPx отмечено линией с точкой. Стимулирующий эффект отмечен обычной стрелкой, опосредованный эффект отмечен пунктирной стрелкой. LOX-1 (lectin-type oxidized LDL receptor 1) – рецептор окисленных липопротеинов низкой плотности, NOX-NADPH-оксидаза. ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты, ЛНП – липопротеины низкой плотности. МДА – малоновый диальдегид, ГЛ – глиоксаль, МГЛ – метилглиоксаль, RCS-ЛНП – карбонил-модифицированные ЛНП. Представлены основные продукты окисления в плазме крови при атеросклерозе под действием супероксид анион-радикала: гидроксильный радикал ($HO\cdot$), липоалкил радикалы ($L\cdot$), липоксил радикалы ($LO\cdot$), пероксил радикалы ($LOO\cdot$) и липогидропероксиды (LOOH), пероксид водорода (H_2O_2), пероксинитрит ($ONOO^-$). GPx и Prx осуществляют восстановление H_2O_2 , $ONOO^-$ и LOOH, тем самым препятствуя развитию окислительного стресса и прогрессированию атеросклероза [Sharapov et al., 2021]

Известно, что основную функцию по нейтрализации липогидропероксидов, являющихся пусковым механизмом атерогенеза, выполняют два семейства пероксидаз: глутатионпероксидазы и пероксиредоксины. Среди глутатионпероксидаз наиболее изученной в отношении атероген-

неза является широко распространенная изоформа GPx1. Нарушение экспрессии гена GPx1 провоцирует повышенную восприимчивость эндотелиоцитов к окислительным агентам. У мышей, нокаутных по ApoE и GPx1 ускоряется процесс атеросклеротического поражения, в то время как у трансгенных животных с повышенной экспрессией GPx1 наблюдали улучшение состояния эндотелия [Sena et al., 2013]. Следует отметить, что активность GPx (как и большинства других ферментов) может ингибироваться дикарбонилами, образующимися в ходе перекисного окисления липидов. Дикарбонилы, образуя межмолекулярные сшивки в белках, приводят к конформационным изменениям, что негативно влияет на активность ферментов [Lankin et al., 2017].

Вероятно, пероксиредоксины играют ключевую роль в ферментативной антиоксидантной защите эндотелиоцитов, на что указывает их высокий уровень экспрессии, на порядки превосходящий уровень экспрессии других ферментов-антиоксидантов [Sharapov et al., 2016]. Показано, что дефицит Prx1 приводит к развитию воспалительных процессов, а также повреждению сосудов и росту тромбообразований (Kisucka et al., 2018). Мыши, нокаутированные по генам *PRDX1* и *ApoE* имеют большие атеросклеротические поражения сосудов, нежели мыши, нокаутированные только по одному гену – *ApoE* (Kisucka et al., 2018). Кроме того, нокаут *PRDX1* приводит к развитию дефектов гладкомышечных клеток сосудов (VSMC) [IhidaStansbury et al., 2015]. Недостаток Prx2 также усугубляет атеросклероз у мышей, нокаутных по ApoE [Park et al., 2011]. Экстраклеточная форма Prx4 связывается с поверхностью эндотелиальных клеток (через гепарансульфат) и обеспечивает защиту клеток от внеклеточных АФК [Jeong et al., 2021]. Мыши нокаутные по гену *PRDX6* имеют значительно большее количество атеросклеротических поражений аорты, чем мыши дикого типа [Wang et al., 2003]. Таким образом, значительное число экспериментальных данных указывает на важную антиатерогенную роль Prx1–6 в клетках эндотелия [Burillo et al., 2016]. Следует также отметить, что пероксиредоксины (как и в случае глутатионпероксидазы) ингибируются низкомолекулярными дикарбонилами [Lankin et al., 2019]. Очевидно, что подавление активности Prx1–6 ослабляет антиоксидантную защиту эндотелиальных клеток, способствуя прогрессированию окислительного стресса и дальнейшему повреждению эндотелия, приводящему к его дисфункции.

Диабет. Диабет – это системное заболевание, связанное с нарушением в обмене углеводов. Диабет I типа или инсулин-зависимый диабет

связан с деструкцией бета-клеток островков Лангерганса, что влечет за собой недостаточную секрецию инсулина. Диабет II типа, или инсулин-независимый диабет, связан с изменением чувствительности клеток к инсулину. Одним из признаков диабета является кетоз и/или ацидоз. В свою очередь и кетоз и большая часть случаев развития ацидоза связана с развитием окислительного стресса [Maruhashi, Higashi, 2021].

При дефиците инсулина развивается гипергликемия. При гипергликемии существенно повышается концентрация свободной глюкозы в крови и тканях, что приводит к более интенсивному гликированию белков, в первую очередь: гемоглобина, альбуминов, коллагена, кристаллинов и апопротеина ЛНП. К наиболее распространенным конечным продуктам гликирования относятся карбоксиметиллизин, карбоксиэтиллизин и аргпиримидин [Vladimirov, Proskurnina, 2009]. При взаимодействии продуктов гликирования с рецепторами увеличивается продукция цитокинов (TNF α , IL-1, IL-6, молекул адгезии, факторов роста), которые нарушают функцию эндотелия сосудов.

Кроме того, интенсивное гликирование белков приводит к активации ряда оксидаз (NADPH-оксидазы, глюкооксидазы), в результате чего возрастает продукция свободных радикалов, АФК/РФА в клетке. На модели аллоксанового диабета, основанной на повышенном генерировании супероксидных анион-радикалов ($O_2^{\cdot-}$) в β -клетках поджелудочной железы, было установлено, что гипоинсулинемия и гипергликемия у животных в этих условиях непосредственно связаны со свободнорадикальным повреждением и снижением активности Cu/Zn-SOD и GPx. В связи с этим показательно, что у морских свинок (в отличие от крыс, резистентных к действию аллоксана) активность Cu/Zn-SOD и GPx в поджелудочной железе в несколько раз выше, чем у крыс, а индукция синтеза Cu/Zn-SOD и GPx в β -клетках поджелудочной железы крыс делает этих животных резистентными к действию аллоксана, подобно морским свинкам [Lankin et al., 2004]. Рост уровня окислительных процессов, подавление активности антиоксидантных ферментов, приводит к развитию окислительного стресса, который снижает эффективность сигнально-регуляторной функции инсулина, что способствует еще большему росту уровня глюкозы в крови. При диабете наблюдается увеличение окислительной модификации ЛНП, что происходит вследствие соокисления глюкозы с полиеновыми липидами, которое сопровождается образованием $O_2^{\cdot-}$ и липидных радикалов. Кроме того, у больных диабетом происходит увеличение окислительной деструкции молекул ДНК, характеризующееся уменьшением длины теломеров в ядерных клетках крови с од-

новременным увеличением уровня конечного продукта окислительного катаболизма ДНК – 8-гидроксигуанина в крови и моче, что сопряжено с вторичной индукцией окислительного стресса у этих больных [Lankin et al., 2018].

Активация окислительных процессов приводит к интенсификации перекисного окисления липидов и аутоокисления сахаров, что способствует росту уровня дикарбониллов (МДА, глиоксаль и метилглиоксаль) и развитию карбонильного стресса. Диабетическая гипергликемия сопровождается интенсификацией глиоксилирования, т.е. процесса аутоокисления глюкозы, в результате которого образуется дикарбонил глиоксаль (гомолог МДА). Активация гликолиза при гипергликемии приводит к накоплению триозофосфатов, при ферментативном превращении которых образуется изомер МДА – метилглиоксаль [Lankin et al., 2014]. Кроме того, свободные радикалы, образующиеся при разложении органических гидропероксидов могут индуцировать неферментативное образование метилглиоксала при радикальной атаке промежуточных продуктов гликолиза – фосфор-производных глюкозы [Lankin et al., 2019]. У больных сахарным диабетом 2 типа обнаруживается значительное увеличение глиоксала и метилглиоксала в плазме крови. Эти дикарбонилы, подобно МДА, могут вызывать модификацию апопротеина В-100 ЛНП, которая опознается scavenger-рецепторами макрофагов и, тем самым, индуцирует накопление ЛНП в стенке сосудов с последующим развитием липоидозных повреждений. При терапии больных сахарным диабетом типа 2 с использованием метформина, способного утилизировать метилглиоксаль, уровень окисления и карбонильной модификации ЛНП был значительно ниже, чем при терапии другими сахароснижающими лекарственными препаратами [Lankin et al., 2007].

Известно, что МДА, глиоксаль и метилглиоксаль легко проникают через мембрану клеток и способны ингибировать внутриклеточные антиоксидантные ферменты. Примечательно, что глиоксаль и метилглиоксаль, накапливающиеся при диабетической гипергликемии, являются более эффективными ингибиторами большинства антиоксидантных ферментов, по сравнению с МДА [Lankin et al., 2019]. Интересно, что несмотря на структурное сходство, МДА, глиоксаль и метилглиоксаль оказывают разное влияние на физико-химические характеристики белков. Например, метилглиоксаль в большей степени, чем глиоксаль и другие карбонильные соединения, влияет на кинетические параметры катализируемой GPx реакции восстановления пероксида водорода. Было показано, что при взаимодействии аминокислот белка с метилглиокса-

лем образуется супероксидный радикал и другие свободнорадикальные интермедиаты, которые могут усиливать модифицирующее действие метилглиоксала. По-видимому, основное ингибирующее действие дикарбониллов на ферменты связано с модификацией структуры белков. В результате взаимодействия дикарбониллов с аминокруппами белков (реакция Майяра) образуются межмолекулярные сшивки, меняющие конформацию и нативную структуру ферментов. Благодаря этим свойствам, карбониллы, по сравнению с гидропероксидами, являются более сильными модификаторами. Было показано, что у больных сахарным диабетом 2 типа наблюдается резкое падение активности эритроцитарных антиоксидантных ферментов: каталазы, Cu/Zn-SOD и GPx [Lankin et al., 2016], причем при терапии больных сахарным диабетом типа 2 с использованием метформина, способного утилизировать метилглиоксаль, активность эритроцитарной Cu/Zn-SOD значительно возростала [Oberley, 1988].

Несомненно, глутатионпероксидазы являются важнейшими антиоксидантами, однако их роль в диабете неоднозначна. Например, нокаут GPx1 у мышей вызывает диабетоподобный фенотип 1 типа, в то время как его суперэкспрессия приводит к фенотипу диабета 2 типа [Huang et al., 2018]. В другом исследовании было показано, что повышенный уровень GPx1 препятствует патологическому ремоделингу левого желудочка, вызванного диабетом [Matsushima et al., 2006]. Недостаток GPx3 ассоциирован с ростом уровня пероксидов в крови и снижением сигнальной функции инсулина [Huang et al., 2018]. У трансгенных мышей, с повышенным уровнем экспрессии GPx4 (в 2–3 раза относительно нормы) наблюдалась повышенная устойчивость β -клеток к длительным повышению уровня свободных жирных кислот в крови, вызывающих поражение поджелудочной железы [Koulajian et al., 2013].

Совсем недавно было показано, что Prx1 является важнейшим антиоксидантным ферментом β -клеток поджелудочной железы. Нокаут гена *PRDX1* с помощью siRNA или ингибирование фермента Prx1 с помощью коноидина А, увеличивало чувствительность клеток к действию H_2O_2 и пероксинитрита. Напротив, суперэкспрессия *PRDX1* приводила к резистентности β -клеток крыс к окислительному стрессу [Stancill et al., 2020]. Суперэкспрессия *PRDX4* также увеличивала выживаемость β -клеток у трансгенных мышей, нормализовала морфофункциональное состояние поджелудочной железы в ответ на действие стрептозотоцина, часто используемого для моделирования диабета на животных [Ding et al., 2010]. У мышей, нокаутных по гену *PRDX6*, развивался фенотип,

сходный с ранней стадией диабета, вызванной как сниженной глюкозо-зависимой секрецией инсулина, так и повышенной инсулинорезистентностью. Нарушение сигнализации инсулина у таких мутантных животных приводило к снижению поглощения глюкозы мышцами, наблюдались морфологические и ультраструктурные изменения островков Лангерганса, печени, а также рост перекисного окисления липидов и уровня провоспалительных цитокинов в тканях [Pacifci et al., 2014].

Общность диабета и атеросклероза. Нарушения углеводного обмена при диабете могут стимулировать развитие карбонильного стресса и интенсификацию атерогенной модификации ЛНП. Это объясняет известный факт прогрессирования атеросклероза при наличии диабета, причем, в соответствии с полученными нами данными, можно высказать гипотезу о едином молекулярном механизме повреждения стенки сосудов при атеросклерозе и сахарном диабете с участием карбонил-модифицированных ЛНП. Следовательно, молекулярный механизм повреждения стенки сосудов при атеросклерозе и сахарном диабете схож и состоит в увеличении окислительной модификации ЛНП, вызванной низкомолекулярными карбонильным продуктам свободнорадикального окисления липидов при атеросклерозе или автоокислении молекул глюкозы при сахарном диабете (Рис. 4). Таким образом, выдвигаемая нами гипотеза удовлетворительно объясняет возможность индукции атерогенеза при диабете, а также тот факт, что наличие диабета сильно увеличивает риск возникновения атеросклероза [Lankin et al., 2014].

Приведенные данные позволяют полагать, что образование окислительно модифицированных ЛНП является ключевым фактором атерогенеза и дисфункции эндотелия – процессов, играющих ключевую роль в развитии атеросклероза и диабета. Антиоксидантная терапия, как способ противодействия развитию окислительного стресса у диабетических пациентов была предложена более десяти лет назад. Однако опыт показывает, что классические антиоксиданты, типа витаминов Е и С, недостаточно эффективны для нейтрализации окислительных процессов у больных диабетом [Maruhashi, Higashi, 2021]. Очевидно, что необходимо применение препаратов, способных нейтрализовать не только окислительный, но и карбонильный стресс.

3.3. Применение экзогенных ферментов-антиоксидантов при свободнорадикальных патологиях

Вышеописанные свободнорадикальные патологии, несмотря на различия в клинических проявлениях, имеют общий механизм инициации – свободнорадикальные процессы и окислительный стресс. После понимания механизмов развития окислительного стресса, начиная с 50-х годов XX века начались активные работы по созданию препаратов антиоксидантного действия. На сегодняшний день изучено несколько тысяч соединений, как природного, так и синтетического происхождения, обладающих антиоксидантной активностью [Menshchikova et al., 2006]. Низкомолекулярные препараты антиоксидантного действия широко используются в современной медицине. Однако они не всегда эффективны, что связано с их быстрой инактивацией, т.к. прореагировав с АФК, они зачастую необратимо окисляются и исключаются из пула антиоксидантов. Такие свойства низкомолекулярных антиоксидантов требуют их применения в высоких концентрациях, что также не всегда возможно из-за проявления токсичных свойств в этих дозах [Vasin, Ushakov, 2019]. Более того, некоторые из низкомолекулярных антиоксидантов (например, аскорбиновая кислота) в определенных условиях (гипероксия, присутствие ионов металлов переменной валентности и т.д.) могут проявлять прооксидантную функцию, или же, прореагировав с первичными радикалами, превратиться во вторичный радикал. Ферменты лишены такого недостатка, например, одна молекула каталазы способна восстановить несколько миллионов молекул H_2O_2 за 1 мин не теряя своих каталитических свойств. Кроме того, ферменты не обладают цитотоксичностью, как большинство низкомолекулярных соединений (особенно синтетического происхождения) [Vasin, Ushakov, 2019]. В этой связи, создание терапевтических препаратов антиоксидантного действия на основе ферментов представляется перспективным направлением. Ранее мы отмечали основные типы ферментов – антиоксидантов в организме млекопитающих [Sharapov et al., 2021]. С практической точки зрения, наибольший интерес вызывают супероксиддисмутазы, каталаза, а также другие пероксидазы, способные восстанавливать органические и неорганические гидропероксиды.

Супероксиддисмутазы и их производные. После открытия Фридричем и МакКордом в 1969 г. нового класса ферментов – супероксиддисмутаз, и понимания их важной антиоксидантной функции, начались ра-

боты по их использованию в качестве антиоксидантных агентов. Уже спустя 5 лет после открытия SOD, была проведена первая работа, посвященная исследованию радиозащитных свойств Cu/Zn-SOD из эритроцитов быка. Внутривенное введение супероксиддисмутаза (Mn-SOD, Cu/Zn-SOD) до воздействия радиации уменьшает уровень радиационных повреждений геномной ДНК, защищает клетки костного мозга, снижает степень поражения слизистых и способствует росту выживаемости животных [Gudkov, 2015]. Внутривенное введение мышам рекомбинантной MnSOD человека (в дозе 0,08 мг/кг) защищает животных от летальных доз радиации. Более того, рекомбинантная MnSOD защищает нормальные клетки от радиации, но радиосенсибилизирует раковые, что может найти применение в лучевой терапии рака [Borrelli et al., 2009]. Подкожное введение рекомбинантной MnSOD эффективно защищает клетки мозга от действия гамма-излучения и потока нейтронов, имитирующих уровни излучения, которым космонавты могут подвергаться во время длительных миссий в дальний космос. Нейропротекторный эффект рекомбинантной MnSOD, помимо антиоксидантного действия, обусловлен активацией сфингомилиназы (SMase) [Cataldi et al., 2019]. Этой же группой исследователей была показана нефропротекторная активность рекомбинантной MnSOD человека на животной модели острого почечного поражения, что проявлялось в сохранении их нормального морфофункционального состояния [Pisani et al., 2014]. Рекомбинантная Cu/Zn содержащая супероксиддисмутаза человека (SOD3) применяется в настоящее время в качестве лекарственного препарата (глазных капель и раствора для инфузий) при открытоугольной глаукоме, аденовирусном поражении глаз и вторичных кератопатий, а также в комплексной профилактике развития интраоперационных осложнений при эндопротезировании крупных суставов. Применение рекомбинантной SOD3 человека подавляет свободнорадикальные процессы, окисление белков и липидов, нормализует окислительно-восстановительный статус тканей и предупреждает гибель клеток) [Zharikov et al., 2013].

Несмотря на важную антиоксидантную роль супероксиддисмутаза, у этих ферментов есть существенное ограничение, связанное с тем, что они нейтрализуют только супероксидный анион-радикал, тогда как в общем пуле АФК при окислительном стрессе значительная часть представлена гидропероксидами, которые супероксиддисмутаза не способна нейтрализовать. Это подвигнуло исследователей модифицировать SOD с целью расширения ее субстратной специфичности, путем химической сшивки SOD с пероксидазами. Например, были получены конъюгаты

Cu/ZnSOD дрожжей и MnSOD *E.coli* с каталазой быка, которые сохраняли как пероксидазную, так и супероксиддисмутазную активности [Mao et al., 1993]. Получены химические конъюгаты супероксиддисмутазы и каталазы из печени быка, обладающие высокой терапевтической активностью [Maksimenko, 2016]. Известно, что химическая сшивка белков происходит случайным образом, что может приводить к экранированию активных центров ферментов и снижению их активности, для решения этой проблемы были получены химерные рекомбинантные белки. Например, был получен химерный фермент (MnSOD–VHb), совмещающий в себе человеческую MnSOD и бактериальный гемоглобин (VHb) грамотрицательных аэробных бактерий рода *Vitreoscilla* [IsarankuraNaAyudhya et al., 2010]; химерный рекомбинантный белок, совмещающий в себе человеческую глутатионпероксидазу GPx-1 и супероксиддисмутазу SOD экстремофильного глубоководного червя *Alvinella pompejana* [Guan et al., 2017]; а также рекомбинантный химерный белок PSH, состоящий из Prx6 человека и MnSOD *Escherichia coli* [Sharapov et al., 2016]. Благодаря широкой субстратной специфичности, химерные антиоксидантные ферменты демонстрируют высокий терапевтический потенциал, что делает их весьма привлекательными в практическом применении.

Пероксиредоксины и их производные. Ранее мы отмечали важную роль пероксиредоксинов в нейтрализации окислительного стресса, при различных свободнорадикальных патологиях. Мы предположили, что применение экзогенных пероксиредоксинов позволит существенно скорректировать течение болезней, связанных с окислительным стрессом. Проведено исследование радиозащитного действия рекомбинантных пероксиредоксинов (Prx1, Prx2, Prx6 и химерного белка PSH) на модели тотального облучения мышей сублетальными и летальными дозами (5–11 Гр) рентгеновского излучения. Внутривенное введение животным рекомбинантных пероксиредоксинов и их модифицированных форм незадолго до облучения, существенно снижает костномозговой (лейкопения и тромбопения) и кишечный синдром (поражение слизистой) острой лучевой болезни [Sharapov et al., 2016; Sharapov et al., 2017]. Фактор изменения дозы (ФИД) для рекомбинантных пероксиредоксинов равен примерно 1,3–1,4, что является хорошим показателем для природных субстанций [Sharapov et al., 2019; Sharapov et al., 2020]. Важно отметить, что радиозащитный эффект проявляла даже мутантная форма пероксиредоксина, не обладающая пероксидазной активностью

(Prx6-C47S), что обусловлено сигнально-регуляторной функцией белка. Показано, что радиозащитный эффект пероксиредоксинов может быть опосредован стимуляцией Toll-подобного рецептора 4 (TLR4) и активацией NF-κB, фосфорилированного по Ser536 [Sharapov et al., 2021], что приводит к реализации противоапоптозного эффекта. Кроме того, было показано, что экзогенный Prx6 может проникать в клетки 3T3 (вероятно, благодаря фосфолипазной активности iPLA2), тем самым повышая их антиоксидантный статус (Sharapov et al., 2021). Совсем недавно, нами были проведены эксперименты по исследованию противодиабетического действия пероксиредоксинов на мышах (модель аллоксан-индуцированного диабета) и бета-клетках инсулиномы крысы (модель гипергликемии) [Novoselova et al., 2020; Novoselova et al., 2019]. Было установлено, что введение рекомбинантного Prx6 вызывает снижение уровня активных форм кислорода и защищает β-клетки RIN-m5F от гипергликемии, снижая их гибель по сравнению с контролем в несколько раз. Более того, экзогенный Prx6 стимулирует секрецию инсулина β-клетками, что, вероятно, обусловлено регуляцией активности сигнального каскада NF-κB, в частности, через активацию фосфорилирования RelA/p65 по Ser536 (по аналогии с TLR4-опосредованным радиозащитным действием Prx6). Было показано, что экзогенный Prx6 предотвращает гипергликемию, снижает уровень смертности, восстанавливает профиль цитокинов в плазме, подавляет апоптоз клеток селезенки и снижает разрушение β-клеток в островках Лангерганса у мышей с тяжелой формой диабета, индуцированного аллоксаном [Novoselova et al., 2020; Novoselova et al., 2019]. Кроме того, внутривенное введение пероксиредоксинов и их модифицированных форм перед ишемически-реперфузионным поражением сердца [Karaduleva et al., 2016], кишечника [Sharapov et al., 2017] и почек [Goncharov et al., 2019], оказывает мощное защитное действие, способствуя сохранению или быстрой нормализации пораженных тканей, подавлению апоптоза и некроза клеток.

Перспективы применения ферментов-антиоксидантов. Основными недостатками препаратов на основе ферментов-антиоксидантов, является их ограниченная биодоступность и недостаточная стабильность. В настоящее время, с помощью генно-инженерных и биохимических методов, активно ведутся работы по устранению этих проблем. Например, инкапсуляция ферментов в наночастицы, гидрогели или липосомы позволяет увеличить время их действия, а также защитить белки от деградации [Li et al., 2009]. Помимо инкапсуляции, эффективным

способом доставки ферментов является их сорбция на поверхности наночастиц, которые сами могут служить терапевтическими агентами [Guryev et al., 2018]. Например, сорбция каталазы и Cu/ZnSOD на поверхности наночастиц диоксида церия (CeO_2), позволила получить частицы с большим антиоксидантным потенциалом, чем при использовании ферментов по отдельности [Gil et al., 2017]. Стабилизация ферментов и пролонгирование времени их действия (циркуляции в организме) достигается благодаря конъюгированию ферментов с полиэтиленгликолем (ПЭГ) или сахарами (галактозой или маннозой). Было показано, что конъюгирование каталазы с ПЭГ практически не оказывает влияния на ее активность, но при этом увеличивает время ее выведения из кровотока (спустя 60 мин после введения модифицированной каталазы ее уровень в крови примерно в 2 раза выше, чем исходного фермента) и в 3–4 раза увеличивает устойчивость конъюгата к действию протеаз, что позволяет достичь большего терапевтического эффекта [Simone et al., 2009].

Эффективность терапевтического действия антиоксидантного фермента зависит от его способности достигать места образования свободных радикалов или АФК/РФА и длительности его нахождения в этом месте. Иммуобилизация супероксиддисмутазы и каталазы на суперпарамагнитных наночастицах оксида железа (SPION) размером около 400 нм, последующее введение в организм и удержание с помощью внешнего магнитного поля в зоне поражения, позволяет значительно повысить терапевтическую активность этих антиоксидантных ферментов. Конъюгация SOD и каталазы с частицами SPION незначительно влияет на ферментативную активность, что позволяет надеяться на возможность применения подобного подхода для широкого спектра ферментов [Lacramioara et al., 2016].

Для адресной доставки антиоксидантных ферментов также используется генно-инженерный подход, позволяющий получать ферменты с РТD-пептидами (РТD – protein transduction domen), которые обеспечивают проникновение белка через плазматическую мембрану клетки. Например, таким образом были получены РТD-модифицированные пероксиредоксины [Novoselov et al., 2011; Chhunchha et al., 2021]. Следует отметить, что некоторые пероксиредоксины способны проникать в клетки без РТD-пептидов. Нами было обнаружено, что введение рекомбинантного Ргх6 в культуру клеток эмбриональных фибробластов 3Т3 приводит к частичному проникновению белка в клетки [Shararov et al., 2021]. Таким образом, благодаря своим уникальным антиоксидантным и сигнально-регуляторным свойствам, Ргх6 является перспективным объ-

ектом исследования, при разработке препаратов на основе ферментов-антиоксидантов.

В настоящее время накоплен достаточно большой опыт по исследованию свободнорадикальных патологий. Свободнорадикальные патологии сопровождаются развитием окислительного, нитрозативного и карбонильного стресса, поэтому эффективная терапия таких заболеваний должна включать в себя комплекс препаратов. Для подавления окислительного стресса могут использоваться низко- или высокомолекулярные антиоксиданты. При нитрозативном стрессе важно элиминировать токсичные нитрозирующие продукты, за счет предотвращения избыточной продукции NO (например, подавляя активность iNOS глюкокортикоидами) и образования РФА (применением антиоксидантов). Подавление карбонильного стресса может быть достигнуто путем повышения эффективности функционирования ферментативных систем, приводящих к утилизации эндогенных альдегидов в организме, или же введением в организм лекарственных препаратов, обеспечивающих связывание и выведение эндогенных альдегидов, так называемых «ловушек альдегидов». К таким препаратам относятся производные гидразина (дидралазин, дигидралазин, метформин), свободные аминокислоты и их производные (S-аденозилметионин, карнозин, ансерин) и др. Вероятно, комбинация вышеуказанных препаратов, может быть эффективным подходом в лечении социально-значимых свободнорадикальных патологий. Несомненно, создание таких комплексных препаратов требует детальных экспериментальных исследований.

4. РАДИОЗАЩИТНЫЕ ВЕЩЕСТВА: ИСТОРИЯ, ТЕНДЕНЦИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Прошло более полувека с тех пор, как были открыты первые химические вещества, снижающие повреждающее воздействие ионизирующей радиации на организмы млекопитающих. Этот эффект назвали защитой от лучевой болезни, а химические соединения, способные осуществлять защиту – радиозащитными веществами [Кудряшов, 2004]. Все радиозащитные вещества могут быть поделены на три группы: 1) радиопротекторы, 2) адаптогены и 3) адсорбенты [Васин, 2010]. Первая группа – сульфгидрильные соединения и антиоксиданты. Они осуществляют мило-, энтеро- и церебро защиту. Адаптогены действуют как стимуляторы радиорезистентности, активируя антиоксидантные, репарационные и другие защитные системы организма. Адаптогены, зачастую, – это вещества растительного или животного происхождения. Они имеют наименьшую токсичность и могут влиять на регуляторные системы организмов, направленные на активизацию защитных систем. Адсорбенты защищают организм от внутреннего излучения и химических веществ, которые, связывая радионуклиды, увеличивают скорость их выведения из организма [Weis, Landauer, 2009].

По времени введения в организм все радиозащитные соединения так же могут быть поделены на три группы: 1) радиопротекторы, 2) митигаторы и 3) терапевтические агенты. По этой систематике радиопротекторы – это вещества, оказывающие защитное действие при введении в организм до или во время воздействия ионизирующей радиации. Митигаторы – это вещества, вводимые после воздействия ионизирующей радиации, но до появления клинических признаков лучевого поражения. Терапевтические агенты вводят после проявления первых клинических признаков токсического действия радиации на организм. Обычно при лечении лучевой болезни используется комплексная терапия, при этом в пораженный ионизирующей радиацией организм вводят несколько препаратов.

Иногда одно и то же вещество может быть мультифункциональным. Быть антиоксидантом и адаптогеном одновременно или митигатором и терапевтическим агентом или радиопротектором и адсорбентом в связи с этим практически во всех классификациях есть свои исключения. По этой причине все вещества, проявляющие эффекты уменьшения дозы ионизирующей радиации можно называть радиозащитными препаратами или веществами [Stone et al., 2004].

Существующие в настоящее время радиозащитные вещества, по-видимому, ещё далеки от совершенства (Hosseinimehr, 2007). Ориентиром в поиске новых химических средств защиты служит так называемый «идеальный радиопротектор», который должен отвечать следующим требованиям:

- высокая эффективность (препарат должен иметь высокий фактор изменения дозы (ФИД));
- отсутствие токсичности;
- удобная лекарственная форма (желательно пероральное введение, как несколько худший вариант подкожное или внутримышечное введение);
- дешевизна изготовления;
- устойчивость при хранении (большой срок годности, желательно возможность хранения в широком диапазоне температур и влажности);
- длительность проявления защитного действия (защитное действие должно начинаться с первых минут после приема и сохраняться в течение нескольких часов);
- возможность использования препарата при воздействии разных видов ионизирующих излучений.

Сейчас разработка методов химической защиты проводится по следующим направлениям.

- ✓ Разработка радиопротекторов, защищающих организм от внешне-облучения, вызывающего острое лучевое поражение.
- ✓ Разработка радиозащитных веществ, повышающих радиорезистентность нормальных тканей человека в клинике при лучевой терапии.
- ✓ Разработка пищевых добавок и адаптогенов, повышающих устойчивость биологических объектов при хроническом облучении.
- ✓ Разработка эффективных технологий выведения радионуклидов из организма.

В настоящее время известно несколько тысяч различных радиозащитных веществ. В медицинской практике используют только немногие из них, однако даже эти радиозащитные вещества малоэффективны при летальных дозах облучения. Радиозащитные соединения, как средства индивидуальной химической профилактики применяются при ликвидации последствий чрезвычайных ситуации на предприятиях атомной промышленности, при выполнении срочных ремонтных работ в условиях повышенной радиационной нагрузки или на загрязненной радионуклидами территории, при космических полетах, а также в клинике при лучевой терапии [Кудряшов, 2009; Васин, 2010; Шишкина, 2013].

В дальнейшем радиозащитные вещества будут рассматриваться в зависимости от их молекулярной структуры, терапевтических показателей или метаболической функции (табл. 4).

Таблица 4

Различные классы радиозащитных соединений и их описание

Класс соединений	Механизм действия	T^* Sp^{**}	ФИД
Сульфгидрильные соединения	- антирадикальный, - донирование Н-атома, - образования смешанных дисульфидов - гипоксия (↓) - редокс регуляция (↓)	Д (-)	1,3–2,7
Антиоксиданты	- антирадикальный - редокс регуляция (↓) - гипоксия (↓) - стимуляция иммунитета (↓)	Д (-)	1,1–1,3
Ингибиторы ангиотензин-1-превращающего фермента	- воздействие на ренин-ангиотензиновую систему - ингибирование синтеза коллагена - ? (↓)	П (+)	<1,2
Модуляторы и цитокины	- стимуляция иммунитета - продукция цитокинов	П/Д (+)	1,1–1,4
Простагландины	- тканевые гормоны - ?	Д (+)	<1,3
Соли металлов и металлотионеин	- индукция металлотионеина	Д (+)	<1,2
ДНК связывающие агенты	- перенос электрона - компактизация хроматина (↓)	Д (-)	<1,3
Соединения, вызывающие гипоксию	- гипоксия - сигнальные каскады (↓)	Д (-)	1,2–1,5
Селен	- стимуляция глутатионпероксидазы - ? (↓)	Д/П (+)	<1,3
РНК, гидролизаты РНК, нуклеозиды	- антирадикальный - влияют на репарационные системы - сигнальные каскады - ?	Д/П (- /+)	1,1–1,4

Окончание табл. 4

Класс соединений	Механизм действия	T^* Sp^{**}	ФИД
Фуллерены	- антирадикальный - мембранопротекторный - ?	Д (-)	<1,3
Адсорбенты	- связывание радионуклидов - увеличение скорости выведения радионуклидов	П (+)	***

* – T – время введения препарата в организм относительно воздействия ионизирующей радиации, D – введение препарата ДО воздействия ионизирующей радиации (радиопротектор), P – введение препарата ПОСЛЕ воздействия ионизирующей радиации (митигатор).

** – Sp – тканеспецифичность. (+) – препарат является тканеспецифичным, защищает от действия ионизирующей радиации только определенные ткани. (–) – защищает от действия ионизирующей радиации все ткани.

*** – фактор изменения дозы оценить трудно, так как вклад в смертность носит и радиационная и химическая компонента радионуклида.

↓ – эффект слабый или характерен не для всех представителей класса.

? – возможны другие механизмы действия.

4.1. Сульфгидрильные соединения

История сульфгидрильных соединений началась более 60 лет назад, когда Patt и соавторы в статье, опубликованной в журнале *Science*, показали, что цистеин эффективно защищает лабораторных животных от действия ионизирующей радиации [Patt, 1949]. Данная работа вдохновила многих радиобиологов и ранние исследования в области радиопротекторов сконцентрировались вокруг синтеза сульфгидрильных соединений, в особенности аминотиолов и фосфоротиоатов. Одним из первых наиболее удачных соединений этого класса оказался препарат **WR-2721** (S-2-(3-аминопропиламино) этилдигидрофосфотиоат) (коммерческое название Этиофос (Амифостин в США и Гаммафос в России)). Это соединение явилось существенным достижением в разработке радиозащитных веществ, величина ФИД – 2,7 [Yugas, Storer, 1969]. Следует отметить, что WR-2721 обеспечивал эффективную защиту животных от губительного воздействия ионизирующего излучения только при введении его непосредственно перед воздействием радиации, период полужизни WR-2721 в плазме крови составляет менее 10 мин [Tannehill, Mehta, 1996]. Позже были синтезированы и другие фосфоротиоаты с

незначительными изменениями в их структуре, такие как S-2-(3-метиламинопропиламино)этилфосфоротиоат (**WR-3689**) и S-2-(3-метиламинопропиламино)пропилфосфоротиоат (**WR-151327**) (Brown, Graham, 1988). Также были синтезированы фосфорилированные аминоктиолы, которые оказались еще более эффективными: **WR-1065** (2-(3-аминопропиламино)этанэтиол), **WR-151326** (3-(3-метиламинопропиламино)пропанэтиол) и др. По своей химической структуре соединения данной группы отличаются на аминоалькильную группу, присутствием или отсутствием метильной группы в терминальной части и/или гидроксильной группы в цепи алкила (Weiss, Landauer, 2009). Следует отметить, что фосфоротиоаты токсичны, имеют малые полулетальные дозы (LD_{50}) (для собак 100 мг/кг; для человека – до 1,4 мг/кг) и вызывают побочные эффекты (тошнота, рвота, гипотония, местное повреждающее действие на ткани и др.) [Kuna, 1983]. Все вышеперечисленные соединения растворимы в воде – что облегчает введение их в организм, однако в виде водных растворов они нестабильны при хранении, что пока не позволяет разработать пригодную для применения в экстремальных ситуациях лекарственную форму пригодную для инъекций.

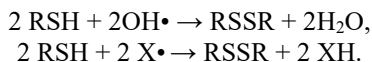
В начале 1950-х гг. была синтезирована **аминоэтилизотиомочевина** (АЭТ, Дифетур) [Doherty, Burnett, 1955]. Исследование радиозащитных свойств этого препарата выявили тот факт, что структурные характеристики кардинально важны при изучении защитных свойств сульфгидрильных соединений. Исследовано большое количество других тиолов, среди них **диэтилдитиокарбамат** (ДДК), **меркаптопропионилглицин** (МПП), **N-ацетилцистеин** (АЦЦ), **2-меркаптоэтансульфонат** (Месна) и **цистамин**. Было показано, что эти соединения менее эффективны при введении их до воздействия ионизирующего излучения, чем фосфоротиоаты, однако они обладают меньшей токсичностью. **N-ацетилцистеин** проявлял наименьшую токсичность, по сравнению амифостином, цистеамином и ДДК в исследованиях на животных [Landauer et al., 1988]. Защитное действие аминоктиолов более выражено при введении их за короткий срок (10–30 мин) до облучения, защитный эффект в этом случае наблюдается около 5 ч после однократного введения. Предполагается, что АЦЦ может осуществлять свой защитный эффект *in vivo* как антиоксидант или как предшественник глутатиона в различных тканях [Neal et., 2003].

Цистеамин (2-меркаптоэтиламин, меркамин, 2-аминоэтантиол) и его производные применяют для профилактики и лечения лучевой болезни, его радиопротекторное действие основано на способности

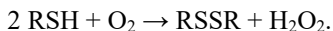
нейтрализовать активные формы кислорода (АФК) и образовывать смешанные дисульфиды с молекулами биологически активных соединений [Korystov et al., 1988]. Кроме того, он препятствует повреждению молекул ДНК, а также взаимодействует с некоторыми ферментами и увеличивает их устойчивость к воздействию ионизирующего излучения. Цистеамин применяют в качестве эталонного стандарта для оценки эффективности новых радиозащитных средств. Наименее токсичные и наиболее эффективные препараты цистеамина – его гидробромид, гидрохлорид, аскорбат, никотинат, а также дигидрохлорид бис-(*b*-аминоэтил) дисульфида [Weiss, Landauer, 2009].

Цистамин (бис-(*b*-аминоэтил)-дисульфида дигидрохлорид) относится к группе аминотиолов. Молекула цистамина может рассматриваться как удвоенная молекула меркамина, где сульфгидрильные группы (-SH) заменены дисульфидной связью (-S-S-). Было показано, что цистамин при введении его до облучения предупреждал и уменьшал лучевую реакцию, возникающую при действии на организм высоких доз ионизирующей радиации. Защитный эффект цистеамина длится до 5 ч. Применение цистамина при уже развившейся лучевой болезни (при значительной лейкопении) не оказывает терапевтического эффекта [Васин, 2006].

Одним из механизмов действия всех сульфгидрильных радиопротекторов (RSH) является элиминация образовавшихся при воздействии ионизирующего излучения короткоживущих АФК. Эти радиопротекторы реагируют с кислородными радикалами или радикалами биомолекул (X•), как доноры атома водорода [Nair et al., 2001]:



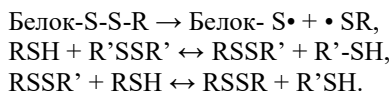
Известно, что химическое или биохимическое потребление кислорода может привести к гипоксии в клетках и тканях. Сульфгидрильные радиопротекторы способны вступать в реакцию с молекулярным кислородом. Ионы железа (Fe^{3+}) также могут катализировать эту окислительную реакцию [Holt, 1975]:



Радиопротекторы могут также взаимодействовать с биологическими макромолекулами, например, с ДНК, предохраняя ее от радиационных повреждений. Например, цистамин, гуанидоэтилсульфид и глутатион

дисульфид проявляют свои радиопротекторные свойства за счет связывания и стабилизации молекул ДНК.

Радиопротекторная активность множества тиолов (RSH, R'SH и т.п.), коррелирует со скоростью образования дисульфида (RSSR') [Nair et al., 2001]. Регенерация нативных белков может быть достигнута за счет обмена тиоловых дисульфидов с глутатионом, возможно, этот процесс катализирует тиолтрансфераза, с последующим действием глутатионовой окислительно-восстановительной системы, связанной с глутатионредуктазой и НАДФН:



Однако дисульфидная гипотеза объясняет только защиту белков, но не нуклеиновых кислот, поскольку группу SH содержат только белки [Зенков и др., 2001]. В настоящее время предполагается, что защитный эффект фосфоротиоатов может быть связан с редокс-сигнализацией, а именно влиянием на транскрипционные факторы [Shen et al., 2001].

4.2. Низкомолекулярные и высокомолекулярные антиоксиданты

Около 60 лет назад, одновременно с исследованиями сульфгидрильных радиопротекторов, начался активный поиск соединений других классов с выраженными антирадикальными свойствами. Были изучены самые разнообразные соединения, в том числе, некоторые алифатические спирты, включая этанол, пропиленгликоль, глицерин и др., которые являются перехватчиками свободных радикалов. Кроме алифатических спиртов исследовалось радиопротекторное действие ряда органических кислот. Сегодня все эти факты представляют только исторический интерес, так как перечисленные соединения весьма токсичны и по потенциалу радиозащитного действия являются малоэффективными [Weiss, Landauer, 2009; Nair et al., 2001].

Прорыв в поиске новых антиоксидантов наступил в 1968 г., когда Weil и соавторы в статье, опубликованной в *Nature*, показали, что синтетические стабильные **нитроксиды** являются многообещающими антиоксидантами с возможной перспективой их применения в качестве ра-

диозащитных веществ [Weil et al., 1968]. Более поздние исследования *in vitro* и *in vivo* с хорошо растворимыми в воде нитроксидами показали, что данные соединения проявляют радиозащитные свойства при введении их в организм до воздействия ионизирующего излучения [Tabaczar et al., 2011]. Установлено, что нитроксиды с шестичленным циклом, как у темпола, восстанавливаются быстрее, чем пятичленные. В основе механизма радиопротекторного действия этих соединений лежит перехват свободных радикалов, а также индукция гипотензии и гипоксии костного мозга [Hahn et al., 1998]. GS-нитроксиды в форме аэрозолей используют для терапии радиационно-индуцированного эзофагита [Nair et al., 2001]. В настоящее время известно большое количество синтетических антиоксидантов, применение которых возможно в защите млекопитающих от патологических последствий воздействия ионизирующей радиации, среди них такие соединения, как ионол, тиофан, пробукол, сукцинобукол, фридокс, олифен, N-ацилдигидроаланин и т.п. [Halliwell, 1999].

Параллельно, с появлением синтетических антиоксидантов, в 1969 г. произошло открытие фермента-антиоксиданта – **супероксиддисмутазы (СОД)** [McCord, Fridovich, 1969]. Первая работа, посвященная радиозащитному действию высокомолекулярного антиоксиданта CuZn-СОД, выделенной из быка, была опубликована 5 лет спустя такими знаменитыми пропагандистами применения СОД в радиобиологии, как Petkau и Chelack [Petkau, 1974]. Сегодня известно, что радиозащитные свойства проявляют все формы СОД. СОД при введении до или вскоре после облучения устраняет мукозит в полости рта, а также снижает тяжесть фиброза легкого [Carpenter et al., 2004]. Наряду с СОД, в качестве радиозащитных препаратов можно использовать глутатионзависимые ферменты, каталазу, а также их сочетания [Weiss, 1997].

Отдельной группой низкомолекулярных антиоксидантов являются витамины. В историческом плане применение витаминов в качестве радиопротекторов началось сравнительно поздно. Одна из первых работ посвященная радиозащитным свойствам витамина Е увидела свет в 1975 г., благодаря Алекперову и Ахундовой [Alekperov, Akhundova, 1975]. Предполагают, что соединения этой группы способны изменять соотношение «эндогенных» радиопротекторов (биогенные амины, компоненты антиоксидантной системы) и радиосенсибилизаторов (продуктов ПОЛ) в пользу первых. Немаловажный вклад в реализацию противолучевого действия витаминов вносит их иммунотропная активность, в частности стимулирующее влияние на компоненты неспецифической резистентности организма – моноклеарные и полиморфноядерные

фагоциты, комплемент, интерфероны, лизосомы и другие [Васин, 2010]. При стрессе, репарации и других процессах в организме существует повышенная потребность в витаминах, необходимых для поддержания на должном уровне метаболических реакций, в том числе и биосинтетических процессов адаптивного характера [Stone et al., 2003]. Так, в условиях длительного низкоинтенсивного облучения возможно развитие радиационного окислительного стресса, приводящего к истощению антиоксидантной системы организма. В данном случае применение природных антиоксидантов (водо- и жирорастворимых) может играть роль субстратной терапии, направленной на компенсацию их недостатка в данных условиях [Васин, 2010].

Витамин Е эффективно нейтрализует супероксид-анион радикал, синглетный кислород, пероксирадикалы, ОН-радикалы, а также индуцированные ROO- и ОН-радикалами процессы перекисного окисления липидов [Nair et al., 2001]. Водорастворимая форма витамина Е (токоферол моноглокозид), эффективно защищает ДНК *in vitro* от воздействия гамма-радиации, а также мышей после внутрибрюшинного или перорального введения [Васин, 2006]. В настоящее время токоферол сукцинат является самой эффективной формой витамина Е, используемой для защиты от радиационных повреждений [Gasad et al., 2003].

Витамин С, введенный мышам перорально (200–800 мг/кг) до тотального облучения в дозе 1 Гр, защищает их от возникновения хромосомных aberrаций [Sarma, Kesavan, 1993]. Также показано, что витамин С снижает радиационно-индуцированную смертность и предотвращает пострadiационную десквамацию (шелушение кожи) [Okunieff, 1991].

Витамин А. Известно, что диета богатая витамином А приводит к существенному радиозащитному эффекту, проявляющемуся в уменьшении смертности, инволюции тимуса, тяжести радиационно-индуцированной гипертрофии надпочечников и лейкопении [Seifter et al., 1988]. Установлено, что двухнедельное потребление крысами витамина А (35 мг/кг) перед воздействием ионизирующей радиации приводит к уменьшению радиационно-индуцированной липопероксидации и большему количеству восстановленных эквивалентов глутатиона [Redlich et al., 1998]. Кроме того, диета богатая витамином А приводит к менее выраженным повреждениям пищевода и кишечника при облучении в дозах более 10 Гр [Stone et al., 2003].

4.3. Соединения и экстракты растительного происхождения

Наиболее изучаемыми соединениями этого класса являются флавоноиды и их производные. Флавоноиды впервые были выделены и охарактеризованы еще в 1936 г. лауреатом Нобелевской премии А. Сент-Дьёрди [Gabor, 1996]). Первые работы, посвященные радиозащитным свойствам флавоноидов, появились около 40 лет назад [Piuchenok, 1975]. Интенсивные исследования соединений и экстрактов растительного происхождения начались в конце прошлого века в связи с развитием идей биодрагдизайна, фитотерапии и рационального природопользования. Сегодня известно, что многие флавоноиды снижают тяжесть радиационно-индуцированных поражений [Shimoi, 1994]. В ряде линий раковых клеток флавоноиды, напротив, оказывают радиосенсибилизирующее действие [Reagan-Shaw et al., 2008]. Показано, что ориентин и висцерин при введении их мышам (50 мкг/кг) до облучения существенно увеличивает их выживаемость, ФИД ориентина 1,30, а висцерина 1,37 [Uma Devi et al., 1999], висцерин-2 эффективен в еще большей степени [Nagaprashantha et al., 2011]. Генистеин проявляет радиозащитные свойства при введении мышам подкожно за 24 часа до их облучения в летальной дозе, фактор изменения дозы 1,16 [Landauer et al., 2003].

Другим направлением поиска радиозащитных средств является исследование экстрактов растительного происхождения. В основном это направление исследований представлено в Индии, Китае и странах Латинской Америки, изобилующих эндемичной растительностью. Показано, что однократное интрапеританеальное введение мышам экстракта корня женьшеня (*Panax ginseng*) (200 мг/кг) за 30 минут до облучения в дозе 1,5 Гр приводит к уменьшению частоты образования микроядер в ретикулоцитах [Lee et al., 2005]. Экстракт из цитрусовых (250 мг/кг), при введении его мышам за 1 ч до облучения в существенной степени уменьшал поврежденность клеточной ДНК [Hosseinimehr et al., 2003]. Экстракт мускатного ореха, высушенное ядро семени *Myristica fragrans* также оказывает радиозащитное действие на мышей. Экстракт грибицы культурного гриба *Hirsutella sinensis* при введении его мышам после облучения увеличивает выживаемость с, фактором изменения дозы около 1,3 [Xun et al., 2008]. Введение экстракта корневища имбиря (*Zingiber officinale*) в дозе 10 мг/кг один раз до облучения и потом еще четыре раза ежедневно после, оказывает радиозащитное действие, фактор изменения дозы 1,15 [Jagetia et al., 2003]. Интрапеританеальное введение мышам экстракта мяты луговой (*Mentha arvensis*) (10 мг/кг) последовательно, раз в сутки, в течение 5 су-

ток, увеличивает выживаемость животных с фактором изменения дозы 1,20 [Jagetia et al., 2002]. Известны и другие многочисленные случаи увеличения выживаемости после введения лабораторным животным различных растительных экстрактов перед облучением в летальных дозах [Hosseinimehr, 2007]. Несмотря на крайне низкую токсичность, экстракты растительного происхождения имеют сравнительно низкую эффективность с величиной ФИД менее 1,3. Что вполне объяснимо, так как почти все описываемые вещества являются адаптогенами, а предел адаптационных возможностей организма млекопитающих имеет близкую оценочную размерность. Следует отметить, что для препаратов этой группы характерна длительность проявления защитного действия, в большинстве случаев временной период составляет около суток [Hosseinimehr, 2007]. Препараты данной группы, как правило, являются комплексом различных веществ, поэтому за их радиозащитные свойства обычно ответственны несколько радиозащитных механизмов. Зачастую, соединения и экстракты растительного происхождения обладают выраженными антиоксидантными свойствами [Weiss, Landauer, 2009].

4.4. Ингибиторы ангиотензин-І-превращающего фермента

Ингибиторы ангиотензин-І-превращающего фермента (АПФ) изначально применялись в кардиологии для лечения и профилактики сердечной, а потом и почечной недостаточности. Механизм действия данных соединений реализуется за счет ингибирования ангиотензинпревращающего фермента, который превращает биологически неактивный ангиотензин І в гормон ангиотензин ІІ, обладающий сосудосуживающим действием. Установлено, что ингибиторы АПФ замедляют распад брадикинина, сильного вазодилатора, и влияют на синтез коллагена [Лосева и др., 2002]. Около двух десятилетий назад было показано, что ингибиторы АПФ и блокаторы рецепторов к гормону ангиотензин-ІІ, оказались эффективными в профилактике радиационно-индуцированного поражения легких и почек у экспериментальных животных [Ward et al., 1993] и человека [Cohen, Robbins, 2003]. Следует отметить, что ингибиторы АПФ в основном вводятся в организм после воздействия ионизирующей радиации, и, по сути, являются митигаторами и терапевтическими агентами. В настоящее время известны такие ингибиторы АПФ, как каптоприл, пеницилламин, пентоксифиллин, эланоприл и т.п. Каптоприл (меркапто-2-метил D-3-пропанол-L-пролин), широко применяет-

ся как антигипертензивное средство [Molteni et al., 2000]. Показано, что каптоприл, существенно нормализует вызванную радиацией раннюю реакцию легких у крыс [Cohen, Robbins, 2003]. Терапевтическое действие каптоприла частично связывают с предотвращением, индуцированного ионизирующим излучением, увеличения легочного артериального давления, которое приводит к отекам легких. Пенциламин является слабым ингибитором ангиотензин-1-превращающего фермента, однако это еще и эффективный антифиброзный агент, обладающий противовоспалительными свойствами [Ward et al., 1983]. Использование ингибиторов АПФ и блокаторов ангиотензин рецептора открывает новые возможности в радиотерапии при высоких дозах облучения и позволяет устранять побочные эффекты. Тем не менее, действие этих лекарственных средств является тканеспецифическим и не обеспечивает никакой защиты желудочно-кишечного тракта [Moulder, Fish, 1997].

4.5. Агонисты Toll-подобных рецепторов

В 2008 г. в журнале *Science* Гудковым и соавт. была опубликована статья [Burdelya et al., 2008], посвященная исследованию нового типа радиопротекторов белковой природы под кодовым названием CBLB502, родственного **флагеллину**-белку, из которого состоят филаменты жгутиков бактерии – единственному известному лиганду-активатору Toll-подобного рецептора типа 5 (TLR5). Активация Toll-подобного рецептора типа 5 приводит к ингибированию сигнальных путей, связанных с апоптозом, активирует экспрессию антиоксидантных ферментов, а также синтез низкомолекулярных антиоксидантов и цитокинов. Установлено, что введение CBLB502 незадолго до воздействия ионизирующего излучения защищало мышей от острой лучевой болезни и увеличивало выживаемость животных. При введении его мышам в концентрации 0,2 мг/кг ФИД составил 1,6. Введение CBLB502 после облучения также увеличивало выживаемость животных, однако, при воздействии более низких доз радиации [Burdelya et al., 2008].

4.6. Иммуномодуляторы и цитокины

В ряде исследований было показано, что профилактическое и раннее лечебное применение иммуномодуляторов существенно облегчало тяжесть радиационных поражений. Полвека назад, одними из первых были

изучены иммуномодуляторные свойства *бактериальных эндотоксинов* (липополисахаридов). Эти вещества проявляют радиозащитные свойства при введении до, а иногда и после воздействия ионизирующего излучения [Wilson, Matsuzawa, 1963]. Показано, что липополисахариды защищают кишечник и костный мозг мышей от радиационных повреждений [Riehl et al., 2000]. Протеополисахариды, например, **AM5** или **AM218**, инактивированные теплом клетки *Lactobacillus sp.* или **трегалоза дикоринномиколат**, также обладают иммуномодулирующими свойствами [Weiss, 1997]. Показано, что эти вещества эффективно защищают от воздействия ионизирующей радиации с ФИД около 1,2–1,3. В настоящее время в клинике применяются такие полисахариды-иммуномодуляторы, как продигиозан и транслам [Ильин и др., 2004].

Аммоний трихлоро-(диоксиэтилен) теллурид (AS101) – соединение, оказывающее иммуномодулирующий эффект и имеющее незначительную токсичность (Васин, 2006). AS101 оказывает защитное действие путем влияния на гемопоэз облученных мышей. Было показано, что введение AS101 увеличивает уровень сывороточного амилоида А, амилоида В и церулоплазмينا, которые проявляет радиозащитные свойства в результате иммуномодуляции [Сенок и др., 2000].

В настоящее время наиболее широко в качестве иммуномодуляторов в радиационной терапии изучаются **цитокины и их индукторы**. Цитокины – это эндогенные медиаторы, посредством которых работа различных клеток гемопоэтической системы становится скоординированной и регулируемой. Именно эти свойства цитокинов открыли возможность целенаправленного воздействия на систему гемопоэза при лечении многих патологических состояний, в том числе и радиационных поражений. Первым установленным цитокином-радиопротектором стал в 1986 г. **интерлейкин-1** [Neta et al., 1986]. Известно, что интраперитонеальное введение интерлейкина-1 защищает мышей от летальных эффектов гамма радиации (ФИД 1,3) и стимулирует восстановление ранних гемопоэтических клеток-предшественников. Важно отметить, что максимальная эффективность при введении интерлейкина-1 проявляется через 10–60 мин после воздействия ионизирующего излучения [Рождественский и др., 2002]. **Интерлейкин-6** играет важную роль в защите организма при введении его как до, так после воздействия ионизирующего излучения [Васин, 2006]. Введение таких цитокинов, как **G-CSF** (granulocyte colony-stimulating factor) и **GM-CSF** (granulocyte macrophage colony-stimulating factor) защищает обезьян от радиационных повреждений, ФИД составляет около 1,3 [Herodin et al., 2007]. В клинике G-CSF и GM-CSF используют для восстановления числа нейтрофилов и тромбоцитов

в крови после радиотерапии [Winczura et al., 2010]. Рекомбинантный человеческий фактор роста кератиноцитов (KGF), коммерческое название **палифермин**, при введении до или вскоре после радиационного воздействия существенно защищает от орального мукозита мышей и человека [Stiff et al., 2003]. В опытах на собаках, морских свинках, облученных ионизирующим излучением в сублетальных дозах, установлено, что многократное применение **лейкинферона** (интерферона альфа), через 24 ч после воздействия радиации, так же оказывает противолучевое действие. Терапевтический эффект проявляется в защите гемопоэтических органов от последствий воздействия ионизирующего излучения и в стимуляции гемопоэза [Иванов и др., 2004]. Кислый и основной факторы роста фибробластов (**FGF1** и **FGF2**) и фактор роста эндотелия сосудов (**VEGF**) уменьшают как тяжесть желудочно-кишечного синдрома у мышей линии СЗН, так и их смертность. Радиозащитные свойства проявляет и **эритропоэтин** [Hosseinimehr, 2007].

Наряду с непосредственным введением цитокинов часто используются индукторы их синтеза. Одним из таких индукторов является **гинсан** – полисахарид, извлеченный из корней женьшеня. Он стимулирует гемопоэз и синтез цитокинов типа интерлейкинов-1, -6. В группе мышей, получавших гинсан (100 мг/кг) в течение суток до облучения наблюдалась меньшая смертность, с ФИД 1,4 [Song et al., 2003]. **Оксиметалон**, андрогенный стероид, стимулирует синтез цитокинов, активирует процессы тромбопоэза и лейкопоэза. При однократном оральном введении оксиметалона (640 мг/кг) мышам за 24 ч до облучения в дозе 8 Гр наблюдалось увеличение выживаемости с ФИД 1,14 [Hosseinimehr et al., 2006]. **5-андростендиол**, производное дегидроэпиандростерона, стимулирует синтез цитокинов – интерлейкинов-1,-3,-6 и облегчает тяжесть радиационно-индуцированной лейкопении [Stickney и др., 2007]. Подкожное введение 5-андростендиола (160 мг/кг) за 24 ч до облучения существенно увеличивало выживаемость, ФИД 1,26 [Whitnall et al., 2000].

4.7. Простагландины

Впервые радиозащитное действие простагландинов было описано в 1972 г. [Prasad, 1972]. Установлено, что простагландин E2, дилпростагландин E2 и его аналог ОК-432 защищают мышей от повреждений, индуцированных ионизирующим излучением [Nair et al., 2001]. В норме простагландины синтезируются почти во всех тканях в ответ на разнообразные воздействия (гормоны, травма, воспаление, аллергические ре-

акции) и влияют на некоторые функции клеток, связанные с нормальным и патологическим состояниями [Needleman et al., 1976]. Простагландины оказывают радиопротекторное действие на ряд тканей: желудочно-кишечный тракт, костный мозг и волосяные фолликулы [Hanson et al., 1988]. Они проявляют радиозащитные свойства только при введении их до облучения (ФИД < 1.3). Основным механизмом действия, по-видимому, связан со стимуляцией клеточной устойчивости и локальной регуляцией биологических процессов. Использование простагландинов в клинике ограничено из-за их многочисленных побочных физиологических эффектов [Hanson et al., 1995], в том числе их роли посредников в воспалительных реакциях.

4.8. Соли металлов и металлотионеин

Металлотионеин был обнаружен в 1957 году при выделении белков, связывающих тяжелые металлы [Margoshes, Vallee, 1957]. Первичная структура белка представлена 60 аминокислотами, из которых одна треть – это аминокислотные остатки цистеина [Kagi, Schaffer, 1988]. Введение металлотионеина животным защищает их от действия радиации. Считается, что физиологической функцией металлотионеина является участие в защите клетки от интоксикации тяжелыми металлами, более того, известно, что металлотионеин – индуцибельный белок. Данное свойство, индукция металлотионеина солями ряда металлов, лежит в основе радиозащитного действия данного класса соединений [Котеров и Филиппович, 1995]. Установлено, что оральное введение нитрата висмута мышам увеличивает их выживаемость и снижает количество повреждений костного мозга, вызванных ионизирующим излучением [Satoh et al., 1989]. Введение мышам хлорида марганца и кадмиевых солей также повышает уровень металлотионеина в различных тканях, что приводит к повышению радиорезистентности животных при тотальном облучении [Котеров и Филиппович, 1995]. Индукция металлотионеина солями металлов является органо/ тканеспецифичной. Обнаружено, что обработка хлоридом марганца не вызывает повышение уровня металлотионеина в коже и тонкой кишке [Murata et al., 1995]. Исследования показали, что эти соединения при низких нетоксичных концентрациях защищают экспериментальных животных от летальных исходов, вызванных ионизирующим излучением (ФИД 1,2) за счет эффекта, оказываемого в основном на гемопоэтическую систему [Котеров и Филиппович, 1995].

4.9. ДНК-связывающие агенты

Радиозащитные свойства *Hoechst 33342* впервые установлены Smith и Anderson в 1984 г. [Smith, Anderson, 1984]. Данные свойства обусловлены переносом электрона при образовании комплекса с ДНК, эффективность защиты может быть улучшена добавлением донора электронов для этого лиганда [Martin et al., 1996]. Hoechst 33342 связывается с ДНК по малой бороздке в дискретных сайтах, содержащих 3–4 АТ пары [Martin et al., 1983]. Показано, что защита осуществляется за счет предотвращения образования одно- и двунитевых разрывов ДНК, с ФИД равной 1,3 [Denison et al., 1992]. Одним из изучаемых в настоящее время радиозащитных соединений, относящихся к ДНК-связывающим агентам, является *метилпроамин*. Показано, что метилпроамин имеет низкую токсичность, защищает ДНК и увеличивает выживаемость клеток в культуре [Lobachevsky et al., 2011]. Другим эффективным ДНК-связывающим агентом, имеющим радиозащитный потенциал, сравнимый с Hoechst 33342, является небольшой пептид *нетропсин* [Mishra et al., 2009]. Полиамины *спермин* и *путресцин*, негистоновые соединения, присутствующие в ядре, также проявляют существенный радиозащитный эффект. Спермин и путресцин предпочтительно связываются с ДНК в матрице ассоциированных сайтов, что позволяет этим полиаминам предотвращать образование ДНК-белковых сшивок [Chui, Oleinick, 1998]. Показано, что радиопротекторный эффект так же реализуется за счет компактизации и агрегации хроматина [Gosule, Schellman, 1978]. Кроме того, частично радиозащитный эффект может достигаться за счет того, что полиамины являются перехватчиками гидроксильных радикалов [Chui, Oleinick, 1998]. Ингибиторы реакций биосинтеза полиаминов в организме проявляют существенный радиосенсибилизирующий эффект [Snyder, Schroeder, 1994].

4.10. Соединения, вызывающие гипоксию и сосудиствоактивные вещества

Свойство молекулярного кислорода усиливать действие ионизирующих излучений называют кислородным эффектом. Разница эффектов в несколько раз при облучении сухих препаратов ДНК и белков в атмосфере кислорода и в бескислородных условиях вдохновила многих радиобиологов [Кудряшов, 2004]. В 1953 г. Gray показал, что реакция клеток на облучения также сильно зависит от присутствия кислорода [Gray

et al., 1953]. Причем коэффициент кислородного усиления может достигать значения 2,8 [Джойнер и др., 2013]. Несмотря на такие многообещающие результаты, позднее было показано, что системная гипоксия, достигнутая вдыханием газовых смесей с пониженным содержанием кислорода, приводит к увеличению ФИД всего лишь до 1,2–1,5, а не 2,5–2,8, как предсказывалось теоретически [Эйдус и др., 1984]. Однако попытки создания радиозащитных соединений, вызывающих гипоксию, продолжались. Следующим этапом развития после создания системной гипоксии был поиск радиопротекторов, обеспечивающих радиозащиту млекопитающих благодаря превращению гемоглобина в метгемоглобин или карбоксигемоглобин – соединения не способные переносить кислород. Например, парааминопропиофенол, нитрит натрия, анилин и окись углерода. Данные работы интересны лишь с исторической точки зрения, так как вещества, модифицирующие гемоглобин, имеют крайне низкий терапевтический индекс и являются весьма токсичными [Джойнер и др., 2013]. Позднее исследовались биогенные амины, гистамин, серотонин, норадреналин, адреналин и т.п., которые оказывают радиопротекторное действие, вызывая локальную гипоксию, зачастую через модуляцию уровня NO [Проскураков и др., 2003]. В настоящее время как радиозащитные вещества в клинике используются два сосудистоактивных препарата: мексамин и индралин [Васин, 2010; Васин, 2006; Ильин и др., 2004]. В Российской Федерации индралин выпускается под коммерческим названием Б-190. Он является альфа-адреномиметиком, который, связываясь с постсинаптическими альфа1-адренорецепторами сосудистой стенки, вызывает сокращение гладких мышц, что приводит к гипоксии [Васин и др., 1998; Гребенюк и др., 2010]. Он является одним из наиболее эффективных агентов этого класса, с ФИД 1,3–1,5.

4.11. Селен

Селен стимулирует активность глутатионпероксидазы, которая, как предполагают, снижает уровень токсичных кислородсодержащих продуктов в облученных клетках и является основным механизмом ответственным за его радиозащитный эффект. Впервые радиозащитный эффект селеносодержащих соединений показан в 1964 г. [Shimazu, Tappel, 1964]. Позднее было показано, что селен в форме селенорганики проявляет радиопротекторные свойства только при умеренных концентрациях, при более высоких концентрациях они могут быть цитотоксичны [Kumar et al., 2009]. Селен может работать и как радиопротектор, и как митигатор, эф-

фективно уменьшая тяжесть желудочно-кишечного синдрома. ФИД селена при общем или местном назначении при развитии орального мукозита равен 1,3 [Gehrisch, Dorr, 2007]. Считается, что органические соединения селена являются перспективными в качестве основы для разработки новых радиозащитных средств [Драчёв и др., 2013].

4.12. РНК, гидролизаты РНК, нуклеозиды

В 1952 г. Novick и Szilard открыли явление антимуtagenеза [Novick, Szilard, 1952]. Первыми антимутагенами стали олигомеры РНК – пуриновые рибонуклеозиды, однако механизм, лежащий в основе их антимутагенной активности удалось выяснить гораздо позднее. В 1950–1960 годы прошлого столетия, после открытия антимуtagenеза, было предпринято исследование радиозащитных свойств РНК, ее гидролизатов и нуклеозидов. Было установлено, что препараты РНК, выделенные из дрожжей, защищают растения [Лучник, 1958] и животных [Detre, Finch, 1958] от радиационных повреждений. Для коммерческих препаратов РНК были получены аналогичные результаты [Maisin et al., 1960]. Более того, было установлено, что при введении РНК животным проявляется, как радиопротекторный, так и радиозащитный – митигаторный и радиотерапевтический эффекты. Гидролизаты РНК до уровня мононуклеотидов были так же эффективны, как и РНК [Maisin et al., 1960]. Позднее, в 1990-х годах, в России, начались интенсивные исследования радиозащитных свойств инозина (рибоксина) [Чертков и Петров, 1993; Вартанян и др., 1989]. В настоящее время инозин (под коммерческим названием рибоксин) широко используется в медицинской практике. Позднее было установлено, что наряду с инозином эффективными агентами являются такие пуриновые нуклеозиды и их производные, как гуанозин [Gudkov et al., 2006; Gudkov et al., 2009], ИМФ [Asadullina et al., 2010], ГМФ [Asadullina et al., 2012], ксантозин и кофеин [Asadullina et al., 2012]. Все, перечисленные соединения, кроме кофеина, являются малотоксичными. Нужно отметить, что пуриновые нуклеозиды и их производные обладают радиопротекторными (ФИД для рибоксина (инозина) 1,3-1,4) и митигаторными (радиотерапевтическими) (ФИД 1,1–1,3) свойствами. В основе радиопротекторных свойств данного класса соединений лежат ярко выраженные антирадикальные свойства пуринов. Для объяснения радиотерапевтического действия пуриновых соединений предложено несколько гипотез: 1) Влияние на активность полиме-

разы поли(АДФ-рибозы) – одного из ключевых ферментов репарации ДНК; 2) Опосредованное пуриновыми (A2, A3) клеточными рецепторами, повышение экспрессии ферментов репарации; 3) Влияние на сигнальный путь митоген-активируемых протеинкиназ; 4) Восстановление истощенного пула пуриновых оснований; 5) Элиминация долгоживущих белковых радикалов, ответственных за пострадиационное развитие окислительного стресса [Попова и др., 2014].

4.13. Фуллерены

В последнее десятилетие, в связи с развитием нанотехнологий началось массовое применение наноматериалов в биологических исследованиях. Одним из самых распространенных объектов этого типа являются фуллерены, открытые в 1985 г. [Kroto et al., 1985]. Особое внимание фуллерены получили после статьи Krusic с соавторами в журнале *Science*, в которой утверждалось, что одна молекула фуллерена C_{60} способна присоединить по двойным связям более десятка радикалов. С легкой руки авторов фуллерены начали называть «губка для радикалов» [Krusic et al., 1991]. В одной из первых работ [2001 г.] по радиобиологии фуллеренов, было показано защитное действие карбоксифуллерена C3 на культуру гемопозитических клеток при воздействии ионизирующей радиации [Lin et al., 2001]. Установлено, что дендрофуллерены обеспечивают мощную защиту против таких последствий облучения, как повреждение ДНК и гибель клеток [Theriot et al., 2010]. Показано, что наночастицы водорастворимого производного фуллерена – дендрофуллерена – при добавлении в воду защищают эмбрионы рыб *Danio rerio* от эмбриотоксичного действия радиации и увеличивают их выживаемость [Dagoczi et al., 2006]. Фуллеренолы защищают одноклеточный организм *Stylonychia mytilus* в условиях воздействия γ -излучения [Zhao et al., 2005]. Исследовано влияние фуллеренолов на состояние антиоксидантной системы в клетках линии эритролейкемических клеток человека K562 при воздействии рентгеновского излучения в дозе 24 Гр. Установлено, что присутствие гидроксильированных производных фуллеренов в питательной среде клеток усиливает активность СОД и глутатионпероксидазы [Bogdanovic et al., 2008]. Вышеперечисленные работы проведены на культурах клеток или на гидробионтах, тогда как исследования по радиозащитной эффективности фуллеренов у млекопитающих единичны. В работе 2007 г [Trajkovic et al., 2007] показано, что фуллеренолы

$C_{60}(OH)_n$ при введении в организм крыс в концентрациях 10 и 100 мг/кг до воздействия рентгеновского излучения в летальной дозе проявляют радиозащитную активность. Они оказывают тканезащитные эффекты, способствуя увеличению выживаемости облученных грызунов. Однако в данной работе неясно, какой препарат фуллеренов был использован, был ли это чистый препарат или некоторая смесь различных фуллеренолов. В последующей работе [Andrievsky et al., 2009] использовались химически немодифицированные фуллерены, при этом в эксперименте исследовались концентрации фуллеренов на два порядка меньшие, чем ранее [Trajkovic et al., 2007], однако этот препарат оказывал защитные эффекты сопоставимые с $C_{60}(OH)_n$. На млекопитающих исследованы радиопротекторные свойства дендрофуллерена DF-1. Показано, что радиозащитный эффект наблюдается начиная с концентрации DF-1 300 мг/кг, фактор изменения дозы 1,22 [Brown et al., 2010]. Механизм защитного действия фуллеренов до конца не ясен. В настоящее время предполагается, что в основе радиозащитного эффекта фуллеренов лежат их антирадикальные [Andrievsky et al., 2009], мембранопротекторные [Пирутин и др., 2012] и другие [Belosludtsev et al., 2009; Belosludtsev et al., 2006] свойства.

4.14. Адсорбенты

Известно, что облучение организма в результате внутреннего воздействия инкорпорированных радионуклидов гораздо опаснее внешнего [Weis, Landauer, 2009]. В результате техногенных аварий и катастроф существует вероятность попадания частиц радиоактивных элементов в организм человека и животных. Для предотвращения попадания и накопления радиоактивных элементов в организме используется специальный класс химических соединений способных к связыванию радионуклидов или увеличивающих скорость выведения радионуклидов из организма [Васин, 2010]. Одними из первых сорбентов тяжелых металлов и радионуклидов были полисурьмин, ферроцин, вокацит, пентацин, альгисорб, плеостат, ксидифон и т.п [Weis, Landauer, 2009]. Позднее были внедрены в практику тайрон [Krishna et al., 1992], СВМІДА (катехол-3,6-бис(метилиминодиацетат) [Fukuda et al., 2009], деферипрон (L1) [Fukuda et al., 2006], ЕНВР (этан-1-гидрокси-1,1-дифосфонат) [Fukuda et al., 2005], ВРСВГ (N,N'-1,2-этаниодилбис[N-(2,3-дигидроксифенил)метил]-глицин) [Bao et al., 2013] и различные ЛНОРО (линейные тетрагидроксипиридины) [Ramounet-Le Gall et al., 2003].

4.15. Перспективы

Поиск новых радиозащитных препаратов неразрывно связан с прогрессом в фундаментальной радиобиологии и смежных научных областях. После открытия нового биологического или физико-химического механизма повреждающего действия радиации в разработке противолучевых средств появляются новые перспективы для исследований. В результате, поиск радиозащитных препаратов становится строго направленным и весьма эффективным. Например, после того, как стало известно, что значительная часть (60–80%) повреждений биомакромолекул, вызванных радиацией, формируется за счет АФК, образованных при радиоллизе воды [Газиев, 1999], появились сульфгидрильные и антиоксидантные радиопротекторы [Эйдус, 1972]. В настоящее время известно, что окислительный стресс после воздействия ионизирующей радиации не прекращается, а продолжается в течение длительного времени, что приводит к патологическим последствиям. В митохондриях происходит более интенсивное образование АФК, которое может длиться несколько суток после облучения [Газиев, 2013]. Другим источником АФК в пострадиационный период являются индуцированные ионизирующей радиацией долгоживущие радикалы белка [Bruskov et al., 2012; Гудков и др., 2012]. Начавшаяся разработка препаратов, нормализующих радиационно-индуцированную дисфункцию митохондрий и элиминирующих долгоживущие радикалы белка может быть новым подходом в поиске эффективных радиозащитных веществ. Параллельно с изучением механизмов повреждающего действия радиации, идет исследование механизмов, лежащих в основе адаптации организма к действию ионизирующих излучений, что также вносит свой вклад в развитие этой области [Hosseinimehr, 2007]. Интенсивно продолжаются исследовательские работы по рецепции и внутриклеточной сигнализации. Вероятно, в ближайшем будущем будут установлены неизвестные сегодня внутриклеточные сигнальные пути, отвечающие за реакцию клеток на воздействие радиации. В связи с этим начнется направленный поиск ингибиторов киназ или других посредников, участвующих в этих механизмах [Thompson, 2012]. Большие надежды возлагаются на разработку новых химических соединений с лучшими характеристиками, чем уже имеющиеся или с принципиально новыми свойствами. Ярким примером данного направления является использование в исследованиях разработок из «мира нано» [Miller, Wang, 2013]. Наряду с поиском принципиально новых подходов в химической защите от лучевого поражения продолжа-

ется совершенствование уже известных веществ и способов их использования. Одним из путей этого направления может быть создание «коктейлей» – комбинированных препаратов, состоящих из смеси радиозащитных веществ с разными механизмами действия. В целом, возможности для дальнейшего развития этой области достаточно. Наиболее значимые достижения в поиске эффективных радиозащитных веществ в будущем, вероятно, будут связаны с изучением новых механизмов повреждающего действия радиации, механизмов адаптации к окислительному стрессу, а также с разработкой принципиально новых химических соединений и оптимизации способов их использования.

Поиск идеальных защитных средств для использования в различных сценариях взаимодействия ионизирующего излучения с организмом продолжается уже более шести десятилетий. Ранние исследования по химической защите были сосредоточены в основном на сульфгидрильных соединениях. Основной целью являлось получение новых соединений и протоколов их использования с высокими значениями ФИД. Такой подход привел к созданию высокоэффективных радиозащитных препаратов, однако, зачастую параллельно с эффективностью наблюдалось увеличение выраженности побочных нежелательных эффектов. Так, амифостин – один из самых мощных защитных соединений в настоящее время применяется в основном только для предотвращения радиационно-индуцированной ксеростомии. Продолжение исследований сульфгидрильных соединений в дальнейшем продолжалось по пути их применения совместно с другими агентами, при этом в ряде случаев сульфгидрильные соединения сохраняли свои защитные свойства при сведении к минимуму их побочных эффектов. Исследования по совместному действию различных радиозащитных препаратов направленные на достижение синергических эффектов и уменьшение потенциальной токсичности продолжаются и сегодня. Другим важным направлением является исследование радиозащитных свойств синтетических и природных антиоксидантов. Данные соединения дают меньшую степень защиты при остром облучении, однако зачастую проявляют антимуtagenные свойства. Некоторые из веществ, рассматриваемых в пособии, не только элиминируют АФК, но и проявляют широкий спектр биологической и физиологической активности, что приводит к модуляции ответов организма на действие ионизирующей радиации. Кроме того, многие антиоксиданты и адаптогены проявляют радиозащитные свойства только в нормальных тканях и не проявляют в опухолевых. Данные свойства делают их идеальными кандидатами для использования в лучевой тера-

пии, что также является важным направлением по изучению радиозащитных веществ. В последнее время большой прогресс достигнут в исследовании рецептор-опосредованных радиозащитных агентов [2] это вещества, которые имитируют или модулируют развитие инфекционных и воспалительных процессов, а также факторы роста. Таким образом, в пособии показано, что рассматриваемой области знания, в том числе и благодаря работам российских исследователей, достигнут существенный прогресс, однако требуется дальнейшая работа, направленная на создание радиозащитных веществ, близких по своим показателям к «идеальному радиопротектору».

5. РОЛЬ ПЕРОКСИРЕДОКСИНА 6 В РАЗВИТИИ И НЕЙТРАЛИЗАЦИИ РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННОГО ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА

5.1. Регуляция экспрессии PRDX6

Характер экспрессии генов различных изоформ пероксиредоксинов млекопитающих имеет клеточную, тканевую и органную специфичность. Основным фактором, влияющим на уровень экспрессии генов *PRDX1-6* в клетке, является рост уровня АФК, который может быть вызван действием как внешних, так и внутренних факторов. Показано, что при действии гипероксии, прооксидантов (гем, ионы металлов переменной валентности, ксенобиотики), гидропероксидов (органической и неорганической природы), УФ или ионизирующего излучения возрастает экспрессия *PRDX1-6* [Bast et al., 2010]. Основная роль в регуляции экспрессии генов *PRDX1-6* принадлежит транскрипционному фактору NRF2 [Ishii, et al., 2000]. Кроме NRF2 в регуляции экспрессии генов *PRDX1-6* участвуют другие транскрипционные факторы: HIF, AP-1, NF-κB, c-Myc, C/EBP, FOXO3 и др. [Hess et al., 2003].

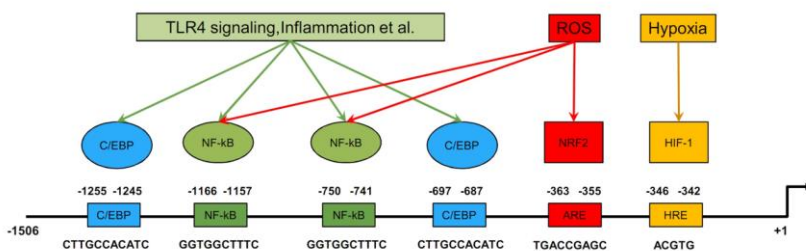


Рис. 5. Регуляция экспрессии *PRDX6*. Промотор *PRDX6* и сайты связывания различных транскрипционных факторов [Sharapov et al., 2019]

Интересно отметить, что регуляция экспрессии *PRDX6* происходит с участием многих транскрипционных факторов (Рис. 5). Транскрипционные факторы NRF2, HIF1α и C/EBPβ стимулируют рост экспрессии *PRDX6*. В то время как, NF-κB оказывает подавляющее действие на уро-

вень экспрессии *PRDX6*. Анализ промотора гена *PRDX6* (протяженность которого составляет 1506 п.н.) показал наличие сайтов связывания каждого из вышеуказанных транскрипционных факторов [Gallagher, Phelan, 2007; Pak et al., 2016].

Кроме транскрипционных факторов, в регуляции уровня экспрессии *PRDX1-6* принимают другие ферменты, иммуномодуляторы и т.д. [Bast et al., 2010; Egler et al., 2005]. Недавно было показано, что нуклеофозмин (*NPM1*), являющийся ДНК/РНК шапероном, стимулирует экспрессию *PRDX6*, при этом, нокадаун *NPM1* или добавление к культуре клеток специфического ингибитора нуклеофозмина (*NSC348884*) подавляет их экспрессию. Напротив, рост уровня *NPM1* также способствует росту уровня *Prx6* [Liu et al., 2017]. Еще один важный механизм регуляции уровня экспрессии генов пероксиредоксинов осуществляется с помощью микро-РНК [Guo et al., 2013]. Экспрессия *PRDX6* подавляется через *miR-24-3p*, которая специфически связывается с 3'-нетранслируемой областью мРНК, и тем самым подавляет экспрессию гена *PRDX6* [Li et al., 2016]. В клетках рака желудка N87 уровень *miR-24-3p* значительно подавлен, что способствует росту экспрессии *PRDX6*, что, в свою очередь, стимулирует рост и метастазирование раковых клеток [Li et al., 2016]. Таким образом, уровень экспрессии гена *PRDX6* может регулироваться целым комплексом факторов, что позволяет «гибко» реагировать транскрипционному аппарату на изменяющиеся внутренние и внешние условия клетки, сопровождающиеся изменением уровня АФК.

5.2. Роль эндогенных Prx в радиорезистентности клеток млекопитающих

В ответ на действие ионизирующего излучения, а также других факторов провоцирующих рост АФК/РФА в клетках, происходит адаптивная индукция синтеза пероксиредоксинов в клетках. Потенциально высокая радиозащитная способность семейства пероксиредоксинов была показана в серии экспериментов на животных и клеточных моделях. Показано, что при воздействии УФ и рентгеновского излучения на кожу крыс происходит рост уровня экспрессии *Prx1*, *Prx2*, *Prx3* и *Prx6* [Ito et al., 2014; Ishii et al., 2000], а рентгеновское облучение семенников мыши приводит к многократному усилению экспрессии *Prx1* и *Prx2* [Lee et al., 2002]. Необходимо также отметить, что в нормальных условиях в клетках Лейдига и Сертоли уровень *Prx1* и *Prx2* значительно повышен, по

сравнению с другими тканями. Кроме того, было показано, что у облученных мышей значительно возрастает уровень экспрессии Prx1, Prx2 в мозгу [Zhang et al., 2005], а в печени и селезенке значительно возрастает уровень Prx6 [An et al., 2004; An et al., 2006].

Было показано, что многие линии раковых клеток, обладающих высокой устойчивостью к действию ионизирующего излучения, имеют высокий уровень экспрессии пероксиредоксинов, а подавление экспрессии генов *PRDX* в этих раковых клетках приводило к потере их радиорезистентности [Kim et al., 2012], что позволяет расценивать их в качестве потенциальных мишеней при радиотерапии рака [Karihtala et al., 2003]. Например, в экспериментах *in vitro* и *in vivo*, была показана ведущая роль Prx2 в устойчивости к действию радиации у клеток рака прямой кишки человека (линии HCT116, Caco-2, T84 и LoVo) [Yun et al., 2014]. Подавление экспрессии *PRDX2* существенно снижало устойчивость этих раковых клеток к действию радиации [Yun et al., 2014]. Значительное увеличение уровня экспрессии *PRDX2* в ответ на лучевую терапию наблюдается в клетках рака молочной железы человека [Fujita et al., 2006; Hoshino et al., 2017]. Было показано, что в радиорезистентных клетках MCF+FIR3 (производная от линии MCF-7) уровень Prx2 в несколько раз выше, чем в клетках радиочувствительной линии MCF+FIS4, при этом уровень других пероксиредоксинов практически не менялся. Нокдаун *PRDX2* в клетках MCF+FIR3 приводит к потере их радиорезистентности, при этом повышенная экспрессия *PRDX2* в радиочувствительных клетках MCF+FIS4, напротив, приводит к развитию радиорезистентности [Fujita et al., 2006; Hoshino et al., 2017]. Важная роль Prx2 в радиорезистентности также была показана на клетках рака шеи и головы человека, нокдаун *PRDX2* приводил к росту гибели клеток под действием ионизирующего излучения [Choi et al., 2011]. При агрессивной радиорезистентной форме рака мозга (глиобластоме) наблюдается высокий уровень экспрессии *PRDX4* [Walsh et al., 2009]. Нокдаун *PRDX4* в клетках глиобластомы приводит к повышению чувствительности клеток к действию ионизирующего излучения, росту уровня АФК в клетках, увеличению количества повреждений ДНК и стимуляции апоптотической гибели. Введении мышам клеток глиобластомы, с нокдауном *PRDX4*, приводит к подавлению роста и метастазирования опухолей, и увеличению продолжительности жизни подопытных животных [Pak et al., 2011]. Значительное повышение уровня Prx6 обнаружено при различных формах рака, многие из которых обладают высокой радиоустойчивостью (Табл. 5).

Таблица 5

Пероксиредоксин 6 и различных химио- и радиорезистентных формах рака

Рак	Уровень Rrx6 (↑ или ↓) Роль в канцеро- генезе	Механизм действия/ Молекулярные мишени
мозга	↑ онкоген	Устойчивость к АФК/РФА
легких	↑ онкоген	устойчивость к АФК/РФА, стимуляция JAK2/STAT3, стимуляция метастазирования, активация iPLA2 активности, активация p38 через PI3K/Akt
молочной железы	↑ онкоген	устойчивость к АФК/РФА стимуляция метастазирования, стимуляция экспрессии uPAR, Est-1, MMP-9, RhoC, TIMP-2
пищевода	↑ онкоген	устойчивость к АФК/РФА
желудка	↑ онкоген	устойчивость к АФК/РФА, стимуляция метастазирования, подавление активации каспазы-8
шейки матки	↑ онкоген	подавление каспазы-10, активированной через TRAIL сигнализацию
печени	↑ онкоген	устойчивость к АФК/РФА
ячников	↑ онкоген	устойчивость к АФК, стимуляция метастазирования
мочевого пузыря	↑ онкоген	устойчивость к АФК, стимуляция NF-kB
предстательной железы	↑ онкоген	устойчивость к АФК/РФА, стимуляция метастазирования
меланома	↑ онкоген	устойчивость к АФК/РФА, стимуляция метастазирования через aiPLA2 активность

5.3. Применение экзогенного Rrx6 в качестве радиопротектора

При действии ионизирующей радиации скорость образования АФК зачастую значительно превышает способность живых клеток к их эли-

минации, в таких условиях наблюдается массовое повреждение биомакромолекул. Повреждение биомакромолекул является одной из основных причин пострадиационной гибели животных [Prosser et al., 1947]. На практике, для предотвращения пагубных последствий действия ионизирующей радиации используются радиозащитные препараты. В целом можно выделить два класса радиозащитных соединений: 1) соединения, предотвращающие повреждение макромолекул и 2) соединения, стимулирующие пострадиационное восстановление. К первому классу можно отнести, низкомолекулярные антиоксиданты, ферменты антиоксиданты, стабилизаторы молекул, индукторы синтеза антиоксидантов, соединения, вызывающие гипоксию и т.д. Ко второму классу относится большое количество соединений, влияющих на пострадиационное восстановление макромолекул, антиапоптотических агентов, соединений индуцирующих пролиферацию клеток, соединений участвующих в химической репарации и т.д. [Gudkov et al., 2015]. В основном радиозащитные соединения отличаются по структуре и механизму действия. Основные группы радиозащитных соединений структуре и механизму действия приведены в таблице 4. Более подробно с основными классами радиозащитных соединений можно ознакомиться в обзорных работах [Gudkov et al., 2015; Gudkov et al., 2010].

Поиск эффективных радиозащитных веществ для использования в различных сценариях взаимодействия ионизирующих излучений с организмом продолжается уже более шести десятилетий. Радиозащитные соединения как средства индивидуальной химической профилактики применяются при ликвидации последствий чрезвычайных ситуации на предприятиях атомной промышленности, при выполнении срочных ремонтных работ в условиях повышенной радиационной нагрузки или на загрязненной радионуклидами территории, при высотных и космических полетах. Особое место занимает применение радиозащитных соединений в радиотерапии, когда в результате облучения страдает не только сама опухоль, но и окружающие ткани (локальные и системные побочные эффекты). Следует отметить, что наиболее чувствительны к воздействию ионизирующего излучения активно делящиеся клетки (эпителиальные, стволовые и эмбриональные), поэтому именно этот тип клеток особенно нуждается в радиозащите. Разработка новых эффективных радиозащитных препаратов, направленных в первую очередь на сохранение этих типов тканей, является важной и актуальной задачей.

В этом отношении перспективным направлением по созданию высокоэффективных радиозащитных средств является использование экзо-

генных ферментов-антиоксидантов, которые на несколько порядков активнее используемых в настоящее время низкомолекулярных антиоксидантов. Ранее были предприняты попытки использования в качестве радиопротекторов таких ферментов, как каталаза и супероксиддисмутаза, однако они были неудачны [Petkau, 1987; Petkau, 1978]. Это объясняется в первую очередь тем, что в общем пуле АФК, образованном в результате облучения, большой процент занимают органические гидропероксиды (продукты окисления липидов, белков и т.д.), а каталаза и супероксиддисмутаза не способны нейтрализовать такие виды АФК. Как упоминалось ранее, именно семейство пероксиредоксинов обладает наиболее широким спектром нейтрализуемых АФК, поэтому применение пероксиредоксинов в качестве радиопротекторов представляется наиболее перспективным подходом.

Применение экзогенного рекомбинантного Prx6 в модельных экспериментах на животных показало высокую эффективность при лечении патологий, сопровождающихся или вызванных окислительным стрессом, таких как: тяжелые химические и термические ожоги верхних дыхательных путей, острое воспаление органов дыхания, вызванных бактериальными экзотоксинами (LPS), при ишемически-реперфузионных поражениях. Введение Prx6 перед воздействием вышеупомянутых негативных факторов способствует подавлению окислительного стресса, тем самым предотвращая поражение активно-пролиферирующих тканей. Введение Prx6 после поражения, например после термических ожогов верхних дыхательных путей, способствовало более быстрому восстановлению тканей, подавлению апоптоза и некроза клеток. Таким образом, полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что экзогенный Prx6 имеет значительный антиоксидантный потенциал и может быть перспективен в лечении патологий, сопровождающихся развитием окислительного стресса, в частности, вызванных действием ионизирующего излучения.

Была исследована выживаемость 6-недельных самцов мышей Kv:SHK при облучении их в сублетальных и летальной дозах (5-11 Гр) и внутривенного введения раствора рекомбинантного Prx6 до воздействия рентгеновского излучения [Sharapov et al., 2016; Sharapov et al., 2017]. Радиозащитный эффект экзогенного Prx6 оказался максимальным при его внутривенном введении за 15–30 мин до облучения. При этом, оптимальная концентрация составила около 20 мкг/г веса животного. Введение большего количества белка не приводило к существенному росту радиозащитного действия Prx6 дикого типа. Радиозащитный эффект

Ргх6 ярко проявлялся уже через 7 дней после облучения животных. В контрольной группе животных, не получавших инъекцию Ргх6 перед облучением, наблюдались типичные признаки острой лучевой болезни, в то время как животные, получавшие внутривенную инъекцию Ргх6 на тот момент не отличались от интактных, не облученных животных (Рис. 6).

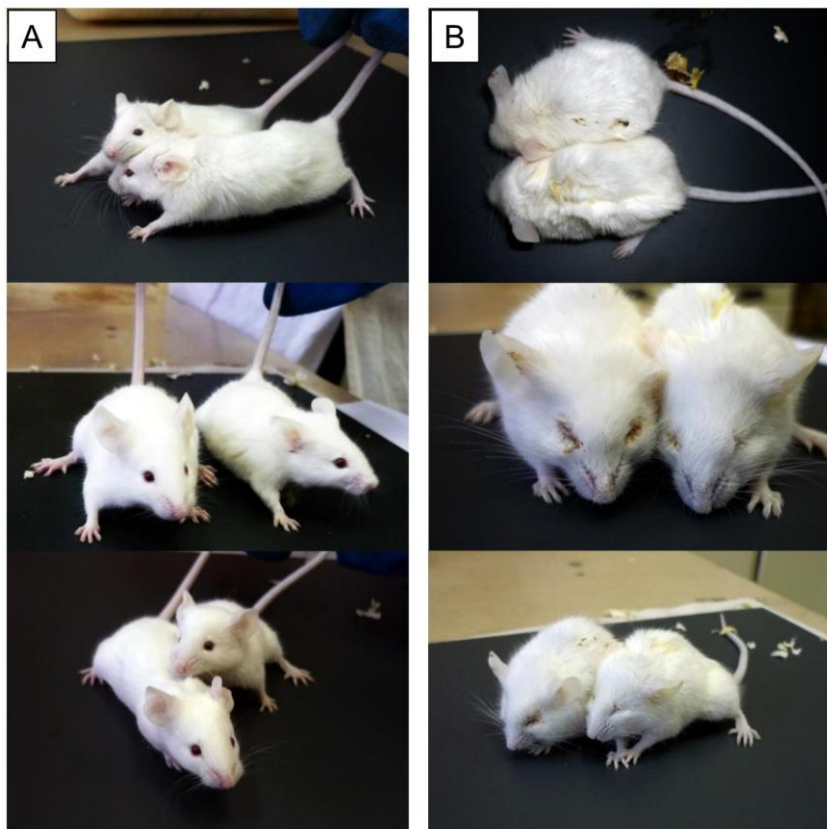
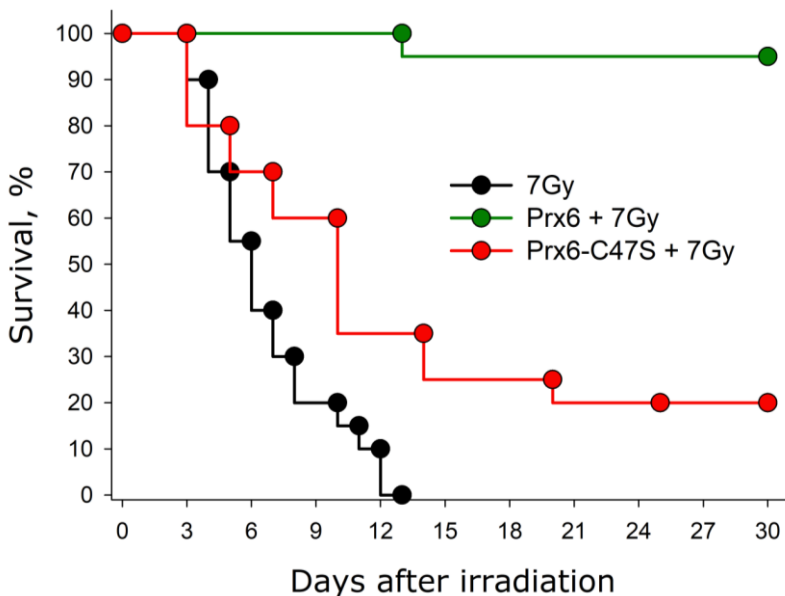


Рис. 6. Мыши после облучения рентгеновским излучением в дозе 7 Гр (спустя 7 дней). А) Внутривенное введение Ргх6 перед облучением (20 мкг/г) В) введение 0,9% NaCl в том же объеме. Облучение животных проводили на «Рентгеновской установке терапевтической» (РУТ-15, Россия) при мощности дозы 1 Гр в мин. [Sharapov et al., 2019]

Аналогичным образом была исследована мутантная форма Prx6-C47S, не обладающая пероксидазной активностью. Удивительно, но даже мутантная форма Prx6-C47S, не обладающая пероксидазной активностью, обладает небольшим радиозащитным эффектом. Полученные результаты по выживаемости мышей, получавших инъекцию Prx6 дикого типа и его мутантной формы Prx6-C47S представлены на Рис. 7,8. Средняя продолжительность жизни облученных мышей составила 7 сут., а максимальное время дожития 13 сут. Введение Prx6 за 15 мин до воздействия рентгеновского излучения существенно увеличило выживаемость мышей ($P < 0.001$). Около 95% животных остались живыми в течение 30 сут. На вкладке к Рис. 6 представлены линейные дозовые зависимости 30-дневного дожития мышей в координатах пробит – доза (Gudkov et al., 2016). Фактор изменения дозы (ФИД) Prx6 дикого типа равен примерно 1,4 [Sharapov et al., 2016; Sharapov et al., 2017].



Рис/ 7. Влияние внутривенного введения Prx6 и его мутантной формы лишенной каталитической активности (Prx6-C47S) (~20 мг/кг) на выживаемость мышей при воздействии рентгеновского излучения в летальной дозе 7 Гр. На каждую точку графика приходилось не менее чем 20 мышей [Sharapov et al., 2019]

В таблице 4 для сравнения приведены значения ФИД для некоторых радиозащитных соединений. Как видно из таблицы 4, существуют соединения с более высокими значениями ФИД, более того существует большое количество радиозащитных препаратов с сопоставимыми значениями ФИД. Однако существенным конкурентным преимуществом Prx6 от приведенных в таблице 4 препаратов является отсутствие его токсичности и побочных эффектов [Novoselov et al., 2011]. Так, например, предполагается, что KGF и G-CSF при их курсовом введении способны стимулировать рост опухолей [Metcalf, 2008]. Введение Interleukin-1 часто вызывает существенное повышение температуры, тошноту, рвоту, головные боли и усталость [Veltri, Smith, 1996]. Сульфгидрильные препараты как радиопротекторы эффективны в дозах близких к остротоксичным [Weiss, Landauer, 2009].

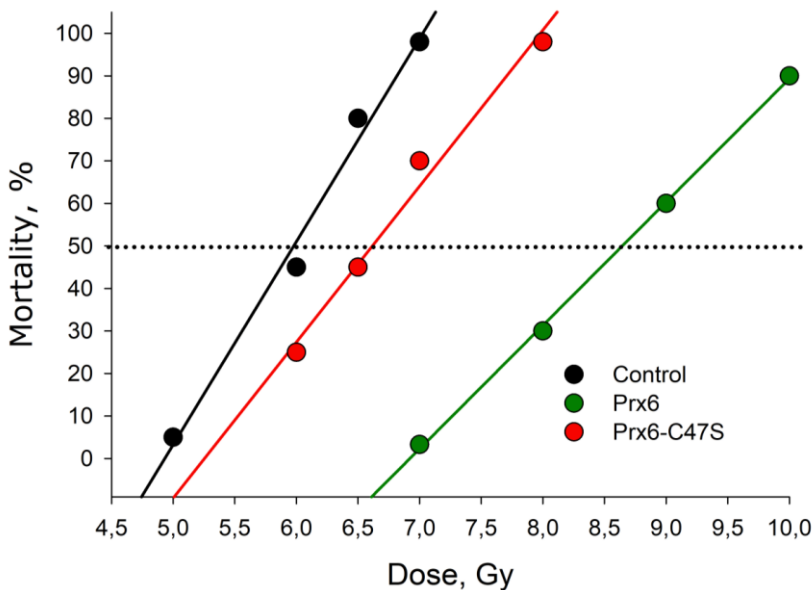


Рис. 8. Влияние Prx6 и его мутантной формы, лишенной каталитической активности, Prx6-C47S на выживаемость мышей при внутривенном введении его за 15 минут до воздействия рентгеновского излучения. График представлен в координатах доза – пробит. На каждую точку графика приходилось не менее чем 20 мышей [Sharapov et al., 2019]

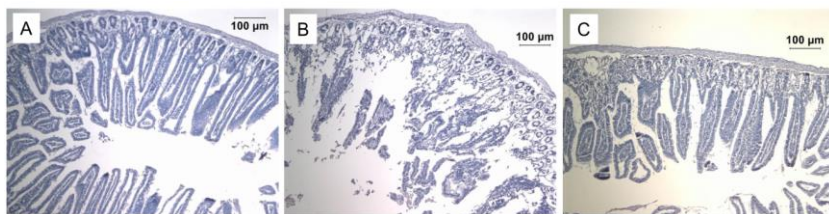


Рис. 9. Гистологическое исследование стенок тонкого кишечника. А – контрольные животные (0 Гр), В – Животные облученные в дозе 7 Гр, С – животные получившие Prx6 в концентрации 20 мкг/г за 15 минут до действие ионизирующей радиации в дозе 7 Гр [Sharapov et al., 2019]

При действии ионизирующей радиации в дозах близких к 10 Гр летальный исход обычно обусловлен повреждениями желудочно-кишечного тракта, в особенности тонкого кишечника. Нами установлено, что введение Prx6 в существенной мере защищает тонкий кишечник от деструктивного действия ионизирующей радиации (Рис. 9). Необходимо также отметить, что ранее на модели поражения тонкого кишечника крысы был показан защитный эффект от введения экзогенного Prx6.

Известно, что летальный исход мелких лабораторных животных (мышей и крыс) при действии ионизирующей радиации в диапазоне доз от 3 до 10 Гр наступает из-за гемопозитического синдрома, в результате массовой гибели клеток костного мозга [Stone et al., 2004]. Это сопровождается также опустошением депо стволовых клеток костного мозга. В результате происходит изменение содержания количества форменных элементов в периферической крови, следствием чего является падение иммунитета и развитие геморагий. Внутривенное введение животным Prx6 до облучения в существенной мере снижает тяжесть радиационно-индуцированной лейкопении и тромбопении [Sharapov et al., 2016; Sharapov et al., 2017].

Кроме того, было показано, что введение Prx6 существенно подавляет повреждения геномной ДНК клеток костного мозга при действии рентгеновского излучения в дозе 1,5 Гр. Линейная дозовая зависимость образования микроядер при тотальном рентгеновском облучении мышей показывает, что введение мышам Prx6 в концентрации 20 мкг/г за 15 мин до облучения в дозе 1,5 Гр приводит к уровню поврежденности ДНК характерному для тотального облучения мышей в дозе всего лишь около 0.1–0.2 Гр. Интересно отметить, мутантная форма Prx6-C47S так-

же проявляет генопротекторные свойства, что очевидно, не может быть связано с антиоксидантными свойствами этого белка.

По-видимому, радиозащитный эффект Prx6 обусловлен несколькими составляющими. Во-первых, пероксидазная активность Prx6, которая обеспечивает нейтрализацию широкого спектра перекисных субстратов, в том числе долгоживущих радикалов белков (ДАФБ), причем Prx6 элиминирует ДАФБ более результативно, чем было показано ранее для таких соединений, как инозин, гуанозин, витамин С и L-метионин [Gudkov et al., 2010; Karp et al., 2010]. Во-вторых, сигнально-регуляторной функцией Prx6, которая способствует запуску восстановительных процессов в стрессовых условиях и не связана с пероксидазной активностью [Sharapov et al., 2016; Sharapov et al., 2017].

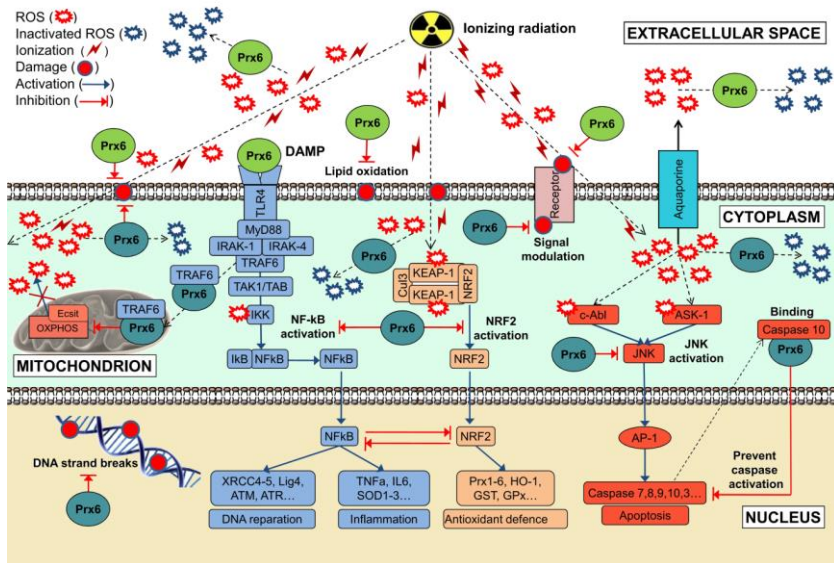


Рис. 10. Схема молекулярного механизма действия эндогенного и экзогенного Prx6 в условиях действия ионизирующего излучения [Sharapov et al., 2019]

5.4. Молекулярные механизмы радиозащитного действия эндогенного и экзогенного PRX6

На сегодняшний день молекулярные механизмы радиозащитного действия экзогенного Prx6 до конца не исследованы. Однако не вызывает сомнений, что наиболее важная составляющая радиозащитного эффекта экзогенного Prx6 – это его пероксидазная активность, что подтверждается существенным снижением радиозащитного эффекта при введении мутантной формы Prx6-C47S, не обладающей пероксидазной активностью. Ранее мы упоминали, что именно Prx6 обладает наиболее широким спектром нейтрализуемых гидропероксидов среди семейства пероксиредоксинов. Известно, что при действии ионизирующего излучения образуются АФК самой различной природы, в том числе пероксиды фосфолипидов, долгоживущие радикалы белков, которые Prx6 эффективно нейтрализует. Наконец, важную роль в радиозащитном действии Prx6 играет его сигнально-регуляторная роль. На Рис. 10 представлена предполагаемая схема возможных событий после воздействия ионизирующего излучения на клетку, а также роль экзогенного и эндогенного Prx6 в этих процессах.

Эндогенный Prx6. Ранее я отмечал, что Prx6 является важными антиоксидантными ферментами, что связано с их широкой субстратной специфичностью и высокой каталитической эффективностью. Однако Prx6 важен не только как антиоксидант, но и как сигнально-регуляторный белок. Благодаря высокой лабильности тиоловых групп в активном центре, пероксиредоксины могут достаточно тонко «чувствовать» изменения в окислительно-восстановительном статусе клетки и, в зависимости от степени этих изменений, направлять ее дальнейшее развитие через взаимодействие с ключевыми регуляторными белками, «переключая» с одного сигнального пути на другой [Rhee, Kil, 2016]. Из-за более медленного процесса восстановления сульфеновой кислоты в активном центре (C_P-SOH), по сравнению с кинетикой окисления C_P-SH, происходит накопление окисленных пероксиредоксинов в клетке [Peskin et al., 2013]. В связи с чем, в ходе восстановления окисленного цистеина C_P-SOH пероксиредоксины могут образовывать межмолекулярные дисульфидные не только с белками – восстановителями (Trx1, Trx2, PDI, π GST), но и с другими тиолсодержащими (-SH) белками: транскрипционными факторами, киназами, фосфатазами, рецепторами, ионными каналами и др., тем самым модулируя их активность и оказывая влияния на многие

клеточные процессы (Рис. 10). В частности, пероксиредоксины локализованные в ядре клетки, взаимодействуют с важнейшими транскрипционными факторами клетки (NF-κB, p53, С-Мус, PTEN, p53 и др), тем самым модулируя экспрессию многих генов [Dietz, 2011; Rhee, Woo, 2011]. Кроме того, при избыточном содержании АФК в клетке происходит перекисление пероксидазного цистеина (C_p-SOH, C_p-SO₂H, C_p-SO₃H) Prx6, что приводит к значительному росту Ca²⁺-независимой активности фосфолипазы A2 (aiPLA2). В результате действия фосфолипазы A2 Prx6 на фосфолипиды мембран образуются лизофосфолипиды, которые выполняют функцию вторичных мессенджеров как в норме, так и при патологиях. Функциональная связь этих двух активностей Prx6 была показана в экспериментах *in vivo*. К культуре клеток HeLa добавляли H₂O₂ в различной концентрации (1–1000 мкМ), при этом, уже при концентрации свыше 100мкМ наблюдается приостановка клеточного цикла (на стадии перехода G2–M), которая коррелирует с перекислением пероксидазного цистеина (C_p-SO₃H) Prx6 и ростом активности aiPLA2 (пропорционально концентрации H₂O₂) [Kim et al., 2008]. Кроме того, независимо от окисления пероксидажного центра, рост фосфолипазной активности (более 10 раз) Prx6 наблюдается после специфического фосфорилирования по остатку Thr177 митоген-активируемыми протеинкиназами MAPKs (ERK2, p38γ и p38δ) [Wu et al., 2009]. Показано, что фосфолипазная активность внутриклеточного Prx6 вызывает стимуляцию сигнальных путей (p38, PI3K/Akt), а также способствует образованию арахидоновой кислоты, которая, в свою очередь, влияет на активность Src (SFK) киназ. Все эти факторы стимулируют рост и деление клеток (Fagoocui, 2009). Подавление активности aiPLA2 Prx6, с помощью ингибитора iPLA2-подобных фосфолипаз (BEL), в некоторых линиях раковых клеток человека приводит к остановке клеточного цикла, подавлению роста клеток и запуску апоптоза [Schmitt et al., 2015; Zha et al., 2015].

Prx6 стимулирует пролиферацию клеток через JAK2/STAT3 сигнальный путь [Yun et al., 2015]. Причем Prx6 непосредственно взаимодействует с белком JAK2, так как иммуногистохимический анализ показал, что в клетках рака легких эти белки колокализуются. Через JAK2/STAT3 сигнальный путь Prx6 влияет на уровень экспрессии провоспалительных цитокинов, особенно хемокина CCL5, стимулирующего деление клеток [Yun et al., 2015].

Было показано, что повышение уровня Prx6 в клетках HeLa придает им устойчивость к TRAIL (TNF-зависимый лиганд, индуцирующий

апоптоз) опосредованному апоптозу. Показано, что Prx6 связывается с DED (Death Effector Domain) доменом инициаторной каспазы-10 и тем самым препятствует образованию сигнального комплекса DISC (Death-Inducing Signaling Complex) и последующей активации эффекторных каспаз (каспазы 3 и 7) [Choi et al., 2011]. Кроме того, в условиях *in vitro* было показано, что связывание Prx6 с каспазой-10 снижается по мере роста концентрации вносимого H₂O₂, и напротив возрастает при добавлении к культуре восстановителя DTT, что свидетельствует о том, что взаимодействие Prx6 с DED доменом каспазы-10 зависит от степени окисления пероксидазного центра Prx6. Таким образом, как эндогенный, так и экзогенный Prx6 может играть важную антиапоптотическую роль, блокируя развитие апоптоза путем связывания и инактивации ключевых регуляторов запрограммированной клеточной гибели [Choi et al., 2011].

Кроме того, было показано, что эндогенный Prx6 играет важную роль в подавлении АФК митохондриального происхождения (mROS). При активации NF-κB, опосредованной стимуляцией TLR4, происходит активация комплекса TRAF6-ECSIT, который способствует OXPHOS-опосредованной генерации mROS. Показано, что эндогенный Prx6 связывается с C-концевым доменом белка TRAF6 и препятствует образованию комплекса TRAF6-ECSIT и генерации mROS [Min et al., 2017].

Таким образом, радиозащитный потенциал эндогенного Prx6 связан как с его каталитическими свойствами, так и с разнообразной сигнально-регуляторной ролью этого белка-антиоксиданта в клетке.

Экзогенный Prx6. Как отмечалось ранее, при действии ионизирующего излучения на живой организм происходит лавинообразный рост уровня АФК в клетках, который приводит к развитию окислительного стресса. Введение экзогенного фермента-антиоксиданта Prx6 перед облучением может влиять на уровень пероксидов в организме, тем самым препятствуя развитию окислительного стресса и нормализуя редокс статус клеток. Возникает вопрос, каким образом экзогенный Prx6, находящийся в момент облучения преимущественно в кровяном русле животных, способен нейтрализовать АФК в клетках, в которые он не проникает? Известно, что гидропероксиды помимо пассивной диффузии, могут активно транспортироваться из клеток в межклеточное пространство с помощью аквапоринов [Bienert et al., 2007]. Таким образом, находясь в экстраклеточном (межклеточном) пространстве экзогенный Prx6 может участвовать в элиминации пероксидов, не только образованных в межклеточном пространстве, но и вышедших из клеток (Рис. 10). Как отме-

чалось ранее, NRF2 – это ключевой транскрипционный фактор, регулирующий ответ клетки на окислительный стресс и оказывающий влияние на экспрессию многих антиоксидантных ферментов [Ishii et al., 2000; Ma, 2013]. Показано, что введение Prx6 интактным животным дозозависимым образом снижает уровень экспрессии гена NRF2, а введение Prx6 перед облучением мышей в дозе 1,5 Гр, нормализует уровень транскрипции NRF2 практически до нормальных значений, что очевидно связано со снижением уровня АФК в клетках. При этом, введение Prx6-C47S интактным животным, а также перед облучением в дозе 1,5 Гр не оказывало существенного влияния на уровень экспрессии NRF2 в клетках костного мозга животных.

Еще одним ключевым транскрипционным фактором, участвующим в ответе на действие ионизирующего излучения, является NF- κ B. Известно, что NF- κ B играет важную роль в устойчивости клеток к действию радиации [Baldwin, 2001], а возросший уровень АФК, также, как и в случае с NRF2, значительно увеличивает экспрессию гена NF- κ B [Takada et al., 2003]. Более того, сигнальные пути NF- κ B и NRF2 тесно связаны друг с другом. Увеличение уровня NF- κ B подавляет экспрессию гена *NRF2* и наоборот [Li et al., 2008]. Подавление активности NRF2, может осуществляться и путем конкурентного взаимодействия NF- κ B с белком CBP (CREB binding protein), который является транскрипционным коактиватором *NRF2*, а также NF- κ B опосредованной активацией HDAC3 (histone deacetylase 3), которая локально в области ARE снижает ацетилирование гистонов, тем самым препятствуя связыванию NRF2 с ARE и транскрипции генов антиоксидантного ответа [Liu et al., 2008]. При воспалительных реакциях может происходить и обратная ситуация, когда NRF2 ингибирует NF- κ B сигнальный путь, которая осуществляется с участием белка RAC1 (small GTPase protein of Rho family) [Cuadrado et al., 2014]. Связь между NF- κ B и NRF2 также показана на мышах, накаутированных по NRF2 (*Nrf2*-null mice). У мышей, не имеющих гена *NRF2*, уровень NF- κ B и контролируемых этим фактором провоспалительных цитокинов значительно выше, чем у мышей дикого типа [Yao et al., 2014]. Таким образом, сигнальные пути NF- κ B и *NRF2* тесно связаны друг с другом. Общая цель этой связи состоит в том, чтобы избежать апоптоза и позволить выжить клетке в стрессовых условиях, однако общая цель достигается различными путями. Условия «переключения» между путями NF- κ B и *NRF2* в существенной степени зависят от биологического вида, типа тканей и физиологического состояния организма [Wang et al., 2015; Lee et al., 2015], причем ключевую роль в этом процессе могут играть пероксиредоксины.

Экзогенный Prx6 может оказывать влияние на уровень NF-kB различными путями. Во-первых, так же как и в случае NRF2 – через регуляцию уровня АФК в клетке. Во-вторых, через TLR4/NF-kB сигнальный путь. Было показано, что спустя сутки после введения экзогенного рекомбинантного Prx6 интактным мышам незначительно (2–3 раза) повышается уровень экспрессии NF-kB. Спустя сутки после воздействия ионизирующего излучения в дозе 1,5 Гр в костном мозгу животных, не получавших инъекцию Prx6, происходит резкий рост уровня экспрессии NF-kB (около 30 раз), а также рост уровня некоторых генов, регулируемых NF-kB (*SOD3*, *XRCC4*, *XRCC5* и *ATR*). Необходимо также отметить, что влияние на экспрессию исследованных генов сохраняется до 30 дней после воздействия ионизирующего излучения. Полученные данные по активации NF-kB коррелируют с данными, полученными в работе [Rithidech et al., 2010], где облучали мышей в дозе 1 Гр и наблюдали активацию NF-kB спустя 3 ч, 24 ч и даже через 1 месяц после облучения. Введение Prx6 до облучения снижает экспрессию NF-kB и регулируемых этим транскрипционным фактором генов, приближая их к значениям интактных животных, что вероятно связано с подавлением АФК. Пероксиредоксины преимущественно имеют внутриклеточную локализацию (кроме секретируемых форм – Prx4, Prx6), однако при нарушении целостности плазматической мембраны клетки, под действием различных неблагоприятных факторов (вирусные/бактериальные инфекции, токсины, ионизирующее излучение и т.д.), они попадают в экстраклеточное пространство и выполняют функцию сигнальных молекул опасности – DAMPs (Damage-Associated Molecular Patterns) [Vénéreau et al., 2015]. DAMPs могут играть как положительную, так и отрицательную роль: в одних случаях они способствуют активации иммунной системы и запуску регенерационных процессов, а в других стимулируют ангиогенез и рост опухолей [Riddell et al., 2012; Vénéreau et al., 2015]. Вероятно, сигнальная функция экзогенного Prx6 происходит через TLR4/NF-kB сигнальный путь [Du et al., 2014]. Относительно недавно было показано, что при ишемическом повреждении клеток мозга, высвобождающийся вследствие разрушения клеток Prx6 может выступать в роли эндогенного лиганда рецептора TLR4 [Riddell et al., 2010]. Для некоторых других представителей семейства пероксиредоксинов также показано влияние на TLR4/NF-kB сигнальный путь. Взаимодействие Prx6 с TLR4 запускает каскад процессов, основную роль в которых выполняет NF-kB, что позволяет запустить процессы экстренной репарации клетки и подавить развитие апоптоза [Hellweg et al., 2015]. Кроме того, мы предполагаем,

что внутривенное введение рекомбинантного Prx6 животным за 15 мин до облучения рентгеновскими лучами может приводить к прекодиционирующему эффекту. К моменту воздействия ионизирующего излучения, под действием введенного экзогенного Prx6 (который воспринимается как DAMP), в клетках уже запущен механизм репарации и антиоксидантного ответа через стимуляцию TLR4/MyD88/NF-kB сигнального пути. Поэтому, последующий стимул – воздействие ионизирующего излучения, не приводит к синергичному росту экспрессии NF-kB. Причем внутривенное введение рекомбинантного Prx6, которое оказалось наиболее эффективным, позволяет экзогенному Prx6 максимально быстро распространиться по организму животного и достичь TLR4 рецепторов на поверхности клеток, по сравнению с внутрибрюшинным или внутримышечным введением. Таким образом, активация NF-kB сигнального пути, которая происходит как за счет связывания Prx6 с TLR4 рецептором, так и через регуляцию внутриклеточного/экстраклеточного АФК, образующихся при воздействии ионизирующего излучения, позволяет защитить клетки от апоптоза, путем запуска воспалительных, репаративных процессов и активации анти-апоптатических факторов [Hellweg et al., 2015].

Антиапоптотический эффект экзогенного Prx6 может быть связан с транскрипционным фактором AP-1, который является одним из важнейших регуляторов апоптоза. Показано, что введение экзогенного Prx6 подавляет уровень экспрессии AP-1 и caspase 3. Интересно отметить, что активация транскрипционного фактора AP-1 также опосредована АФК. Рост уровня АФК способствует окислению и активации киназы ASK-1 (Apoptosis signal-regulating kinase-1), которая, в свою очередь, активирует протеинкиназу JNK (c-Jun N-terminal kinases). JNK активирует AP-1 [Ishikawa et al., 1997]. Сигнальный путь JNK/AP-1 в отличие от NF-kB и NRF2 стимулирует апоптоз клеток [Turraev, 2006]. Было показано, что ингибирование активации JNK/AP-1 с помощью антиоксидантов препятствует индуцированному H₂O₂ апоптозу клеток [Moreno-Manzano et al., 1999]. Экзогенный Prx6, будучи мощным антиоксидантом, снижает концентрацию АФК в клетках и, вероятно, тем самым предотвращает активацию ASK-1 и AP-1. Таким образом, подавление апоптоза клеток в присутствии экзогенного Prx6, связано не только с активацией NF-kB, но и с ингибированием JNK/AP-1 сигнального пути.

Кроме того, недавно было показано, что рекомбинантный Prx6 в условиях *in vitro* образует ион-селективные каналы в искусственных мембранах [Grigoriev et al., 2015]. Причем окисленная форма Prx6

встраивается в мембрану гораздо эффективнее восстановленной, что может объясняться возросшей фосфолипидной активностью. На сегодняшний день, данный феномен не показан в условиях *in vivo*, однако нельзя исключать, что экзогенный Prx6 может «встраиваться» в мембрану клеток, выполняя при этом функцию ионного канала.

Таким образом, мы предполагаем, что в основе радиозащитных свойств Prx6, с одной стороны, лежит способность к нейтрализации широкого спектра АФК, а с другой стороны сигнально-регуляторная активность, что способствует запуску различных клеточных механизмов восстановления нарушенного окислительно-восстановительного гомеостаза.

5.5. Перспективы применения Prx6

Нарушение функции пероксиредоксинов, изменение уровня их экспрессии или локализации, приводит к нарушению окислительно-восстановительного гомеостаза в клетках и тканях, что в свою очередь приводит к развитию различных патологий [Lankin et al., 2007; Lankin et al., 2017]. При некоторых заболеваниях, сопровождающихся развитием мощного окислительного стресса, применение экзогенных пероксиредоксинов позволяет скорректировать течение патологического процесса и способствует более быстрому восстановлению пораженных органов и тканей. При других патологиях, например, при онкологических заболеваниях, сопровождающихся избыточным синтезом эндогенных пероксиредоксинов, напротив, требуется подавление их экспрессии.

Подавление экспрессии Prx6 при терапии рака. Раковые клетки имеют повышенный уровень АФК по сравнению с нормальными клетками, что связано с накоплением как внутренних нарушений метаболизма, так и с действием внешних факторов, таких как: гипоксия, увеличение метаболической активности оксидаз, липоксигеназ, нарушение функционирования митохондрий, воздействие клеток иммунной системы организма и т.д. Для защиты от окислительного стресса раковые клетки развили мощную систему антиоксидантной защиты, одним из «эшелонов» которой являются пероксиредоксины. Высокий уровень пероксиредоксинов наблюдается при многих раковых заболеваниях, в том числе обладающих высокой устойчивостью к действию ионизирующего излучения [Kanasty et al., 2013; Levanova, Poranen, 2018]. Использование малых интерферирующих РНК (siRNA) для подавления экс-

прессии генов PRDX's, в комбинации с радиотерапией / химиотерапией, может быть одним из эффективных подходов при лечении раковых заболеваний. В частности, эта стратегия была успешно применена в условиях *in vitro* и *in vivo*, при подавлении экспрессии PRDX1 в клетках рака легких и кишечника человека [Chen et al., 2006; Zhang et al., 2008]. Подавление экспрессии PRDX2 с помощью siRNA увеличивает эффективность действия радиации и цисплатина на клетки рака желудка [Do Yo et al., 2002]. Совместное использование химиотерапевтических препаратов, продуцирующих АФК, или ионизирующего излучения со специфическими ингибиторами Prx's также представляется перспективным подходом. К таким ингибиторам относятся: аурофонин, аденантин, имексон, бутионин, сульфоксимин и т.д. В частности, на модели лимфомы Беркитта было показано, что соединение SK053 ковалентно связывается и ингибирует тиоредоксины (играющие роль восстановителей в каталитическом цикле) и все пероксиредоксины, блокируя тем самым деление клеток и активируя апоптоз [Kłossowski et al., 2012]. Недавно был открыт специфический ингибитор Prx6 – тиакремонон (thiacremonone), который дозозависимым образом подавляет рост клеток рака легких человека (A549 и NCI-H460) и запускает в них апоптоз [Jo et al., 2014]. Токсин SVT из яда среднеазиатской гюрзы (*Vipera lebetina turanica*) специфически подавляет экспрессию PRDX6. На животной модели рака легких (с клетками рака легких человека A549 и NCI-H460) было показано, что SVT дозозависимым образом подавлял уровень Prx6 в раковых клетках и стимулировал их апоптоз [Lee et al., 2015].

Применение Prx6 в качестве радиопротектора. Исследования показали, что введение Prx6 перед тотальным облучением в сублетальных и летальных дозах существенно повышает выживаемость животных. Испытание Prx6 в качестве радиопротектора открывает новое направление в создании современных, эффективных и безопасных радиопротекторов. Как отмечалось ранее, в настоящее время не существует идеального радиопротектора. Наиболее эффективные химические радиопротекторы обладают серьезными побочными действиями, что ограничивает их применения в эффективных концентрациях. Напротив, Prx6 – является природным радиопротектором и не обладают токсичностью, при этом его эффективность не уступает многим известным синтетическим радиопротекторам (таблица 4). Препараты на основе Prx6 могут применяться индивидуально или в комбинации с применяющимися в настоящее время радиопротекторами, что позволит существенно снизить веро-

ятность побочных эффектов и тяжесть последствий действия ионизирующего излучения. Наиболее интересным является использование радио-защитных препаратов с различными механизмами действия, например Ргх6 в качестве антиоксиданта, а индралин, снижающий потребление кислорода тканями, в качестве гипоксанта, что позволит добиться синергичного эффекта.

Таким образом, имеются все предпосылки для создания на основе эффективного радиопротектора, который сможет найти применение на объектах атомной промышленности, в космических полетах, а также в медицине при радиотерапии рака, для защиты здоровых тканей.

6. НАПРАВЛЕННАЯ РАДИОНУКЛИДНАЯ ТЕРАПИЯ ОПУХОЛЕЙ ЧЕЛОВЕКА

На протяжении всей своей истории человечество мечтало метко попадать в мишень. Сначала была изобретена праща, потом лук и стрелы, огнестрельное оружие, высокоточное реактивное оружие, лазеры... Мишень же отодвигалась все дальше и становилась все меньше, однако данное обстоятельство только подталкивало человеческий разум к изобретению все более сложных и точных систем. Другим эволюционным подходом является изобретение бомб. В данном подходе не обязательно быть точным, главное быть мощным, цель все равно будет поражена, несмотря на огромный сопутствующий ущерб. В радиотерапии злокачественных новообразований оба этих подхода так же наличествуют, с бомбами можно сравнить лучевую терапию, которая так или иначе затрагивает здоровые ткани. С высокоточным оружием – направленную радионуклидную терапию, которой и посвящен данный обзор.



Рис. 11. Распространенность различных видов терапии рака [Gudkov et al., 2015]

В основе направленной радионуклидной терапии лежит принцип использования высокоаффинных молекул в качестве переносчиков радиоактивных изотопов к опухолевой клетке [Circio et al., 1976]. Фармпрепараты для направленной радионуклидной терапии зачастую вводят внутривенно или внутритрислобно. После инъекции такие фармпрепараты

ты попадают в кровоток и, так или иначе, встречаются со своей целью – молекулой-мишенью на поверхности опухолевых клеток. Радиоактивный изотоп прикрепленный к фармпрепарату в таком случае воздействует непосредственно на опухолевую клетку [Sfakianakis, DeLand, 1982]. Нужно отметить, что используемость направленной терапии занимает всего несколько процентов от всех остальных способов лечения рака (Рис. 11), но при наличии в мире более, чем 7 млн. онкобольных – это впечатляющая цифра. Клинически, направленная радионуклидная терапия наиболее широко применяется к наиболее радиочувствительным опухолям, в частности, лейкомиям и лимфомам. Солидные опухоли зачастую бывают более радиорезистентными и требует иногда на порядок большей дозы ионизирующей радиации. Относительная радиочувствительность раковых клеток обычно коррелирует с радиочувствительностью нормальной ткани, из которой происходит опухоль. Из более радиочувствительных тканей, например, красного костного мозга, возникают радиочувствительные опухоли, и наоборот, из радиорезистентных тканей, таких, например, как ткани мозга, возникают более радиорезистентные [Reilly, 1991]. Независимо от исходной радиочувствительности, основной целью направленной радионуклидной терапии является безрисковая для нормальных тканей доставка радиоизотопов к раковым клеткам, получение этими клетками высоких поглощенных доз ионизирующей радиации и их уничтожение. Разработка новых визуальных пространственных методов для оценки поглощенной дозы как в опухоли и в нормальных тканях при применении направленной радионуклидной терапии в настоящее время позволяет избежать побочных эффектов и токсичности, связанной с чрезмерным облучением, что ведет к персонализации схемы лечения каждого конкретного пациента. Такой сплав терапии и диагностики, по сути, является примером возможности применения тераностического подхода, в котором фармпрепарат используется как для диагностических (в следовых количествах), так и для терапевтических целей [Goldenberg et al., 2012]. Зачастую, в клиниках для достижения тераностического подхода при использовании направленной радионуклидной терапии используется позитронно-эмиссионная или компьютерная томография. Такой подход обеспечивает лечащего врача точной топографией опухоли, пространственной дозиметрии и позволяет разработать наиболее оптимальную персонафицированную схему лечения.

6.1. Особенности направленной радионуклидной терапии

Метод направленной радионуклидной терапии основан на селективном накоплении фармпрепарата, содержащего радиоактивный изотоп, только в тканях опухолевого очага. В идеальном случае направленная радионуклидная терапия должна напрямую влиять только на раковые клетки и не оказывать воздействия на нормальные клетки. Данное условие дает возможность создать фармпрепарат с большим, а в идеальном случае с бесконечно большим терапевтическим индексом, что позволит получить высокую эффективность при минимальных рисках для здоровья. На практике, этот идеальный случай фактически невозможен, потому что небольшое повреждение нормальных тканей, так или иначе, происходит в процессе «подлета к цели», за счет «эффекта свидетеля» (bystander effect) и катаболизма фармпрепарата сопровождающимся освобождением радиоизотопа [Rouget et al., 2015]. Другим плюсом направленной радионуклидной терапии является удобство для пациента. Фармпрепараты для направленной радионуклидной терапии вводят в течение нескольких минут, после чего они несколько дней воздействуют на опухоль, а пациент в течение этого времени не должен проходить дополнительных процедур и получать дополнительных инъекций [Golden, Arpetoh, 2015]. Для создания таких фармпрепаратов с пролонгированным действием и высоким терапевтическим индексом необходимо тщательно подобрать радиоизотоп и платформу для его доставки в опухоль.

6.2. Выбор радиоизотопа

Очевидно, что радиоизотопы, используемые в направленной терапии, должны отвечать нескольким характеристикам.

1. При радиационном распаде радиоизотопа должны наносить раковой клетке существенные повреждения. Наибольшее количество повреждений биомолекулы получают за счет АФК, образующихся при радиолизе воды, нежели за счет прямого взаимодействия. Наиболее эффективными для терапии являются радиоизотопы, излучающие α -, β -частицы или электроны Оже, так как данные излучения имеют наибольшую относительную биологическую эффективность, то есть при той же дозе наносят больший урон биологическим системам по сравнению с ионизирующими электромагнитными излучениями (рентгеновское и γ излучения) (Рис. 12) [Ward, 1988]. Линейная передача энергии для α -частиц

составляет ~ 80 КэВ/мкм, а для β - частиц $0,2\text{--}2,0$ КэВ/мкм [Audia et al., 2003]. Альфа-частицы могут нанести необратимые повреждения ДНК и индуцировать клеточную гибель при проходе через сечение ядра $2\text{--}3$ треков, тогда как для β -частиц необходимо $10^2\text{--}10^3$ треков. Энергия β -частиц имеет большее влияние на эффективность терапии, в зависимости от этого показателя различные радионуклиды могут быть использованы для лечения различных заболеваний. Так, в случае лейкоemий, лимфом и метастазов предпочтительно иметь низкую энергию частиц, в то время как использование β -частиц с высокой энергией предпочтительно для солидных опухолей [Kassis, Adelstein, 2005].

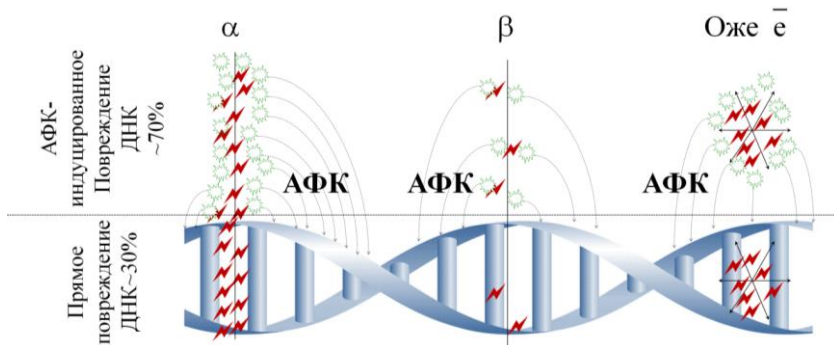


Рис. 12. Схематическое изображение плотности ионизации вдоль треков α , β -частиц и электронов Оже (α -частицы являются плотноионизирующим излучением, β -частицы редкоионизирующим, электроны Оже создают кластеры высокой плотности ионизации). \blacklightning – акт ионизации, \star – АФК, образуются в результате радиолитиза (ионизация молекул воды). В результате прямого взаимодействия высокоэнергетической частицы с ДНК образуется примерно 30% повреждений, остальные 70% образуются за счет взаимодействия ДНК с АФК [Gudkov et al., 2015]

2. Выбор типа излучения зависит от размера опухоли, неоднородности опухоли, в том числе степени неоднородности распределения радионуклидов, фармакокинетики и других факторов [Barendsen et al., 1960]. Пробеги β -частиц в тканях иногда достигают более чем десятка миллиметров, поэтому их целесообразно использовать для относительно больших опухолей. Пробеги α -частиц в тканях составляет $50\text{--}100$ мкм, так что они будут наиболее эффективны против небольших новообразований, а также микрометастазов. Радионуклиды, излучающие электроны

за счет эффекта Оже, как правило, эффективны только тогда, когда несущие их молекулы могут проникать через клеточную мембрану и достигать ядра (например, препаратом In-Octreotide).

3. Период полураспада радионуклида должен быть согласован с фармакокинетикой молекулы переносчика *in vivo*. То есть период полураспада должен быть больше, чем время, необходимое для приготовления фармпрепарата, его введения и локализации в опухоли, но не значительно. Оптимальное значение периода полураспада для изотопов, используемых в радионуклидной терапии, составляет от 6 часов до 7 дней [Qaim, 2001]. Исключением, пожалуй, является только изотоп ^{89}Sr с периодом полураспада 50 суток [Kuroda, 2012].

Таблица 6

Изотопы, используемые при направленной радионуклидной терапии

Изотоп	$T_{1/2}$, ч	E_{max} , мэВ (*)
^{124}I	100,1	$\beta - 1,6$ (~90%); $2,2$ (~10%)
^{131}I	192,0	$\beta - 0,7$ (89%); $\gamma - 0,4$ (82%); $\beta/\gamma^{**}=1$
^{86}Y	14,7	$\beta - 1,2$ (~90%); $1,6$ (~10%)
^{90}Y	64,8	$\beta - 2,2$ (100%)
^{177}Lu	160,8	$\beta - 0,5$ (100%)
^{188}Re	17,0	$\beta - 2,0$ (100%)
^{64}Cu	12,7	$\beta - 0,6$ (100%)
^{67}Cu	61,9	$\beta - 0,4$ (100%)
^{89}Zr	78,0	$\beta - 0,9$ (100%)
^{212}Pb	10,6	$\beta - 0,6$ (~80%); $\gamma - 0,2$ (44%); $0,08$ (18%)
^{212}Bi	1,0	$\alpha - 6,0$ (100%); $\beta - 2,0$ (100%); $\alpha/\beta^{**} = 0,67$
^{213}Bi	0,7	$\alpha - 5,8$ (97%); $\beta - 1,4$ (100%); $\alpha/\beta^{**} = 0,02$
^{211}At	432,1	$\alpha - 5,9$ (42)
^{225}Ac	240,2	$\alpha - 5,7$ (100%)
^{223}Ra	273,6	$\alpha - 5,7$ (100%)
^{149}Tb	4,1	$\alpha - 4,0$ (~80%)
^{226}Th	0,5	$\alpha - 6,3$ (~50%)
^{227}Th	448,8	$\alpha - 6,0$ (48%)

* – процент квантов с указанной энергией от общего количества квантов этого типа, испускаемого данным изотопом.

** – отношения количества квантов одного типа излучений к количеству квантов излучения другого типа.

4. Изотопы используются для направленной радионуклидной терапии должны быть высокого класса химической чистоты и свободны от следовых примесей сопутствующих элементов и металлов. Примеси металлов существенным образом мешают в процессе «пометки» молекул переносчиков металлическими радионуклидами.

5. Если вместе с терапией параллельно проводится диагностика, то для проведения визуализированных дозиметрических оценок и мониторинга ответа на терапию эффективно использовать изотопы γ -эмиссией. В идеале γ -излучение должно быть низкой энергии (в идеале < 30 КэВ), чтобы обеспечить эффективную работу гамма-камеры и свести к минимуму вклад негативное воздействие на нормальные ткани [Kraeber-Bodéré et al., 2015].

6. Важным качеством является способность изотопа связываться с большим количеством молекул-носителей разных химических классов. Получившийся фармпрепарат должен быть стабильным, как в условиях кратковременного хранения, так и в условиях контакта с биологическими жидкостями.

7. Крупномасштабное производство изотопов для направленной радионуклидной терапии должно осуществляться экономически эффективным образом. Крайне дорогие изотопы, пусть и обладающие привлекательными характеристиками, будет трудно использовать в практике широкомасштабно.

Основные характеристики изотопов, наиболее часто используемых сегодня в направленной радионуклидной терапии, представлена в табл. 6, с более подробным описанием изотопов можно ознакомиться в работе [Audia et al., 2003]. В 90% случаев применения направленной радионуклидной терапии в клинике используются β -излучающие изотопы ^{131}I и ^{90}Y . Данные изотопы являются стандартом, с которым сравнивают все другие радионуклиды [Larson et al., 2015]. ^{131}I и ^{90}Y применяют в направленной радионуклидной терапии благодаря подходящим эмиссионным характеристикам, простоты в получении и химическим свойствам, которые позволяют просто и стабильно присоединять изотопы к молекулам-переносчикам. Существует масса опубликованных работ, описывающих эффективность этих изотопов для лечения в клинике: как гематологических, так, хотя и реже, солидных злокачественных новообразований. Изотоп ^{131}I является относительно дешевым, может использоваться как для визуализации, так и для терапии и имеет многолетний успешный опыт применения в лечении ряда злокачественных опухолей, включая рак щитовидной железы. Минусом применения ^{131}I является

появление ^{131}I -тирозина и свободного ^{131}I в кровеносном русле пациентов, данная ситуация особенно остро проявляется при быстрой биодegradации молекул-переносчиков ^{131}I в процессах эндоцитоза опухолевыми клетками [Press et al., 1996]. Кроме того, γ -лучи, испускаемые ^{131}I могут представлять радиационную опасность для членов семьи и медицинского персонала. При введении пациенту больших доз фармпрепарата содержащего ^{131}I , в некоторых случаях необходимо производить госпитализацию и изоляцию больного. Изотоп ^{90}Y является разумной альтернативой изотопу ^{131}I для терапевтических целей. Плюсом является, то, что ионизирующее излучение практически не покидает организм пациента, а на медперсонал и членов семьи ложится гораздо меньшая радиационная нагрузка, по сравнению с ^{131}I . К тому же, ^{90}Y имеет меньший период полураспада, почти в два раза большую энергию β -частиц и в меньшей степени покидает опухолевые клетки. К минусам можно отнести более высокую цену [Govindan, Goldenberg, 2010]. С попытками применения в направленной радионуклидной терапии ряда не упомянутых в данной статье изотопов можно ознакомиться в обзорах [Seidl, 2014; Ogawa, 2014].

6.3. Выбор молекулы-переносчика

Очевидно, что молекулы-переносчики, используемые в направленной терапии, также должны отвечать нескольким характеристикам.

1. Молекула-переносчик должна обладать высоким сродством и специфичностью по отношению к мишени.

2. Молекула-переносчик не должна быть токсичной или иммуногенной, желательный показатель ЛД₅₀ не менее 1,5 г на кг живого веса.

3. Молекула-переносчик не должна быть устойчива к авторадиолизу, хорошо сохраняться, как в условиях хранения, так и в условиях контакта с биологическими жидкостями.

4. Получение молекул-переносчиков достаточной химической чистоты должно быть достаточно простым и экономически эффективным.

5. Молекула-переносчик должна быть способна связываться с большим количеством радиоизотопов. Специфические химические модификации должны преимущественно включать наименьшее количество реакций.

Основными переносчиками радионуклидов при терапии являются: антитела и пептиды, хотя были попытки использовать в качестве транспортных агентов липосомы и такие молекулы, как бисфосфонаты и

декстран и т.д. [Dash et al., 2013]. Благодаря высокой специфичности моноклональные антитела и их фрагменты являются одними из лучших молекул-переносчиков для направленной радионуклидной терапии [Scott et al., 2012]. В большинстве злокачественных новообразований наблюдается гиперэкспрессия некоторых антигенов характерных только для опухоли, в связи с этим изготовление с помощью гибридомной технологии нужного антитела является вполне решаемой задачей. Антитела с радиоизотопами можно связывать как прямым методом, так и с помощью бифункционального хелатирующего агента (bifunctional chelate). Несмотря на крайне существенные плюсы, очевидными минусами антител являются их размеры, например, самый малый иммуноглобулин G (IgG) имеет массу 150 кДа и медленная по сравнению с пептидами кинетика [Weiner, 2015]. Чрезмерная экспрессия многих пептидных рецепторов на опухолевых клетках человека по сравнению с нормальными тканями делает аналоги сигнальных пептидов эффективными молекулами-переносчиками для направленной радионуклидной терапии. Наиболее часто используемыми пептиды-переносчики используют при терапии нейроэндокринных опухолей (в основном это аналоги соматостатина [Bodei et al., 2014], а также при терапии рака прямой кишки (пептиды к антигенам EphA2, RNF43-721, ABT-737) [Shapira et al., 2014].

Кроме антител и пептидов в истории радионуклидной терапии были попытки использовать и другие транспортные агенты. Так, липосомы могут быть переносчиками радионуклидов при васкуляризации опухолей, в основном печени и селезенки. Перенос может осуществляться, как во внутриполостном пространстве липосомы, так и между слоями [Cole, 2015]. Такие полимеры, как декстран, хитозан, PLA/PGLA и т.д., имеют принципиально похожий с липосомами механизм действия и могут использоваться в направленной радионуклидной терапии [Cole, 2015]. Рассмотрим данную группу соединений на примере декстрана. Декстран представляет собой разветвленный полисахарид мономером которого являются молекулы глюкозы. Декстран используется для пассивного накопления радионуклидов в васкуляризованных опухолях, так же как и липосомы, в основном, накапливается в печени и селезенке [Dash et al., 2013]. Накопление всех перечисленных выше транспортных агентов в опухоли обусловлено повышенной проницаемостью несовершенного сосудистого русла опухоли для объектов нанометрового размера, а также их удержанием в опухоли за счет неразвитого лимфатического оттока. В литературе данный эффект получил название «EPR-эффекта», от англ. «enhanced permeability and retention». Бисфосфонаты (bisphospho-

nates) являются биологически стабильными аналогами пирофосфатов естественного происхождения. Они ингибируют резорбцию костной ткани, препятствуя активации остеокластов, участвуют в формировании костной ткани, стимулируя дифференцировку остеобластов. Бифосфонаты успешно используются для доставки радионуклидов, так как они эффективно связываются с гидроксиапатитом в местах активного костеобразования, что позволяет им накапливаться в непосредственной близости от опухолей костной ткани [Anderson et al., 2014].

6.4. Выбор антигена-мишени опухолевой клетки

Выбор оптимального антигена, присутствующего на мембране раковых клеток, имеет решающее значение при терапии и диагностике. Идеальный антиген для направленной радионуклидной терапии должен:

1. Равномерно экспрессироваться на всей поверхности всех клеток злокачественных опухолей;
2. Не экспрессироваться на нормальных клетках;
3. Не попадать в кровоток.

Более подробные правила отбора для клинических нужд антигенов-мишеней опухолевых клеток изложены в недавнем обзоре [Weiner, 2015].

В роли антигенов-мишеней обычно выступают макромолекулы, локализованные на поверхности клеточных мембран опухолевых клеток. Они легко доступны из крови и внеклеточной жидкости и зачастую включают гематопоэтические кластеры дифференцировки (CD), которые в норме экспрессируются во время созревания кроветворных клеток различных линий. Удобными антигенами-мишенями обычно являются гликопротеины клеточной поверхности (муцины, GPA33, NG2), ферменты (PSMA, CAIX), гликолипид (GD2), стромальные компоненты (FAP α), компоненты кровеносных сосудов (интегрины, VEGFR, фибронектин В) и молекулы сигнальной трансдукции (GFR, EGFR, HER2) [Hofmeister et al., 2008]. Идеального антигена-мишени пригодного для направленной радионуклидной терапии в настоящий момент не существует, однако мишени близкие к идеальным известны для нескольких типов опухолей. Так, для лимфомы такими антигенами-мишенями являются CD20 и CD22 [Jabbour et al., 2015]. Для острого миелоидного лейкоза – CD33 и CD45 [Seifert et al., 2014]. Для солидных опухолей – PSMA [Slovin, 2015] и фибронектин В [Ronca et al., 2009]. Для рака толстой и прямой кишки – GPA33 [Garinchesa et al., 1996].

6.5. Направленная радионуклидная терапия гематологических злокачественных новообразований

Использование направленной радионуклидной терапии при лечении гематологических злокачественных новообразований является в существенной степени эффективным по ряду причин: 1. многие раковые линии экспрессируют специфические поверхностные клеточные антигены, не встречающиеся в других тканях организма; 2. к этим антигенам в настоящее время доступно большое количество высококачественных антител; 3. лейкозы и лимфомы крайне чувствительны к действию ионизирующей радиации [Huang et al., 2012]. Кроме того, доступность технологии трансплантации клеток костного мозга позволяет увеличение дозы облучения. Это особенно существенно, при применении технологии автотрансплантации SCR (stem cell rescue), когда до получения высокой дозы радиации у пациента производится отбор собственных стволовых клеток, которыми после курса терапии восстанавливают его значительно оскудевший пул стволовых клеток. В клинике при направленной радионуклидной терапии опухолей кроветворной системы зачастую применяются антитела к антигену CD20, на основе этих антител производится конъюгат с изотопами ^{131}I или ^{90}Y . Суммарная эффективность терапии такими фармпрепаратами достаточно высока, около 60–80%, частота полной ремиссии – 15–40%. Медиана длительности полной ремиссии при такой направленной радионуклидной терапии около 1–2 лет, в 15–20% случаев наблюдается устойчивая ремиссия, длительность которой бывает вплоть до 10 лет и более [Larson et al., 2015]. Так же в направленной радионуклидной терапии опухолей кроветворной системы применяются антитела к антигенам CD33, CD45 и CD66 [Jurcic, 2013]. Перспективными с точки зрения доклинических и клинических исследований являются антигены CD5 для терапии хронического лимфоцитарного лейкоза [Tabata et al., 2014], CD30 и ферритин для терапии лимфомы Ходжкина [Koon, Junghans, 2000], CD25 для терапии острых Т-клеточных лейкозов и лимфом [Zhang et al., 2006].

6.6. Направленная радионуклидная терапия солидных злокачественных новообразований

Клиническая эффективность классической направленной радионуклидной терапии солидных злокачественных новообразований в настоящее время остается в значительной мере не высокой. Данное об-

стоятельство, связано с тем, что клетки солидных опухолей крайне устойчивы к действию ионизирующей радиации и геометрически мало доступны для больших молекул, таких как антитела. Более того, радиорезистентность одной клетки в культуре гораздо меньше, чем радиорезистентность клеток в монослое, радиорезистентность клеток в монослое в свою очередь ниже, чем радиорезистентность клеток, образующих 3D структуру. Для решения данной проблемы в настоящее время применяют многоэтапную направленную радионуклидную терапию (multi-step pre-targeted radionuclide therapy). Данная технология может как существенно повысить избирательность терапии, так и увеличить дозовую нагрузку на опухоль (Рис. 13). Далее в тексте мы приведем ряд положительных примеров направленной радионуклидной терапии солидных опухолей. Так, в клинике при направленной радионуклидной терапии метастазов колоректально карциномы в печени применялись антитела к антигену СЕА, на основе этих антител производился конъюгат с изотопами ^{131}I . Медиана выживаемости при такой направленной радионуклидной терапии составляла около 68 месяцев, медиана длительности полной ремиссии при этом составила 18 месяцев [Liersch et al., 2005]. Другим позитивным примером клинического применения направленной радионуклидной терапии является лечение кастрационно-резистентного рака предстательной железы, применялись антитела к антигену PSMA, на основе этих антител производился конъюгат с изотопами ^{177}Lu . Медиана выживаемости при такой направленной радионуклидной терапии увеличилась на 10 месяцев [Tagawa et al., 2013]. При терапии меланомы 4 стадии применялись антитела к антигену NG2, радиоизотоп ^{213}Bi . Показано, что у 50% наблюдалось длительное стабильное протекание болезни, у 14% наблюдалась частичная ремиссия [Raja et al., 2007]. При терапии метастазирующей меланомы применялись антитела к антигену NG2 с радиоизотопом ^{213}Bi , медиана выживаемости при такой направленной радионуклидной терапии увеличилась на 9 месяцев [Allen et al., 2011].

Эффективным при направленной радионуклидной терапии солидных нейроэндокринных злокачественных новообразований является использование селективных пептидов. Так, в клинике при направленной радионуклидной терапии опухоли поджелудочной железы применяется пептид DOTATATE, аналог соматостатина, конъюгированный изотопом ^{177}Lu . В течение 20 месяцев у 12% пациентов наблюдалась полная ремиссия, еще у 27% частичная ремиссия, у 46% пациентов наблюдалось стабильное без осложнений течение болезни [Sansovini et al., 2013]. При применении пептида DOTATOC с изотопом ^{90}Y при опухоли поджелу-

дочной железы, у 4% пациентов наблюдалась полная ремиссия, еще у 23% частичная ремиссия, у 62% пациентов наблюдалось стабильное без осложнений течение болезни [Fogter et al., 2006]. Использование аналогичного фармпрепарата при терапии гастронейроэндопанкреотических опухолей привело к следующим результатам: у 5% пациентов наблюдалась полная ремиссия, еще у 18% частичная ремиссия, у 69% пациентов наблюдалось стабильное, без осложнений, течение болезни [Waldherr et al., 2002]. В целом с прогрессом, достигнутым в радиотерапии опухолей с помощью пептидов можно более детально познакомиться в обзорах [Nisa et al., 2011; Shah et al., 2015; Kraeber-Bodéré et al., 2014].

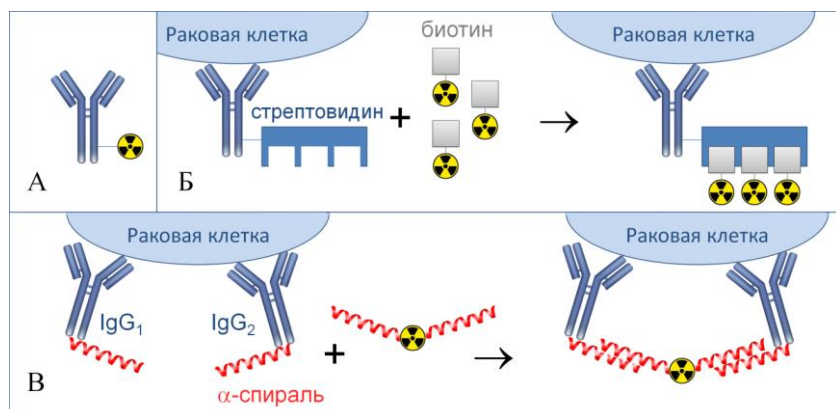


Рис. 13. Основные схемы, используемые при направленной радионуклидной терапии. А. Обычная направленная радионуклидная терапия (conventional targeted radionuclide therapy) осуществляется только с помощью моноклональных антител или других молекул переносчиков, конъюгированных непосредственно с радионуклидом. Б. Многоэтапная направленная радионуклидная терапия (Multi-step pre-targeted radionuclide therapy), режим «усилителя». Предварительно используются антитела, конъюгированные со стрептавидином, после связывания антител вводят биотин, меченный радиоактивными изотопами (radiolabelled DOTA-biotin). Предполагается, что каждая молекула стрептавидина свяжет четыре молекулы биотина, меченных радиоизотопом. В. Многоэтапная направленная радионуклидная терапия (Multi-step pre-targeted radionuclide therapy), режим увеличения избирательности. Предварительно используются антитела к одному или разным антигенам, конъюгированным с α -спиралью, например, с морфолиновыми олигонуклеотидами. После связывания антител вводят радиоактивные изотопы конъюгированные с α -спиралями комплементарными к α -спиралям связанным с антителами [Gudkov et al., 2015]

6.7. Имеющиеся коммерческие фармпрепараты для направленной радионуклидной терапии

В настоящее время в клиническую практику внедрено несколько фармакологических препаратов для направленной радионуклидной терапии опухолей (Таблица 7). Большинство известных препаратов в качестве радиоизотопа содержат ^{90}Y или ^{131}I . По большей части, данные препараты эффективны против гематологических злокачественных новообразований. Большинство препаратов имеют крайне высокую цену, иногда неконкурентную цену, некоторые, как например Веххар (выпускался 2003–2014 гг.), даже закончили выпускать в связи с экономическими причинами.

Zevalin[®] (Ibritumomab tiuxetan) – первый доступный на международном рынке препарат для радиоиммунотерапии. В феврале 2002 г. он одобрен комиссией по пищевым веществам и лекарственным средствам США (FDA) для лечения рецидивирующей или резистентной формы фолликулярной В-клеточной неходжкинской лимфомы низкой степени злокачественности. Антиген-CD20, радиоизотоп – ^{90}Y [Sánchez Ruiz et al., 2014]. Lymphocide[®] (Epratuzumab) – препарат, находится в III фазе клинических испытаний. Антиген-CD22, радиоизотоп – ^{90}Y . Предназначен для терапии В-клеточной неходжкинской лимфомы и хронической лимфоцитарной лейкемии [Leonard et al., 2004]. Theragyn[®] (Pentumomab) – препарат, известный также как Theragyn или HMFg1, находится в III фазе клинических испытаний. Основа мышиное моноклональное антитело аффинное к муцину MUC1, радиоизотоп – ^{90}Y . Гликопротеид муцину экспрессируется на поверхности эпителиальных раковых клеток, включая рак яичников, желудка, молочной железы и легких (Beatson, 2010). PAM4 (^{90}Y -clivatuzumab tetraxetan) – препарат, демонстрирующий высокую реактивность в отношении рака поджелудочной железы, находится в III фазе клинических испытаний. Не накапливается в нормальных тканях и ограничено накапливается в других опухолях. Радиоизотоп – ^{90}Y . Антиген-CA19-9, ассоциирован с аденокарциномой поджелудочной железы [Han et al., 2014]. CEACide (Labetuzumab) – препарат известен также как CEACide, готовится к III фазе клинических испытаний. Антитела аффинны к карциноэмбриональному антигену (CEA). CEA экспрессируется в 90% случаев колоректального рака [Liersch et al., 2005]. Препарат Labetuzumab в качестве радиоизотопа может содержать, как ^{90}Y , так и ^{131}I . Веххар[®] (Tositumomab) – препарат, известный также как ^{131}I -Tositumomabor, по-

Препараты для направленной радионуклотерапии

Коммерческое название (другие названия)	Антиген/Радионуклид	Заболевание	Статус
Zevalin (⁹⁰ Y-ibritumomab tiuxetan)	CD20/ ⁹⁰ Y	неходжкинская лимфома	Одобрено FDA
Веххар (¹³¹ I-tositumomab)	CD20/ ¹³¹ I	неходжкинская лимфома	Одобрено FDA
Oncolym (¹³¹ I-Lym 1)	HLA-DR10/ ¹³¹ I	неходжкинская лимфома, хронический лимфо- лейкоз	Фаза III
Lymphocicid (Epratuzumab)	CD22/ ⁹⁰ Y	неходжкинская лимфома, хронический лимфо- лейкоз	Фаза III
Cotara (¹³¹ I-chTNT-1/B)	DNA/ ¹³¹ I	глиобластома, анапластическая астроцитома	Фаза III
Labetuzumab (CEA-Cide)	CEA/ ⁹⁰ Y or ¹³¹ I	Рак молочной железы, легких, поджелудочной железы, желудка, колоректальная карцинома	Фаза III
Theragin (Pemtumomab)	PEM/ ⁹⁰ Y	рак яичников, желудка	Фаза III
Licartin (¹³¹ I-metuximab)	Hab18G\CD147 / ¹³¹ I	гепатоцеллюлярная карцинома	Фаза II
Radretumab (¹³¹ I-L19)	Fibronectin/ ¹³¹ I	гепатологическое злокачественное новообразо- вание, рефрактерная лимфома Ходжкина, не- мелкоклеточный рак легкого, меланома, карци- нома головы и шеи	Фаза II
PAM4 (⁹⁰ Y-clivatuzumab tetraxetan)	MUC1/ ⁹⁰ Y	Аденокарцинома поджелудочной железы	Фаза II

лучил одобрение FDA в 2003 году, радиоизотоп – ^{131}I . Веххаг взаимодействует с рецепторами CD20 на поверхности опухолевых клеток. Эффективен для лечения В-клеточной неходжкинской лимфомы, диффузной В-клеточной лимфомы и множественной миеломы (Goldsmith, 2010). Oncolym® (^{131}I -Lym-1) – препарат, находится в III фазе клинических испытаний. Препарат связывается с человеческим лейкоцитарным антигеном (HLA) [Dechant et al., 2003] DR10, присутствующим только поверхности В-лимфоцитов, таких как раковые В-лимфоциты. Cotara® (^{131}I -chTNT-1/B) – препарат на основе химерного моноклонального антитела, проходит III стадию клинических испытаний. Препарат связывается с комплексом ДНК-гистон H1, радиоизотоп – ^{131}I . Эффективен против анапластической астроцитомы, глиобластомы мозга, гепатоцеллюлярной карциномы, колоректального рака и глиомы [Hdeib, Sloan, 2012]. Licartin® (^{131}I -metuximab) – препарат, представляющий собой мышинное моноклональное антитело Hab18 F(ab') связывающееся с антигеном Hab18G/CD147 гепатоклеточной карциномы, радиоизотоп – ^{131}I . Само по себе моноклональное антитело обладает цитотоксической активностью и потенциальной способностью к ингибированию метастазирования гепатоклеточной карциномы посредством блокирования функции производства матричной металлопротеиназы. В комплексе с ^{131}I препарат усиливает свое действие за счет прямого радиационного воздействия на опухолевые клетки. Препарат находится во II фазе клинических испытаний, хотя и получил одобрения китайской ассоциации CFDA для пациентов с неоперабельной или рецидивной гепатоклеточной карциномой [Fujiki et al., 2013]. Radretumab® (^{131}I -L19) – препарат, находящийся во II фазе клинических испытаний, представляет собой моноклональные антитела, специфичные к изоформам, образующимся при альтернативном сплайсинге фибронектина и тенасцина-С, радиоизотоп – ^{131}I . Эффективен против немелкоклеточных форм рака легких и гематологических опухолей [Erba et al., 2012].

6.8. Перспективы применения направленной радионуклидной терапии

В настоящее время в направленной радионуклидной терапии достигнут существенный прогресс, который стал возможен благодаря развитию молекулярной и клеточной биологии, иммунологии, радиационной и медицинской биофизики, ядерной физики, химической технологии и

прочих смежных наук. Сегодня выявлено и охарактеризовано большое количество антигенов опухолевых клеток пригодных для использования в направленной радионуклидной терапии. К этим антигенам сконструировано и синтезировано большое количество молекул-переносчиков, особенно антител и от части пептидов. Разработаны способы синтеза, выделения и очистки большого количества радиоизотопов с различными физическими и химическими свойствами. Созданы методы присоединения различных радиоактивных изотопов к молекулам-переносчикам. Разработаны алгоритмы доставки таких изотопов практически ко всем опухолям в организме человека при внутривенном введении. Апробированы методы контроля за распределением, депонированием изотопов, методы дозиметрии. Если не говорить про научные разработки, а сконцентрировать свое внимание только на медицине, то созданы все предпосылки внедрения тераностического подхода, который безусловно приведет к созданию персонализированных схем лечения и в целом повысит эффективность терапии.

В настоящее время, сформулированы основные идеи и создана технологическая цепочка необходимая для существования направленной радионуклидной терапии, однако существенный прогресс, достигнут только при терапии гематологических злокачественных новообразований. Эффективность направленной радионуклидной терапии солидных злокачественных новообразований, особенно большого размера, оставляет желать лучшего. Одной из проблем, которую необходимо преодолеть для реализации всего потенциала направленной радионуклидной терапии является проблема накопления высоких доз ионизирующей радиации клетками опухолевых тканей. Для уверенного уничтожения радиочувствительных опухолей необходимо создавать уровни поглощенных доз порядка 3000–5000 сГр, для наиболее радиорезистентных солидных опухолей, таких как опухоли щитовидной железы, – до 10000 сГр. При этом нормальные ткани таких органов, как почки, легкие, слизистая оболочка толстой кишки и костный мозг не должны получать поглощенных доз свыше 2000 сГр, 1500 сГр, 250 сГр и 100 сГр, соответственно [Larson et al., 2015]. Нужно отметить, что при направленной радионуклидной терапии воздействие ионизирующей радиации на нормальные ткани происходит не только во время «путешествия» фармпрепарата по организму от места введения до опухоли, но и в результате метаболизма комплекса фармпрепарат-антиген. Метаболизм данного комплекса может либо усилить противоопухолевый эффект за счет депонирования радионуклида в опухолевой клетке, или ослабить –

за счет удаления радионуклида из клетки. Некоторые антигены, например, CD5 или PSMA относительно быстро интернализируются внутрь раковых клеток, что приводит к катаболизму комплекса переносчик-мишень, в том числе отрыву радионуклида от молекулы-переносчика и исключению его из клетки. Другой вариант развития событий характерен для антигенов GRA33 и CD20, которые интернализируются гораздо медленнее, в результате чего срок действия радионуклида на раковую клетку существенно увеличивается. В результате разрушения молекулы-переносчика и высвобождения радионуклида из клетки не только уменьшается эффективность терапии, но и появляется проблема облучения нормальных тканей, особенно печени и почек. В данной ситуации целесообразно проводить дозиметрию и симптоматически использовать радиозащитные препараты адаптогенной направленности, не эффективные в опухолевых тканях и сочетающие в себе свойства радиозащитного препарата и гепатопротектора [Gudkov et al., 2015]. Такими препаратами для печени являются, например, гуанозин [Gudkov et al., 2006], инозин [Gudkov et al., 2009], IMP [Asadullina et al., 2012] и GMP [Asadullina et al., 2010]. Безусловно, разработка и поиск новых более эффективных многофункциональных радиозащитных препаратов может решить проблему больших поглощенных доз в нормальных тканях с другой стороны.

В целом, направленная радионуклидная терапия является крайне важным разделом медицины, не реализовавшим в настоящее время свой потенциал до конца. В будущем значительному количеству научных дисциплин, связанных с этим направлением, предстоит решить большое количество непростых задач и разгадать множество загадок. Наиболее интенсивным и востребованным направлением, вероятно, будет решение задач и загадок связанных с терапией крупных солидных опухолей, где прогресс просто необходим. Таким образом, период изобретения «пращы, лука и огнестрельного оружия» в направленной радионуклидной терапии уже пройден, нужно работать над «высокоточными реактивными снарядами и лазерами».

7. ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ПРОЦЕССЫ У РАСТЕНИЙ

Ведя прикрепленный образ жизни, растения не способны активно избегать действия неблагоприятных факторов, в связи с чем в процессе эволюции у них выработались крайне эффективные защитные механизмы, позволяющие им существовать в широком диапазоне изменения условий внешней среды [Shirley et al., 1992; Vodeneev et al., 2015]. Даже если рассматривать такой опасный для всех живых организмов фактор, как ионизирующие излучения (ИИ), то большинство растений достаточно спокойно переносит дозы 50 и более Гр, летальными для некоторых растений являются дозы порядка 1000 и более Гр [Sparrow, Miksche, 1961], для сравнения, абсолютно летальной дозой для человека является 5 Гр [Gordon, 1957]. В процессе эволюции у растений сформировалась не только достаточно высокая резистентность к действию ионизирующей радиации, но и механизмы тонкой подстройки большинства физиологических процессов, реагирующие даже на незначительные изменения радиационного фона [Ahuja et al., 2014; Vanhoudt et al., 2014]. Данная глава посвящена описанию физиологических и молекулярных основ этих адаптационных механизмов.

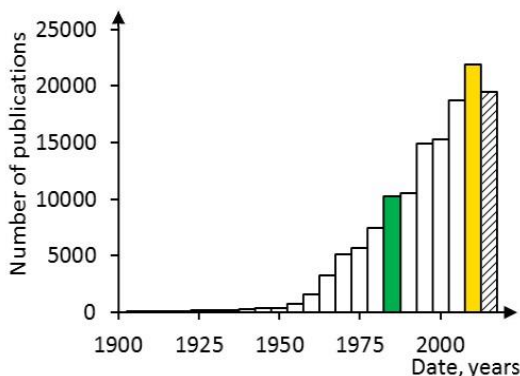


Рис. 14. Динамика публикаций по радиационной биологии и экологии растений (на английском языке) с 1900 г. по настоящее время. Зеленые и желтые столбцы обозначают периоды после Чернобыльской и Фукусимской катастроф соответственно. Заштрихованная колонка отмечает текущую пятилетку. Данные были получены с помощью поисковой системы Google Scholar [Gudkov et al., 2019]

К настоящему времени опубликовано более 150 000 публикаций, посвященных изучению воздействия ИИ на растения. Динамика публикаций в области радиационной биологии и экологии растений с 1900 г. представлена на рис. 14. Видно, что в течение последних 50–60 лет интерес к теме неуклонно растёт. Исследования в этой области существенно активизировались после крупных аварий на атомных электростанциях, сопровождавшихся выбросом ядерных материалов в окружающую среду.

7.1. Влияние ионизирующего излучения на рост и развитие растений

Влияние ионизирующего излучения на рост, развитие и морфологию растений начали исследовать более века назад. Так, уже в 1895 г. Вильгельм Рентген сообщает о стимулирующем влиянии открытых несколько лет назад рентгеновских лучей на рост растений. Первые работы в этой области, в основном, были посвящены стимуляции прорастания семян, рассады, более раннего цветения и т.д. [Sax, 1963]. Систематическое изучение действия ИИ на основные морфометрические параметры разных видов растений позволило определить ориентировочные границы доз, оказывающих разнонаправленные (стимулирующие или ингибирующие) эффекты (Таблица 8).

Было показано, что ускорение темпов роста и развития растений наблюдается при действии излучений на семена в дозах 5–20 Гр и вегетирующие растения в дозах 1–5 Гр. Этот диапазон для растений считают областью малых доз. Эффективность воздействия зависит от вида и сорта растения, стадии развития и его физиологического статуса [Kuzin et al., 1976]. При увеличении поглощённой дозы свыше обозначенных пределов наблюдалось торможение роста и развития растений (Рис. 15) [Timofeev-Resovsky, Poryadkova, 1956]. Хотя такое торможение иногда приводило к интересным результатам, так, у злаковых культур, подвергшихся облучению в дозе порядка 20 Гр, наблюдается торможение роста главного побега в высоту, а затем вследствие активации покоящихся центров начинается рост боковых побегов, что выражается в мощном кущении. Причём, кустистость пшеницы может повыситься в несколько раз [Breslavets, 1946]. Вообще, кущение является достаточно распространённым следствием облучения растений [Donini et al., 1964]. Объясняется это снятием апикального доминирования из-за изменения

Действие различных диапазонов доз ИИ на основные морфометрические параметры

Объект	Малые дозы*	Средние дозы**	Высокие дозы***	Ссылка
<i>Oryza sativa</i> L. (семена)			↓ длина стебля ↓ длина корня ↓ вес растения	[Ashraf et al., 2003]
<i>Lathyrus chrysanthus</i> Boiss (семена)		↑ длина стебля ↑ длина корня; с увеличением времени после облущения ↑ вес ↑/↓ длина стебля ↑/↓ длина корня	↑/↓ длина стебля ↑/↓ длина корня; с увеличением времени после облущения ↓ длина стебля ↓ длина корня ↓ вес растения	[Beyaz et al., 2016]
<i>Pigeon pea</i> (L.) Millsp. (семена)			↓ длина стебля ↓ длина корня ↓ вес растения	[Desai, Rao, 2014]
<i>Carpisum appium</i> L. (семена)	↑ длина стебля ↑ площадь листа			[Kim et al., 2004]
<i>Zea mays</i> L. (семена)			↓ длина стебля ↓ длина корня	[Marcu et al., 2013b]
<i>Vigna sinensis</i> (L.) Walp. (семена)		↑ длина листа ↑ длина корня ↑ площадь листьев ↑ вес		[Mohammed et al., 2012]
<i>Arabidopsis thaliana</i> L. (семена)		↑ длина стебля ↑ длина корня	↓ длина стебля ↓ длина корня	[Qi et al., 2015]
<i>Glucine max</i> L. Merrill (семена)			↓ длина растения	[Alıkkamanoglu et al., 2011]

Объект	Малые дозы*	Средние дозы**	Высокие дозы***	Ссылка
<i>Phaseolus vulgaris</i> L. (семена)	↑ площадь листа	↑ вес листа ↓ площадь листа	↓ площадь листа	[Arena et al., 2014]
<i>Solanum sajan</i> (L.) Millsp (семена)	↑ вес растения	↓ вес растения		[Kumar et al., 2017]
<i>Trifolium sp.</i> (семена)	↑ вес растения ↑ площадь листа	↑ вес растения ↑ площадь листа		[Singh et al., 2013]
<i>Allium sativum</i> L. (луковицы)		↓ длина листа	↓ длина листа	[Kebeish et al., 2015]
<i>Zizania latifolia</i> (Griseb.) Turcz. ex Stapf (вегетирующая стадия)		↑ длина растения; с увеличением времени после облучения ↓ длина растения	↓ длина растения	[Fan et al., 2014]
<i>Helianthus annuus</i> L. (вегетирующая стадия)		↓ вес растения		[Thiede et al., 1995]
<i>Lemna minor</i> L. (вегетирующая стадия)	↑ вес растения	↑ вес листьев ↓ вес корня	↓ вес растения	[Van Hooek et al., 2015]
<i>Arabisopsis thaliana</i> L. (вегетирующая стадия)	↑ вес корня			[Vanhoudt et al., 2010]
<i>Vicia faba</i> L. (вегетирующая стадия)		↓ длина корня		[Blaser et al., 2018]

* малые дозы для семян 5–20 Гр, для вегетирующих стадий 1–5 Гр

**средние дозы для семян 20–100 Гр, для вегетирующих стадий 5–50 (70) Гр

***высокие дозы для семян свыше 100 Гр, для вегетирующих стадий свыше 50 (70) Гр

баланса ауксина и этилена (пункт 9 «Hormonal system») [Gordon, Weber, 1955]. В целом, если до наступления угнетения каких-либо процессов имеется краткосрочный период активации, речь идёт о средних дозах. Им соответствуют диапазоны от 20 до 100 Гр при действии ионизирующей радиации на семена и от 5 до 50–70 Гр при облучении вегетирующих форм. Дозы, превышающие указанные пределы, относят к большим.

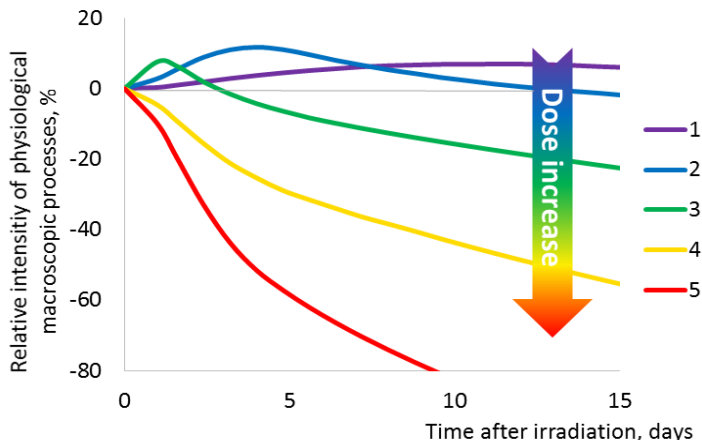


Рис. 15. Схематическое представление изменений интенсивности физиологических макроскопических процессов растений после воздействия ионизирующей радиации в различных дозах. 1 – длительная радиостимуляция; 2 – кратковременная радиостимуляция; 3 – кратковременная радиостимуляция и долговременное радионгибирование; 4 – радионгибирование; 5 – радионгибирование, приводящее к краткосрочной гибели [Gudkov et al., 2019]

Морфометрические параметры, зачастую, рассматриваются как итоговый показатель реакции растений на ИИ, однако он складывается из реакций на облучение отдельных частей или органов растения, а также взаимодействия между ними. Анализ показывает, что длина и вес корней обычно изменяются сильнее, чем аналогичные параметры при тех же дозах [Beuaz et al., 2016]. Отмечается также, что в корнях более выражены изменения экспрессии генов стрессового ответа [Viermans et al., 2015]. Более высокая резистентность надземных частей растений может объясняться их более мощной антиоксидантной системой, призванной защищать зелёные части растения от АФК, образующихся в ходе фото-

синтеза. В то же время нельзя исключать, что кажущаяся радиочувствительность отдельных частей растения является следствием нарушения дальнего транспорта и донорно-акцепторных взаимодействий [Biermans et al., 2015], а также дистанционных сигналов.

В целом, феномен радиостимуляции и радиоингибирования растений был довольно хорошо изучен на заре радиобиологии. Повторными мощными толчками к изучению влияния радиации, уже в виде инкорпорированных нуклидов, на рост и развитие растений были катастрофы в Чернобыле (Geraskin et al., 2003) и Фукусиме (Caplin, Willey, 2018). В результате катастроф были получены новые знания не только о культурных растениях, но и о растениях дикой природы. Все мы видели кадры хроник с елями, макушки которых покрыты аномально длинными хвоями. Однако все видимые глазом изменения, возникающие после облучения, являются следствием влияния радиации на молекулярные механизмы, лежащие в основе биохимических и физиологических процессов. Механизмы, лежащие в их основе, будут рассмотрены ниже.

7.2. Влияние ионизирующего излучения на процессы биосинтеза

Одним из существенных аспектов изучения влияния ИИ на жизнедеятельность растений являются эффекты, оказываемые им на процессы биосинтеза. Рассматриваются как основные структурные и функциональные компоненты клетки (белки, углеводы и липиды), так и разнообразные вторичные метаболиты. В этом пункте внимание будет сосредоточено на синтезе белков – ключевых компонентов первичного метаболизма, определяющих функционирование клетки, а также синтезе вторичных метаболитов.

На растениях, выращенных из облучённых семян, продемонстрировано, что средние и высокие дозы ИИ, как правило, приводят к накоплению в тканях растворимого белка [Mohammed et al., 2012]. В области малых доз могут наблюдаться нелинейные эффекты различной направленности [Kumar et al., 2017].

Наблюдаемые при действии ИИ изменения в содержании белка могут быть результатом изменения соотношения скоростей их синтеза и деградации. Образующиеся при облучении АФК вызывают окисление белков, что может приводить к сокращению времени их функционирования. Обнаружено, что после облучения происходит накопление белков с убиквитинowymi метками, т.е. повреждённых и готовых к протеолити-

ческой деградации, однако активность протеасом после облучения падает [Pergvan et al., 2005]. В итоге, это может приводить к повышенному содержанию белка, но функциональная активность молекул может быть утеряна.

Влияние ИИ на скорость синтеза белка непосредственно на растениях, по-видимому, не исследовалось. На цианобактериях показано, что при облучении в высоких (летальных) дозах происходит быстрое и необратимое торможение синтеза белка [Agarwal et al., 2008]. Вызванное ИИ изменение скорости синтеза белка, как показано на клеточных культурах животных, может происходить в две фазы: в первые несколько часов имеет место увеличение скорости, затем происходит спад ниже контрольных значений [Braunstein et al., 2009]. Подобные изменения могут быть вызваны как с неспецифическим действием ИИ, связанным с изменением доступности субстрата и обеспеченностью клетки макроэргическими соединениями, так и с индуцированными ИИ изменениями регуляции процессов синтеза белка.

Анализ доступности субстрата показывает, изменения количества свободных аминокислот в первые часы после облучения не происходит [Shelp et al., 1979], в долгосрочном периоде изменения весьма незначительны, а их направленность сильно зависит от дозы и вида растений [Ananthaswamy et al., 1971]. У животных скорость синтеза белка может тормозиться также в случае истощения пула АТФ, однако у облучённых растений дефицита АТФ, по-видимому, не возникает. В целом, это указывает на то, что вызванные ИИ изменения в скорости синтеза мало связаны с неспецифической регуляцией.

После облучения изменяется не только общая скорость синтеза и деградации, но и профиль синтезируемых белков. В основе этого лежит регуляция транскрипции и трансляции. Необходимо отметить, что об изменении содержания какого-либо белка обычно судят на основании уровня экспрессии генов. Однако после воздействия стрессоров, в том числе ИИ, наблюдается плохая корреляция между уровнями мРНК и транслируемых с них белков [Lü et al., 2006]. Это происходит потому, что синтез белка зависит не только от активности транскрипции соответствующего гена, но и от множества посттранскрипционных событий, включая инициирование трансляции мРНК [Braunstein et al., 2009]. Более того, трансляция оказалась на порядок чувствительнее к ИИ, чем транскрипция [Lü et al., 2006].

На клеточных культурах животных было обнаружено несколько путей регуляции трансляции при действии ИИ. Первый механизм связан с

активацией рибосомальной S6-киназы, увеличивающей трансляцию подмножества мРНК, кодирующих рибосомальные белки. В результате этого интенсивность синтеза белка возрастает [Braunstein et al., 2009]. Второй механизм связан с изменением состояния ингибитора фактора инициации трансляции eIF4E. Его активация или инактивация может приводить, соответственно, к снижению или увеличению интенсивности трансляции в различные периоды после облучения [Braunstein et al., 2009]. Оба указанных механизма после воздействия ИИ регулируются через ERK киназу MAP-киназного каскада. Сигнальный каскад, по-видимому, инициируется двунитевыми разрывами ДНК и воспринимающей их АТМ киназой [Braunstein et al., 2009]. Можно предположить, что механизмы, регулирующие трансляцию в растительной клетке, аналогичны: MAP-киназы растений сходны с ERK-путём животных [Meng, Zhang, 2013] и в растительной клетке есть ортолог АТМ киназы животных [Culligan et al., 2006].

Известно, также, что повышенная концентрация АФК способна подавлять синтез ряда белков на этапе трансляции, действуя не только на стадии инициации, но и на стадии элонгации. В качестве первичной мишени в этом случае выступает фактор элонгации G (EF-G). Блокирование этого фактора происходит в результате окисления двух остатков цистеина и образования между ними дисульфидной связи. Однако этот механизм применим только для белков, синтезируемых в хлоропластах (например, фотосинтетические белки psbA, D1), поскольку EF-G – высоко консервативный белок, содержащийся в цианобактериях, хлоропластах высших растений и водорослей [Kreslavskii et al., 2012].

Нужно отметить, что помимо стандартных путей стрессового ответа у облучённых организмов меняется активность трансляции белков, участвующих в регуляции транскрипции и экспрессии генов. Это позволяет предполагать, что эффекты ИИ на уровне трансляции могут в какой-то степени регулировать транскрипцию [Lü et al., 2006].

Помимо компонентов первичного метаболизма у облучённых растений существенно возрастает содержание многих вторичных метаболитов [Taheri et al., 2014], являющихся эффективными протекторными соединениями (антиоксидантами) при окислительных стрессах различной природы. К основным группам относятся фенольные соединения, терпеноиды и азотсодержащие соединения [Vardhan, Shukla, 2017]. При действии ИИ их синтез, по-видимому, запускается повышенной концентрацией АФК [Kreslavskii et al., 2012]. Такой эффект АФК реализуется различными путями: как за счёт возрастания экспрессии генов ключевых

ферментов их биосинтеза [Gicquel et al., 2012], так и увеличения удельной активности этих ферментов. У облучённых растений показано дозозависимое увеличение активности фенилаланин-аммиак-лиазы (PAL), халконсинтазы (CHS), скваленсинтазы (SS), скваленэпоксидазы (SE), оксидоскваленциклазы (OSC) и геранилтрансферазы PHB [Vardhan, Shukla, 2017]. В результате, происходит накопление терпеноидов, алкалоидов, фенолов в целом и флавоноидов в частности. Ещё одним путём увеличения содержания концентрации вторичных метаболитов может быть распад полимерных цепочек до мономеров и их «высвобождение из гликозидных компонентов» [Ben Salem et al., 2013].

7.3. Влияние ионизирующего излучения на фотосинтез

Фотосинтез, в ходе которого происходит преобразование энергии квантов света в энергию химических связей органических соединений, является ключевым процессом не только для растений, но и для биосферы в целом. В связи со значимостью данного процесса, а также благодаря развитому инструментарию для регистрации фотосинтетической активности, большое число работ в области радиобиологии растений посвящено изучению влияния ионизирующего излучения именно на фотосинтез [De Micco et al., 2011].

Ионизирующее излучение влияет на различные компоненты фотосинтетического аппарата, такие как пигмент-белковые комплексы, ответственные за поглощение света, электрон-транспортная цепь тилакоидов, функционирование которой ведёт к формированию электрохимического градиента протонов, ферменты темновой стадии, в ходе которой происходит фиксация CO_2 .

Влияние ИИ на содержание фотосинтетических пигментов. Одной из ключевых мишеней при действии ионизирующего излучения являются фотосинтетические пигменты, при этом имеет место дозозависимое изменение как содержания, так и соотношения этих пигментов. При действии малых доз ИИ (не более 5 Гр) содержание хлорофилла обычно остаётся неизменным, или же происходит увеличение его содержания [Marcu et al., 2013a; Vanhoudt et al., 2014]. Увеличение дозы ионизирующей радиации ведёт к падению содержания хлорофилла, а также каротиноидов [Hong et al., 2014]. В целом, зависимость изменений содержания фотосинтетических пигментов от дозы, выявленная для рас-

тений различных видов, сходна с общей дозовой зависимостью, представленной на рис. 15 [De Micco et al., 2014b], при наличии отмеченных в отдельных работах отклонений от таковой, проявляющиеся в повышении содержания пигментов при высоких дозах или понижении при низких [Desai, Rao, 2014]. Анализ временных зависимостей показывает, что после острого облучения изменение количества хлорофилла происходит в течение нескольких недель. Общая продолжительность эффекта зависит от дозы [Fan et al., 2014].

Вызванное облучением снижение содержания хлорофилла может быть связано с подавлением синтеза пигментов, их окислением под влиянием АФК [Dartnell et al., 2011], а также нарушением формирования антенных комплексов фотосистем. В пользу последнего, т.е. роли формирования пигмент-белковых комплексов фотосистем, в которых локализованы молекулы хлорофилла, свидетельствует увеличение при облучении соотношения хлорофиллов a/b [Desai, Rao, 2014] при большей радиорезистентности пути синтеза хлорофилла b [Kohn et al., 1967]. Поскольку хлорофилл b преобладает на внешней антенне и светособирающем комплексе (ССК) ФСII [Voitsekhovskaja, Tyutereva, 2015], наиболее вероятными причинами подобных нарушений могут быть или уменьшение количества ССК ФСII, или увеличение доли ФСI. Ещё одним процессом, влияющим на общее содержание хлорофилла в клетке после облучения, является изменение количества и размера хлоропластов [De Micco et al., 2014a]. Вклад определённого механизма, вероятно, зависит от вида растений и условий облучения, при этом могут проявляться разнонаправленные эффекты. Так, в частности, ведущие к редукции хлорофилла высокие дозы ИИ вызывают в растениях арабидопсиса повышенную в течении нескольких дней экспрессию генов ряда ферментов синтеза хлорофилла, таких как глутамил-тРНК редуктаза, НАДФН-протохлорофиллид-оксидоредуктазы А и В [Kim et al., 2007].

Помимо влияния ИИ на содержание хлорофиллов отмечено изменение содержания других пигментов, среди которых основное внимание уделено каротиноидам. Во многом это объясняется не только фотосинтетической, но также защитной и регуляторной функциями каротиноидов. Каротиноиды участвуют в регуляция фотосинтеза посредством ксантофиллового цикла, в ходе которого происходят взаимопревращения между виолоксантином и зеаксантином. Показано, что под действием ИИ происходит увеличение доли зеаксантина [Kim et al., 2004], что способствует диссипации избыточной энергии света в тепло и предотвращает фотоиндуцированное образование АФК. Наблюдаемое накоп-

ление зеаксантина может быть обусловлено влиянием ИИ на функционирование аскорбат-глутатионового цикла, поскольку аскорбат является кофактором виолаксантин дезоксидазы (Foyer, Noctor, 2011]. При малых дозах имеет место обратное распределение: рост доли виолоксантина и снижение индекса дезоксидации [Kim et al., 2004].

Изменение содержания зеаксантина во многом объясняет возрастающее при средних и больших дозах и снижающееся при малых нерегулируемое нефотохимическое тушение флуоресценции (NPQ) [Vanhoude et al., 2014]. Изменения носят длительный характер и проявляются на протяжении недель после острого облучения [Fan et al., 2014], однако при хроническом воздействии малых доз снижение NPQ со временем может смениться ростом [Biermans et al., 2015].

Влияние ИИ на функционирование электрон-транспортной цепи.

Оцениваемое по ряду показателей изменение состояния цепи переноса электронов под влиянием ионизирующей радиации показано на сегодняшний день для целого ряда высших растений, а также для водорослей. Важнейшим показателем эффективности первичных процессов фотосинтеза является квантовый выход фотосистемы II, который отражает долю поглощённого света, использованного в фотохимических реакциях, а также скорость транспорта электронов (ETR). Высокие дозы острого облучения вызывают быстрое снижение YPSII и ETR [Agarwal et al., 2008], продолжающееся неделями [Fan et al., 2014]. При малых дозах и хроническом облучении может проявляться эффект стимуляции, отражаемый в возрастании YPSII и ETR [Vanhoude et al., 2014]. Такой показатель, как потенциальная фотосинтетическая способность (Fv/Fm), более резистентен; в целом, он имеет сходную с YPSII и ETR направленность изменений, но более медленную динамику [Kim et al., 2011b]. При хроническом облучении в зависимости от дозы и типа ИИ может иметь место как снижение, так и некоторое увеличение Fv/Fm [Vanhoude et al., 2014].

Работы, преимущественно последних лет, позволили установить, что эффекты ИИ на первичные процессы фотосинтеза могут быть связаны с изменением экспрессии соответствующих генов. Так, в частности, различные дозы ИИ изменяют экспрессию генов белков ФС2, нескольких хлоропластных НАДН-дегидрогеназ, компонентов цитохрома b6 и др. [Van Hoesck et al., 2017]. Другой потенциальной мишенью для регуляции представляются подвижные переносчики электронов, т.к. на них в наибольшей степени влияет изменяющиеся при действии ИИ свойства

мембраны [Benderitter et al., 2003]. Эти факторы, вызывающие рассогласование ЭТЦ хлоропластов, вероятно, также будут приводить к увеличению продукции АФК за счёт сбрасывания электронов на кислород с образованием супероксидного анион-радикала ($O_2^{\bullet-}$) в районе акцепторной стороны ФСІ и пластохинонового пула. За счёт хлоропластной супероксиддисмутазы, образующийся $O_2^{\bullet-}$ будет здесь же трансформироваться в пероксид водорода (H_2O_2) – одну из наиболее долгоживущих форм АФК, выполняющего различные регуляторные функции. Ещё одной формой АФК, продукция которой повышается при рассогласовании ЭТЦ хлоропластов, может являться синглетный кислород, образующийся в результате миграции энергии с триплетного хлорофилла светособирающего комплекса или реакционного центра ФСІІ [Kreslavskii et al., 2012]. Возрастающее у облучённых растений нерегулируемое нефотохимическое тушение флуоресценции (NPQ) способствует частичной компенсации этих процессов, однако компенсаторная ёмкость, по-видимому, оказывается недостаточной.

Эффективность поглощения квантов света и транспорта электронов по цепи будет влиять на величину формируемого на мембране тилакоидов электрохимического градиента протонов и скорость фотосинтетического фотофосфорилирования. Уменьшение соотношения АТФ/АДФ под влиянием ИИ продемонстрировано для культуры клеток *Nicotiana tabacum* [Vasilenko et al., 1993], что, по-видимому, объясняется как с увеличивающимися затратами на репарацию, так и со снижением синтеза АТФ в ходе фотофосфорилирования. По-видимому, важную роль в регуляции синтеза АТФ хлоропластами при действии ИИ играют сигналы, получаемые из цитоплазмы. Так, после острого облучения суспензии хлоропластов интенсивность фотофосфорилирования не изменяется, однако этот параметр существенно снижен у хлоропластов, выделяемых из облучённых растений [McCabe et al., 1979]. Исходя из высокой скорости развития реакции (начало не позднее, чем через 15 минут после облучения), в основе наблюдаемых изменений лежит регуляция не на генетическом, а физиологическом уровне. Активность фотофосфорилирования также эффективно регулируется через скорость потребления АТФ в процессах темновой стадии фотосинтеза, влияние ИИ на которые рассмотрено ниже.

Влияние ИИ на активность темновой стадии фотосинтеза. Изменение интенсивности поглощения CO_2 , восстановление которого до органических соединений происходит в воде темновой стадии фотосин-

теза, под влиянием ИИ имеет место в широком диапазоне доз как при остром облучении растений на разных стадиях жизненного цикла, так и при хроническом облучении. У наиболее радиочувствительных растений облучение вызывает снижение интенсивности ассимиляции CO_2 уже при 0,12 Гр хронического (Chandorkar, Clark, 1986) и 1,2 Гр острого облучения [McCabe et al., 1979]. Более высокие дозы также вызывают длительное выраженное угнетение этого параметра у различных растений [Singh et al., 2013], начало которого регистрируется уже в течение 15 минут после облучения [Ursino et al., 1977b]. Малые дозы ИИ могут оказывать стимулирующий эффект, который со временем может смениться угнетением [Ahuja et al., 2014b; Vanhoudt et al., 2014].

Одной из причин индуцированных ИИ изменений активности темновой стадии является влияние на ферменты цикла Кальвина, для некоторых из которых показана возможность регуляции по редокс-механизму (Mehta et al., 1992). Центральная роль в регуляции отводится Рубиско. Удельная активность фермента имеет тенденцию к возрастанию при малых дозах радиации и к снижению при больших [Ahuja et al., 2014]. Показано нарушение структуры фермента, состоящего из нескольких субъединиц, через несколько дней после острого облучения [Arena et al., 2014]. Это может быть связано с неодинаковой чувствительностью к облучению геномов ядра и пластид, поскольку структурные субъединицы Рубиско кодируются ядерным, а регуляторные – хлоропластным геномом [Cohen et al., 2006].

Помимо активности ферментов цикла Кальвина, важным фактором регуляции активности темновой стадии фотосинтеза являются концентрации субстратов и продуктов реакции. Устьичная проводимость в отличие от ассимиляции не изменяется в первые часы после острого облучения [Ursino et al., 1977b], в течение последующих дней и недель наблюдается скоррелированное снижение этих параметров [Fan et al., 2014]. В дополнение к этому, у облучённых растений со временем уменьшается объём межклеточных пространств в мезофилле [De Micco et al., 2014a]. В то же время, на фоне пониженной устьичной проводимости, уровень межклеточного CO_2 не изменяется [Fan et al., 2014]. В целом, это указывает на то, что доступность CO_2 , по-видимому, не является лимитирующим фактором в эффекте ИИ на активность фотосинтеза. Иная картина наблюдается в отношении влияния ИИ на содержание продуктов биохимических реакций. После острого облучения в хлоропластах *Arabidopsis thaliana* обнаруживаются крахмальные зёрна, указывающие на нарушение внутриклеточного транспорта метаболитов [Kim

et al., 2011a]. Показано также, что после ИИ существенно подавляется транспорт углеводов из листа, что будет подробнее рассмотрено ниже [Thiede et al., 1995].

Помимо непосредственно поврежденных, участвующих в реакционных циклах биологических макромолекул, значительный вклад вносит нарушение процессов регуляции, осуществляемой через экспрессию генов, редокс-чувствительные сайты ферментов, а также посредством модификации липидного состава мембран. Важным потенциальным механизмом влияния ИИ на фотосинтез, который в настоящее время не освящён в научной литературе, может являться изменение ионного состава внутри- и внеклеточной среды. Особая роль принадлежит концентрации H^+ , поскольку на всех этапах фотосинтеза существенным регуляторным фактором является величина рН (рН цитозоля, хлоропластов и апопласта, градиент H^+ на цитоплазматической и тилакоидных мембранах) [Sukhov, 2016]. В свою очередь, ключевой фермент поддержания рН – H^+ -АТФаза плазматических мембран – является потенциальной мишенью ИИ, а для другого фермента, поддерживающего клеточный рН-гомеостаз, V-АТФазы тонопласта, напрямую показана регуляция при изменении концентрации АФК [Ozolina et al., 2011].

7.4. Влияние ионизирующего излучения на дыхание

Другим физиологическим процессом, отвечающим за энергетический обмен и синтез многих метаболитов, является дыхание. Для многих растений показано, что даже при высоких дозах ИИ интенсивность дыхания растёт [Ursino et al., 1977b]. После острого облучения интенсивность дыхания увеличивается сразу после воздействия и поддерживается на повышенном уровне в течение нескольких первых дней [Hadley, Woodwell, 1965], однако, в ряде случаев, повышенная активность дыхания может наблюдаться и на более поздних сроках после воздействия ионизирующего излучения [Ursino et al., 1974]. При хроническом облучении в малых дозах интенсивность дыхания существенно не изменяется [Ursino, 1973], хотя в отдельных работах отмечено некоторое уменьшение [Chandorkar, Clark, 1986]. Дыхание достаточно радиорезистентный процесс, в целом, митохондрии более резистентны к облучению в высоких дозах [50 Гр на вегетирующее растение] по сравнению с хлоропластами [Wi et al., 2005].

Увеличение интенсивности дыхания может быть вызвано различными причинами, включая увеличение доступности субстрата (O_2) и пони-

жение содержания макроэргических соединений (уменьшение соотношения АТФ/АДФ). Активация дыхания при действии ИИ не коррелирует с устьичной проводимостью [Ursino et al., 1977b], что указывает на отсутствие лимитирования со стороны скорости поступления O_2 к клеткам. Очевидно, что наблюдаемая активация дыхания связана с внутриклеточными регуляторными процессами. Одним из значимых регуляторов дыхания является изменение соотношения АТФ/АДФ. При действии ИИ это соотношение может уменьшаться из-за возросшего потребления АТФ, необходимого для восстановления вызванных ИИ нарушений, а также из-за долговременного снижения интенсивности другого генерирующего АТФ процесса – фотосинтеза. Предполагается, что рост интенсивности дыхания при стрессовых условиях может являться компенсаторным процессом и способствовать поддержанию пула АТФ при частично угнетённом фотосинтезе. Причём подобная регуляция может осуществляться не только за счёт изменения количества АТФ и АДФ, но и благодаря другим сигналам со стороны хлоропластов [Araujo et al., 2014].

Несмотря на регистрируемый у растений всплеск интенсивности дыхания после облучения, на других объектах были обнаружены механизмы, связанные с нарушением функционирования ЭТЦ митохондрий после действия ИИ. Так, на клетках животных продемонстрировано долговременное (дни и недели) снижение активности различных митохондриальных комплексов (преимущественно I и III), вызванные острым облучением. Причиной этого является как изменение экспрессии их генов, так и регуляция функционирования готовых комплексов. Помимо изменения интенсивности дыхания важным следствием нарушения функционирования ЭТЦ митохондрий является долговременное повышение концентрации АФК [Yoshida et al., 2012]. В частности, при разбалансированной или перегруженной вследствие высокого соотношения АТФ/АДФ ЭТЦ усиливается утечка электронов на кислород на комплексе I, что приводит к образованию супероксидного радикала. Это приводит к отсроченному окислительному стрессу (пункт 8 «Antioxidant systems»).

В целом, дыхание является синергистом фотосинтеза в энергетическом обмене и его антагонистом в пластическом обмене. Таким образом, усиление дыхания на фоне сниженного фотосинтеза после облучения способствует поддержанию соотношения АТФ/АДФ, однако это может приводить к наблюдаемому в экспериментах уменьшению удельной концентрации углеводов в растении [Kebeish et al., 2015].

7.5. Влияние ионизирующего излучения на транспорт у растений

Дальний транспорт играет важную роль в жизни растения как целого организма, в силу наличия выраженных донорно-акцепторных отношений между его отдельными частями, в частности побегом, восстанавливающим поглощённый из атмосферы CO_2 до органических соединений, и корнем, поглощающим из почвы воду и минеральные элементы. Нарушения дальнего транспорта могут быть причиной изменений активности целого ряда физиологических процессов, имеющих место при действии ИИ. Такие нарушения транспорта были продемонстрированы в ряде работ. Так, при воздействии ИИ на растения сои (39 Гр) транспорт ассимилятов из листа был снижен, при этом снижение имело двухфазный характер: первый пик наблюдался через 15 минут после облучения, второй – через 120 [Shelp et al., 1979]. Уменьшение скорости оттока ассимилятов лишь отчасти может быть объяснено снижением их продукции в ходе фотосинтеза, поскольку подавление транслокации ассимилятов на 27% (soybean plants, 41 Гр) имело место при 5% подавлении ассимиляции. В качестве возможного механизма влияния ИИ на транспорт ассимилятов предположено угнетение фотофосфорилирования и снижение содержания АТФ, что ведет к подавлению энергозависимых процессов, к которым относится, в частности, транспорт ассимилятов. Для фотофосфорилирования и транспорта ассимилятов показана сходная динамика и амплитуда ответа на ИИ [McCabe et al., 1979]. Другим возможным механизмом, лежащим в основе эффекта ИИ на транспорт ассимилятов, является изменение величины аттрагирующего эффекта со стороны органов акцепторов. При облучении растений сои (37,5 Гр) показано снятие апикального доминирования со стороны молодых листьев на фоне пониженной скорости транспорта ассимилятов в целом. Важно отметить, что добавление ауксина способствовало возвращению распределения к контрольным значениям, что указывает на вклад изменения содержания гормонов в реализации эффектов ИИ на дальний транспорт.

Наряду с транспортом ассимилятов влиянию ИИ подвержен также перенос минеральных элементов, а также их поглощение корнем. Наиболее существенный эффект наблюдается для ионов калия, даже при малых дозах его концентрация существенно возрастает как в корне, так и в стебле. Поглощение и транспорт ионов натрия и отчасти кальция, напротив, дозозависимо снижается. Такой же эффект характерен и для фосфоросодержащих соединений. После воздействия ионизирующего излучения для ионов железа, меди и цинка обнаружено повышение их

концентрации в стебле, содержание этих ионов в корне остается неизменным или несколько уменьшается. Концентрации других изучаемых макро- и микроэлементов (Mg, Mn, Cu) не претерпевали значимых изменений.

Имеющий место в растениях перенос на большие расстояния ассимилятов и минеральных элементов по сосудам ксилемы и флоэмы во многом определяется работой осуществляющих загрузку и выгрузку транспортируемых соединений мембранных переносчиков. Работа таких переносчиков, относящихся к системам вторичного активного транспорта, зависит от величины электрохимического градиента протонов, который создается H^+ -АТФазой плазматических мембран. О возможном изменении активности протонной АТФазы под влиянием ИИ может свидетельствовать наблюдаемое после острого облучения временное (на несколько часов) исчезновение фотоиндуцированного возрастания мембранного потенциала, которое в норме обусловлено увеличением активности фермента. Изменение электрического потенциала плазматической мембраны при облучении отмечено и в других работах. Направленность и выраженность эффекта зависят от дозы: при облучении в малых дозах более выражено временное возрастание потенциала, при облучении в больших дозах – снижение. Наряду с изменением активности протонной АТФазы возможной причиной наблюдаемых эффектов может быть изменение активности ионных каналов, вносящих вклад в формирование мембранного потенциала. В первую очередь, это касается K^+ -каналов, но ИИ также влияет на проницаемость мембраны для ионов Cl^- и Ca^{2+} .

Имеющие место при облучении, изменения в активности мембранных транспортеров могут быть вызваны их физиологической регуляцией. В частности, АФК являются эффективными регуляторами активности протонной АТФазы и ионных каналов. Также АФК-индуцированное перекисное окисление липидов изменяет химический состав и физические свойства мембраны, в том числе влияя на её вязкость и поверхностный заряд, может приводить к нарушению формирования правильного окружения белков-транспортёров и, как следствие, их активности.

В целом, имеющиеся данные позволяют предположить, что наблюдаемые при действии ИИ изменения дальнего транспорта во многом связаны с изменением активности мембранных транспортеров. Это также подтверждает отсутствие изменений в структуре проводящих пучков при облучении даже в высоких (1кГр) дозах.

7.6. Влияние ионизирующего излучения на антиоксидантную систему растений

Растения, как и другие живые организмы, существуя в среде богатой кислородом, продуцируют активные формы кислорода (АФК) в процессах метаболизма. При этом уровень продукции АФК в норме у растений, как фотосинтезирующих организмов, значительно выше в сравнении с животными [Mittler, 2017]. Действие биотических и абиотических стрессоров ведёт к повышению концентрации АФК [Shabala et al., 2011], вызывая развитие окислительного стресса. В процессе эволюции растения сформировали эффективные механизмы защиты от окислительного стресса, которые включают снижение скорости продукции АФК, повышение скорости утилизации АФК и ускорение процессов восстановления повреждённых клеточных структур [Kreslavskii et al., 2012]. Вероятно, развитая антиоксидантная система растений является основной причиной их более высокой радиорезистентности в сравнении с животными.

Нельзя не отметить высокое разнообразие ферментативной и неферментативной систем утилизации АФК в растениях. Так, количество разновидностей низкомолекулярных антиоксидантов минимум на порядок превышает таковое у животных. К основным из них относятся фенольные соединения (флавоноиды, простые фенольные соединения, оксibenзойные и оксикоричные кислоты, кумарины), каротиноиды, токоферолы и др. При всём разнообразии низкомолекулярных антиоксидантов, основная роль в защите от окислительного стресса принадлежит аскорбату и глутатиону, многократное окисление и восстановление которых происходит в циклах с участием антиоксидантных ферментов [Foyer, Noctor, 2011]. Разнообразие последних, включающих супероксиддисмутазы (SOD), каталазы (CATs), аскорбатпероксидазы (APX), глутатионредуктазы (GR), пероксиредоксины (PRX) и др., в клетках растений также велико. Для многих из них характерно существование как минимум нескольких изоформ, обладающих различной локализацией на субклеточном и тканевом уровнях [Noctor et al., 2018].

Отмеченное разнообразие путей продукции и утилизации АФК в клетках растений, по-видимому, обуславливает сложную картину вызванного действием ИИ изменений концентраций АФК. В качестве основной тенденции необходимо выделить вызванное ИИ увеличение содержания АФК в разы – десятки раз с близкой к линейной зависимости в широком диапазоне доз [Qi et al., 2015]. Однако определённые дозы и режимы облучения (главным образом малые дозы и хроническое облу-

чение) могут вызвать снижение концентрации АФК [Hong et al., 2014], что, по-видимому, объясняется избыточной компенсаторной активацией антиоксидантной защиты.

Поскольку все АФК являются короткоживущими соединениями, а их повышенное содержание имеет место через дни и недели после острого облучения и даже у взрослых растений, выросших из облучённых семян [Qi et al., 2015], становится очевидным, что основной причиной этого является не генерация АФК непосредственно под влиянием ИИ, а дисбаланс в работе систем продукции и утилизации АФК. Наиболее вероятными путями генерации «вторичных» (по отношению к ИИ) АФК являются активация специализированных ферментов, таких как НАДФН-оксидаза плазматических мембран [Vanhoudt et al., 2010], а также нарушения в работе электронтранспортных цепей, приводящие к усиленной продукции АФК как побочных продуктов. В пользу последнего, в частности, свидетельствует более высокий уровень продукции АФК у растений, подвергнутых действию повышенного уровня освещения после ИИ [Agarwal et al., 2008]. Это может быть вызвано как повреждением компонентов ЭТЦ в ходе облучения, так и последующим дисбалансом в их синтезе вследствие изменившейся экспрессии [Gicquel et al., 2012], а также нарушениями процессов более высокого уровня, в частности, ведущее к восстановлению ЭТЦ рассогласование в активности (скорости) темновой и световой стадии фотосинтеза. Вызванный указанными причинами рост концентрации АФК по механизмам обратной связи запускает активацию АО системы растений.

В целом, следствием облучения различных видов растений является увеличение количества и активности АО ферментов. Так, облучение луковиц чеснока (10–120 Гр) вызывает активацию СОД, каталазы, пероксидаз, полифенол-лиазы [Kebeish et al., 2015]. При облучении каллусов розмарина (5–20 Гр ИИ) происходит активация СОД, каталазы, аскорбатпероксидазы, глутатионредуктазы [El-Beltagi et al., 2011], семян апельсина (10–50 Гр) [Ling et al., 2008] и семян фасоли (150, 200 Гр) [Stoeva, Vineva, 2001] – активация пероксидаз. В то же время, зачастую после острого облучения активность различных антиоксидантных ферментов не только имеет различную динамику, но и противоположную направленность.

В частности, после острого облучения проростков *Zizania latifolia* (25–100 Гр) обнаружено длительное нелинейное возрастание активности аскорбатпероксидазы и снижение активности СОД и каталазы [Fan et al., 2014]. При обработке α -частицами зародышей (embryos) арабидопсиса

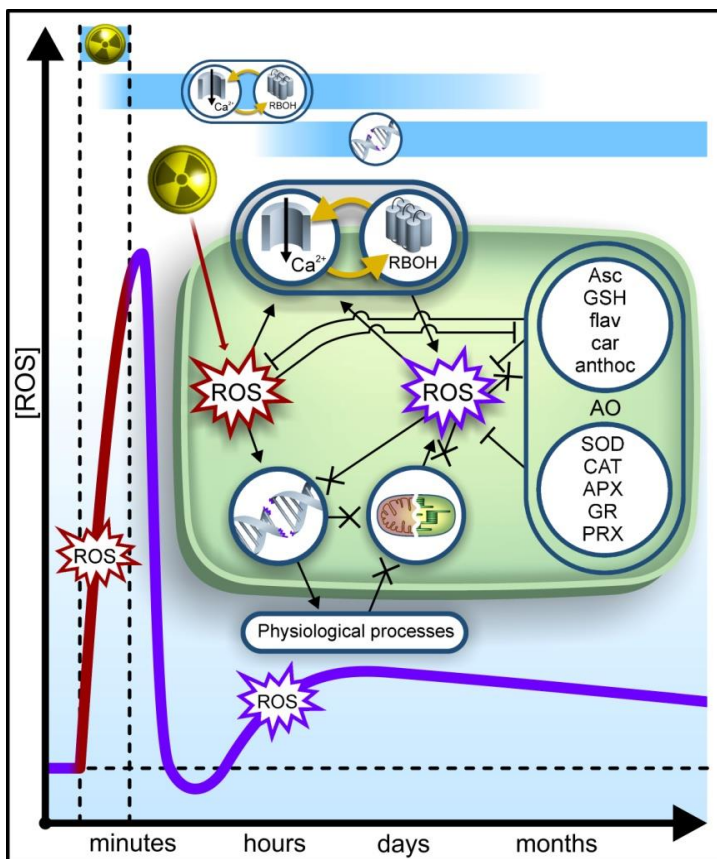


Рис. 16. Механизмы изменения концентрации АФК в растениях под действием ИИ. АО – антиоксидантная система, Asc – аскорбат, GSH – глутатион, flav – флавоноиды, car – каротиноиды, anthoc – антоцианы, SOD – супероксиддисмутаза, CAT – каталаза, APX – аскорбатпероксидаза, GR – глутатионредуктаза, PRX – пероксиредоксины. Красный участок кривой показывает быстрый рост концентрации АФК за счет прямого действия ИК (радиолиза). Фиолетовый сегмент отражает изменение скорости продукции и использования АФК функциональными системами растительной клетки. На этом этапе концентрация АФК определяется активностью АФК-генерирующих элементов сигнальных каскадов, сбоями в работе клеточных ЭТЦ и возможностями системы антиоксидантной защиты [Gudkov et al., 2019]

(10, 100 Гр) активность каталазы росла, СОД – снижалась [Ren et al., 2014]. Облучение семян *Psoralea corylifolia* (2500–20000 Гр) приводило к возрастанию активности СОД, аскорбатпероксидазы, глутатионредуктазы и снижению активности каталазы (Jan et al., 2012). Дозы 10 и 40 Гр, согласно результатам транскриптомного анализа, вызывают различную направленность изменений в экспрессии определенных изоформ пероксидаз и глутатион-S-трансфераз [Gicquel et al., 2012], а доза 200 Гр – изоформ пероксидаз, аскорбатпероксидаз, СОД, оксидоредуктаз в арабидопсисе [Kim et al., 2007].

Наряду с изменениями уровня экспрессии под влиянием ИИ происходит модификация активности АО ферментов, при этом изменения могут иметь различную направленность. Так, при облучении семян риса (25–200 Гр) обнаружено дозозависимое возрастание активности аскорбатпероксидазы и глутатионредуктазы, в то время как экспрессия этих ферментов была снижена [Masovei et al., 2014]. Изменения активности отдельных ферментов АО системы также проявляют различную дозовую зависимость и зависимость от стадии развития растения, подвергнутого облучению. Противоположный эффект на активность СОД и глутатионредуктазы оказывает облучение семян красного перца (2–16 Гр) [Kim et al., 2004]. Облучение арабидопсиса на вегетирующей стадии (100, 800 Гр) приводило к росту удельной активности пероксидаз, в том числе аскорбатпероксидазы, и снижению удельной активности СОД, в то время как при облучении на репродуктивной стадии росла активность пероксидаз и СОД, а активность аскорбатпероксидазы падала [Kim et al., 2011a]. Наблюдаемые изменения активности АО ферментов, по-видимому, связаны с изменениями в механизмах регуляции их активности, поскольку собственно изолированные ферменты, в том числе антиоксидантные, обладают значительно более высокой радиорезистентностью [Simonis, 1966].

Вызванные ИИ изменения содержания основных восстановительных эквивалентов, к которым, в первую очередь, относятся аскорбат и глутатион [Foyer, Noctor, 2011], более однозначны. Облучение способствует длительному (недели) дозозависимому увеличению их общего количества [Mohammed et al., 2012; van de Walle et al., 2016], и росту процентного содержания их окисленных форм [Van Hoesck et al., 2015]. Динамика других низкомолекулярных АО (каротиноидов, флавоноидов, антоцианов) в целом сходна [Kim et al., 2009; Mohammed et al., 2012]. Причём возрастанию антиоксидантной ёмкости (antioxidant capacities) способствует не только их синтез *de novo*, в результате изменения экспрессии соответствующих генов [Hong et al., 2014], но и такие механизмы, как

деградация некоторых полифенолов до мономеров, обладающих более высокой антиоксидантной способностью [Ben Salem et al., 2013].

Необходимо подчеркнуть, что отмеченная выше активация АО системы растений имеет место только до определённых доз [De Mico et al., 2014b] (рис. 16). Облучение же в достаточно высоких дозах вызывает снижение концентрации низкомолекулярных антиоксидантов и инактивацию АО ферментов и, как следствие, растение утрачивает способность противостоять окислительным повреждениям [Dixit et al., 2010].

Описанное выше изменение активности систем продукции и утилизации АФК является с одной стороны причиной изменений их концентрации, с другой – следствием в силу наличия регуляции активности ферментов путём изменения количества субстратов и продуктов реакций. Чрезвычайно важным обстоятельством является тот факт, что регуляция при участии АФК затрагивает не только антиоксидантную систему, а охватывает широчайший спектр различных процессов в клетках растений. АФК, выступая в качестве элементов ряда каскадов как внутриклеточной сигнализации, так и дальней межклеточной сигнализации [Miller et al., 2009], играют важную роль в реакции растений на действие биотических и абиотических стрессоров [Bode et al., 2016]. Пространственные и временные паттерны АФК в сочетании с их реакционной специфичностью, по-видимому, используются клеткой для специфической сигнализации в ответ на действие определённых факторов [Queval, Foyer, 2012]. В связи с этим, вызванные ИИ изменения в АФК-системе приводят к долговременным нарушениям целого ряда биохимических и физиологических процессов не только за счёт повреждения, а главным образом, за счёт действия на сигнальные пути. Так, при облучении имеет место изменение активности НАДФН-оксидазы плазматических мембран [Vanhoudt et al., 2010], которая сегодня рассматривается как хаб всей системы АФК-сигнализации [Miller et al., 2009]. Немаловажно также, что АФК сигнальная система функционирует в тесном взаимодействии с другими сигнальными системами растений, в частности, кальциевой и гормональной. Анализ влияния ИИ на последнюю будет выполнен ниже.

7.7. Влияние ионизирующего излучения на гормональную систему растений

Система фитогормонов координирует практически все физиологические процессы, включая фотосинтез, дыхание, транспорт, обеспечивая развитие растений и их приспособление к окружающей среде. В зависи-

мости от направленности оказываемых эффектов, фитогормоны разделяют на две основные группы: стимулирующие, среди которых важнейшими считают индолилуксусную кислоту (ИУК), цитокинины, гибберелины и ингибирующие (стрессовые), к которым относят в первую очередь этилен и абсцизовую кислоту (АБК). Наблюдаемый физиологический ответ зачастую зависит не только от концентрации конкретных гормонов, но и от их баланса [Kohli et al., 2013].

Известно, что воздействие высоких доз ионизирующей радиации смещает гормональный баланс в направлении угнетения роста и развития растений. Предполагается, что это может быть причиной усиления катаболизма, торможения вегетативного роста и ускорения развития после действия ионизирующей радиации. Показано, что после острого облучения в высоких дозах временно возрастает содержание этилена [Young, 1965], экспрессия ключевого фермента его синтеза, а также ряда этилен-чувствительных транскрипционных факторов [Kovalchuk et al., 2007]. Экспрессия АБК-чувствительных генов также возрастает [Chen et al., 2014], однако эффект более выражен не для острого, а для хронического облучения [Kovalchuk et al., 2007]. Содержание стимулирующих гормонов, главным образом ИУК, при высоких дозах, как правило, снижается [Deng et al., 2017]. Причиной может являться как регуляция на уровне экспрессии [Fortunati et al., 2010], так и ускоренная деградация вследствие повышенного уровня свободных радикалов [Rapurs, 1969]. Результатом понижения концентрации ИУК после облучения является снижение экспрессии факторов ответа на ауксин и генов, активированных ауксином [Kovalchuk et al., 2007].

При воздействии на растения малых доз ионизирующей радиации зачастую наблюдается радиостимулирование, при этом происходит сдвиг баланса фитогормонов в сторону стимуляции, возрастает содержания ИУК, цитокининов, гибберелинов [Sahr et al., 2005]. Активность путей трансдукции этиленового сигнала при этом подавляется [Gicquel et al., 2012]. Концентрация АБК при стимулирующих дозах, по-видимому, может как снижаться [Bitarishvili et al., 2018], так и увеличиваться [Qi et al., 2015], что может быть одним из механизмов тонкой подстройки.

Непосредственного сопоставления изменений, индуцированных радиацией, в гормональном и физиологическом статусах растений к настоящему времени не выполнено. Однако работы с применением экзогенных фитогормонов позволяют полагать, что индуцированный радиацией гормональный дисбаланс может объяснять некоторые последствия облучения на физиологическом уровне. В частности, показано, что обработка ИУК и цитокининами частично или полностью восстанавливает нарушенные в ходе облучения интенсивность ассимиляции и дыхания, активность пероксидаз

[Stoeva, Vineva, 2001], транспорт и распределение ассимилятов [Ursino et al., 1977a], образование придаточных корней [Gordon, Buess, 1973], а также подавляет радиоадаптивный ответ [Deng et al., 2017].

При анализе роли фитогормонов следует учитывать, что физиологические ответы могут модифицироваться в присутствии других сигнальных молекул, в том числе АФК, по механизму crosstalk [Xia et al., 2015]. В настоящее время имеются единичные исследования о взаимовлиянии гормонального и АФК-сигналов при облучении [Qi et al., 2015], данные об их совместном влиянии на физиологические процессы отсутствуют, хотя и могут быть крайне важны для понимания.

7.8. Сочетанное действие радиации и неблагоприятных факторов и развитие к ним адаптации

В естественной среде обитания растения подвергаются влиянию повышенной радиационной нагрузки совместно с действием других стрессовых факторов, к которым им тоже нужно приспособляться [Kovalchuk et al., 2004; Geras'kin et al., 2017]. При сочетанном действии радиации и других стрессоров наблюдаются модифицированные ответы, причём при определённых дозах и режимах облучения ИИ может выступать в качестве адаптирующего фактора. Снижение негативных эффектов было выявлено при сочетанном действии ИИ и таких абиотических стрессовых воздействий, как засуха, засоление почвы, повышенная концентрация тяжёлых металлов, изменение гравитропических условий [Mohammed et al., 2012; Macovei et al., 2014]. При этом для различных стрессоров было показана нормализация по морфометрическим показателям, включая линейные размеры и вес растений, а также по содержанию фотосинтетических пигментов, поглощению и транспорту ионов и др. Это, по-видимому, объясняется индуцированным радиацией возрастанием мощности АО системы. Однако положительный эффект наблюдается до определённой силы воздействия, после чего происходит резкое ухудшение всех исследуемых параметров. При сочетанном действии ИИ и других стрессоров быстрее угнетаются АО ферменты, активнее происходит перекисное окисление липидов, образуется больше двунитевых разрывов ДНК [Macovei et al., 2014]. Также было показано, что у облучённых растений может снижаться содержание определённых вторичных метаболитов, способствующих их защите от травоядных животных [Kebeish et al., 2015]. В целом, при увеличении дозы возрастающие затраты на защиту от ИИ вызывают снижение защитного потенциала в

отношении других стрессоров, что объясняется, по-видимому, как истощением и срывом компенсаторных механизмов, так и кросстолком между различными сигналами. В кросстолке между сигналами, неизбежно возникающем при одновременном действии различных по природе факторов, в том числе ИИ, по-видимому, ключевую роль играет отмеченное выше повышение уровня АФК.

Необходимо подчеркнуть, что АФК действуют не только в зоне, подвергшейся облучению, но и являются компонентом дистанционных сигналов. Это было наглядно продемонстрировано при локальном облучении части растения с регистрацией эффекта в необлучённой зоне. Так, при облучении α -частицами (5 и 10 Гр) корней арабидопсиса наблюдался эффект свидетеля в побегах, причём для разных параметров он проявлялся не ранее, чем через 8 и не позднее чем через 24 часа после облучения [Wang et al., 2011]. В этих работах показано, что для реализации эффекта требуется сигнал, состоящий как минимум из 2 компонентов, одним из которых являются АФК, причём роль АФК выше не в корнях – области генерации сигнала, а в побеге – области его детектирования [Wang et al., 2011]. Это подразумевает распространение дистанционного сигнала, природа которого на сегодняшний день не установлена, способного вызывать активацию АФК-продуцирующих систем. Это возможно только при активации АФК-продуцирующих систем. Поскольку такая активация после ИИ может носить продолжительный характер [Nagata et al., 1999], это может оказывать влияние и на адаптацию растений к другим факторам среды.

Формирование адаптации к негативному фактору – системный процесс, развивающийся на уровне целого организма. Для его возникновения и координации требуется распространение по растению дистанционных сигналов [Miller et al., 2009]. Согласно современным представлениям, неспецифический стрессовый сигнал, возникающий в ответ на многие биотические и абиотические раздражители, представляет собой комплекс взаимоподдерживающих и совместно распространяющихся электрической волны, волн АФК и Ca^{2+} [Katicheva et al., 2014]. Информация о действии ИИ на дистанционные сигналы растений практически отсутствует. Однако влияние ИИ на компонент, связанный с изменением мембранного потенциала, экспериментально подтверждено: под действием радиации имеет место увеличение продолжительности электрических сигналов [Esch et al., 1964]. Это позволяет предполагать модификацию дистанционных сигналов в качестве существенного механизма адаптации растений к сочетанному действию ИИ и других стрессовых факторов среды.

7.9. Влияние ионизирующего излучения на генетическую регуляцию физиологических процессов

На сегодняшний день существует большое количество работ, посвящённых описанию эффектов, оказываемых ИИ на геном растений. Мы не ставим цели перечислить известные факты (подробнее см., например, в [Kovalchuk et al., 2007]), нашей основной задачей в этом пункте является рассмотрение взаимосвязи генетических и физиологических эффектов облучения.

Необходимо отметить, что последствия облучения, даже однократно, проявляются на протяжении продолжительного периода после воздействия. Наиболее явно такие последствия проявляются в виде изменённых (обычно ускоренных) темпов прохождения жизненных стадий, или старения [Gicquel et al., 2012]. Ряд последствий наблюдается также у потомства облучённых растений: у них изменяется (снижается) уровень экспрессии генов АО ферментов, а также возрастает способность увеличивать экспрессию генов репарации и системы антиоксидантной защиты при дополнительном облучении или действии мутагенов [Kovalchuk et al., 2004]. Это указывает на то, что реализация последствий облучения связана не только с возникающими повреждениями ключевых структур, но и с регуляцией, закреплённой на генетическом уровне. Такие долговременные изменения состояния генома могут поддерживаться за счёт гиперметилирования и изменённой частоты переходных рекомбинаций, что наблюдается у потомства облучённых растений на протяжении нескольких поколений [Kovalchuk et al., 2004].

Наряду с повреждениями (репарируемыми и нерепарируемыми) ИИ вызывает изменение регуляции работы генома. В какой-то степени можно говорить о переключении генетической программы развития, где триггером являются события, связанные с острым облучением. Их механизмы, в том числе связанные с генетической регуляцией, изучены более полно, чем долговременные эффекты ИИ. Анализ транскриптома облучённых растений показывает, что в ответ на ИИ изменяется активность экспрессии генов практически из всех функциональных групп: окислительный стресс, трансдукция сигнала, факторы транскрипции, гормональный ответ, метаболизм, транспорт, энергия, развитие и морфогенез, клеточный цикл [Kovalchuk et al., 2007]. Включение определённой генетической программы ответа на стрессор (фактор среды) способствует изменению физиологических процессов в организме, и происходит за счёт сигнальных каскадов, активирующих или инактивирующих

различные транскрипционные факторы, непосредственно влияющие на экспрессию генов. Работа сигнальных каскадов, в свою очередь, тесно связана с физиологическими процессами, что создаёт петлю обратной связи для генетической регуляции. Это позволяет предполагать, что ранние генетические ответы на действие острого ИИ будут связаны преимущественно с образовавшимися в ходе облучения АФК и кальциевым сигналом, а более поздние будут носить более комплексный характер и вызываться как АФК (образующимися в результате рассогласования ЭТЦ хлоропластов и регуляторных процессов, так и другими сигналами, включающими гормоны, miRNA, окисленные формы глутатиона и аскорбата, sugar signaling network и т.д.

В последние годы ведутся работы по выявлению универсальных для ИИ сигнальных каскадов, отвечающих за регуляцию экспрессии генов. Для этого эффекты ИИ изучаются у разных видов растений, на разных жизненных стадиях, при разных дозах, режимах, типах излучений [Kim et al., 2012]. Такой комплексный подход позволил выявить ключевые элементы сигнальных путей, реагирующих на ИИ, однако направленность реакций различалась при разных вариантах воздействия. Предполагаемые сигнальные каскады включают в себя: фосфолипазы C/D, фосфоинозитидзависимую киназу (PDK), АТСП1/Ca²⁺-связывающий белок, митоген-активируемую протеинкиназу (МАРК). Финальным этапом каскадов, непосредственно влияющих на экспрессию генов, являются транскрипционные факторы. В регуляции после ИИ ключевую роль играют факторы из семейств HSF, ZAT, WRKY, Myb [Kim et al., 2011]. Однако эти данные не позволяют составить полной схемы регуляции генома при ИИ, поскольку здесь учитываются только элементы каскадов, чьи гены изменили свою активность после облучения, но их функциональная активация не была отражена. Это имеет смысл для усиления и закрепления эффекта во времени, но для изучения регуляции, осуществляемой, как правило, за счёт изменения редокс состояния или фосфорилированности, дополнительно требуются другие подходы.

Другой потенциальной проблемой анализа экспрессии генов является неполное соответствие данных транскриптомного и протеомного анализов. При изучении действия стрессора на профиль экспрессии генов обычно принимают допущение, что изменение экспрессии гена должно сопровождаться соразмерным изменением количества, закодированного этим геном белка. При действии ИИ такая корреляция обычно тоже прослеживается, хоть и не всегда. В частности, хорошие корреляции изменения экспрессии генов ферментов синтеза с количеством итогового

продукта отмечены для вторичных метаболитов и пигментов, в то время как для некоторых компонентов антиоксидантной системы такие соотношения не вполне справедливы (таблица 9). Таким образом, несмотря на то, что ряд краткосрочных реакций и долговременное закрепление эффектов ИИ во многом опосредуются генетической регуляцией, нужно подробнее изучать сигнальные пути такой регуляции и не забывать обращать внимание на конечный результат – протеом и активность физиологических процессов.

Таблица 9

Сопоставление ответа генома и протеома растений на действие ИИ

Сопоставляемые параметры	Наличие корреляции	Ссылка
Уровень экспрессии генов ферментов синтеза/деградации и количество хлорофилла	+	Kim et al., 2009
Уровень экспрессии генов ферментов синтеза и количество антоцианов	+	Hong et al., 2014
Уровень экспрессии гена фермента синтеза и количество аллииназы	+	Kebeish et al., 2015
Уровень экспрессии генов и активность АО ферментов	+/-	Macovei et al., 2014
Уровень экспрессии генов ферментов синтеза и количество глутатиона	-	van de Walle et al., 2016
Уровень экспрессии генов ферментов синтеза и количество АБК	-	Chen et al., 2014
Геномный и протеомный профили	-	Gicquel et al., 2011 + Gicquel et al., 2012

7.10. Перспективы, направления исследований

ИИ может оказывать влияние практически на все аспекты жизнедеятельности растительного организма. Изменениям подвергаются морфометрические показатели, состояние ДНК и в целом хроматина, состояние антиоксидантной системы, а также все основные физиологические процессы, включая активность фотосинтеза и дыхания, биосинтезы, минеральное питание, транспортные процессы. При действии достаточно высоких доз ИИ, при которых отсутствует стимулирующий эффект, ответы на облучение представляют собой продолжительное снижение ин-

тенсивности большинства физиологических процессов. Анализ динамики ответов на ИИ, показывает, что ответ на острое облучение состоит как минимум из двух фаз: быстрой переходной, регистрируемой с первых минут после облучения, и длительной, продолжающейся в течение недель и месяцев.

Первая – быстрая – фаза, видимо, представляет собой кратковременный обратимый неспецифический стрессовый ответ, являющийся реакцией растения на действие интенсивного раздражителя. Ответы со сходными характеристиками имеют место при действии широкого спектра абиотических и биотических факторов среды. При этом регистрируется переходное угнетение фотосинтеза, транспорта, биосинтезов, активация дыхания, запускается экспрессия стрессовых генов. Такие же эффекты зарегистрированы для быстрой фазы ответа растений на ИИ. В основе таких ответов лежит активация сигнальных каскадов на уровне клетки и организма в целом. На этом этапе ответ формируется при участии быстрых сигнальных систем клетки, основанных на изменении концентрации АФК и кальция, а также рН. Особенностью сигнализации растительных клеток является феномен активации одного сигнального пути, вызывающего активацию других. Как подтверждение общности быстрой стрессовой сигнализации при ИИ и при действии других факторов удобно рассматривать профиль экспрессии генов. Показано, что профили экспрессии, полученные в первые часы после облучения и после воздействия УФ и тяжёлых металлов, имеют значительное сходство [Kovalchuk et al., 2007].

Индукция неспецифической стрессовой реакции на уровне целого организма осуществляется при участии дистанционных сигналов. В частности, хорошо известно, что локальное повреждение вызывает переходные изменения активности ряда физиологических процессов в удалённых частях растения [Fromm, Lautner, 2007; Vodeneev et al., 2017], происходящие в том же временном диапазоне, что и изменения, вызванные ИИ. При этом обнаружено, что острое облучение способно вызывать подобные дистанционные стрессовые сигналы [Hug, Miltenburger, 1962; Hug et al., 1964].

Вторая – длительная – фаза проявляется через несколько дней после облучения и во многом связана с накапливающимися повреждениями структурных компонентов клетки, включая ДНК, липиды, белки, что нарушает нормальное функционирование многих процессов. Однако прямое повреждение молекул, непосредственно участвующих в метаболических процессах, не единственный путь, по которому происходит

длительная реализация эффектов ИИ. Растительный организм – сложная система, в которой регуляция происходит благодаря развитой системе прямых и обратных связей, поэтому несмотря на различную чувствительность к ИИ разных процессов, после облучения затронутыми оказываются они все. Так, образование дупнитевых разрывов ДНК через соответствующие киназы и транскрипционные факторы влияет в том числе на стрессовый ответ и различные физиологические процессы клетки [Culligan et al., 2006]. В свою очередь, нарушение нормального протекания физиологических процессов, к примеру, фотосинтеза, не только приводит к снижению непосредственно связанного с ним транспорта ассимилятов, но и изменяет сигналы, отправляемые из хлоропласта к другим органеллам и ядру [Vener et al., 1998; Bode et al., 2016]. Таким образом, длительные изменения после ИИ во многом объясняются нарушением регуляции, однако они будут иметь другие параметры по сравнению с ответами быстрой фазы. На этом этапе важен повышенный уровень АФК, поддерживаемый на протяжении длительного времени за счёт возникшего после облучения изменения баланса АФК-процессирующих систем. АФК – важные мессенджеры, повышение их концентрации не только приводит к ускоренному окислению биомолекул, но и приводит к продолжительному «зашумлению» регуляторных путей, обеспечивающих взаимодействию процессов, что и приводит к вызванным ИИ ответам. Поскольку образование АФК и нарушение их утилизации происходит в определённых клеточных локусах, такие процессы приобретают признаки специфичности по сравнению с другими факторами среды. Предполагается, что происходящие на этом этапе изменения во многом соответствуют ускоренному старению растительного организма, что проявляется как на генетическом уровне, так и на уровне физиологии [Mehta et al., 1992].

В целом, необходимо отметить, что эффекты ИИ проявляются через сложный комплекс взаимодействующих процессов и систем регуляции растения. Известные на сегодняшний день и гипотетические механизмы такого влияния при действии ИИ показаны в таблице 4.

Предстоящие исследования должны, в первую очередь, дать ответ на следующие вопросы:

- Каковы механизмы влияния ИИ на определенные физиологические и биохимические процессы, модификация активности которых обуславливают изменения в росте и развитии растений при облучении?

- В чем заключается специфика индуцированного ИИ «ROS-сигнала» в сравнении с «АФК-сигналами», вызванными действием на растения абиотических и биотических стрессоров?

- Какие конкретные генетические изменения обуславливают длительные эффекты однократного острого облучения? Имеет ли место переключение «программы развития» растительного организма под влиянием ИИ и каковы его механизмы?

- Каким образом ИИ (в первую очередь, являющиеся следствием техногенной деятельности человека, хроническое облучение) влияет на способность растений адаптироваться к действию неблагоприятных факторов (засуха, соленость, избыточный свет и др)?

Таким образом, за последний век было накоплено много новых данных о влиянии ионизирующего излучения на функциональное состояние растений, однако в философском понимании, ситуация мало изменилась. Напоследок, хочется привести цитату из статьи E.J. Russell в журнале Nature за 1915 год. «The results open up the prospect of an interesting discussion, but it also shows the danger of arguing from a simple physiological observation to a complex phenomenon like the growth of a plant in soil» [Russell, 1915].

8. ХИМИЧЕСКАЯ И РАДИАЦИОННАЯ ТОКСИЧНОСТЬ СОЕДИНЕНИЙ УРАНА

Уран – серебристо-белый металл, один из наиболее тяжелых элементов, встречающихся в природе, с плотностью 19 г/см^3 . Природный уран состоит из трех α -радиоактивных изотопов: ^{238}U (период полураспада $T_{1/2} = 4,5 \times 10^9$ лет, энергия α -излучения 4,2 МэВ), ^{235}U ($T_{1/2} = 7,13 \times 10^8$ лет, энергия α -излучения 4,68 МэВ) и ^{234}U ($T_{1/2} = 2,48 \times 10^5$ лет, энергия α -излучения 4,86 МэВ) [Бекман, 2009]. Основную массу природного урана составляет ^{238}U – 99,283%. На уран-235 приходится лишь 0,712%, а на уран-234 – 0,005% [Tanner et al., 2012].

Содержание урана в земной коре оценивается, в среднем, величиной 1,4 ppm (в пределах от 0,003 ppm (ряд почв) до 20000 ppm (урановые руды)) [Бекман, 2009]. В малых количествах уран входит в состав почти всех пород земной коры, присутствует в почвах, подземных водах, водах рек, морей и океанов, в живых организмах. В высокой концентрации уран содержится в составе более чем 150 различных минералов. Исследования накопления и распределения урана в почвах, возможности его переноса под действием различных внешних факторов являются одной из актуальных проблем радиоэкологического мониторинга [Алексахин и др., 2001].

Уран и его соединения находят разнообразное применение во многих сферах человеческой деятельности. Самое важное практическое использование урана связано с возможностью осуществления непрерывного ядерного деления в результате цепной ядерной реакции ^{235}U . Эта реакция используется в ядерных боезарядах и в топливных элементах для ядерных реакторов атомных электростанций, атомных ледоколов и подводных лодок. Для этих целей необходимо использовать уран, обогащенный изотопом ^{235}U . Однако степень такого обогащения для атомной энергетики и ядерных боеприпасов различна. В природном уране содержится 0,712% ^{235}U , а для атомной энергетики необходима степень его обогащения до 3–4%, тогда как для ядерного оружия требуется получение высокообогащенного урана, содержащего 90% и более ^{235}U [Бекман, 2009].

При добыче урановых руд уран выносится на поверхность Земли в количестве около 50 тыс. т/год [Slezak et al., 2007]. К накоплению урана в окружающей среде приводят, в основном, следующие процессы: 1) образование отходов сложного химического состава при обогащении

урана для производства ядерного оружия и топливных элементов атомных реакторов; 2) аварийные ситуации на предприятиях, занятых переработкой урановых соединений, и на атомных электростанциях; 3) испытание ядерного оружия и применение обедненного урана в военных целях; 4) сжигания угля. При сжигании угля происходит концентрация в золе исходного природного урана. Известно, что в одной тонне золы, в зависимости от качества угля, может содержаться от нескольких до 400 грамм урана [Хэнсон, 1985].

Таким образом, в результате человеческой деятельности содержание урана в поверхностном слое Земли, гидросфере и нижних слоях тропосферы неуклонно растет. Однако его концентрации на различных территориях значительно различаются. Так, содержание урана в реках, в океанах и морях колеблется в пределах 0,013–6 ppm [Смыслов, 1974]. В атмосферном воздухе концентрация урана также может варьировать в значительных пределах, от 0,003 нг/м³ до 40 нг/м³. Многие живые существа (особенно планктонные организмы и растения) способны в значительной степени накапливать уран с коэффициентами аккумуляции от 3 до 1600 раз в зависимости от вида организма и содержания урана в среде [Перцов, 1978]. С воздухом, водой и пищей соединения урана могут поступать в организм человека.

8.1. Обедненный уран и токсичность при его использовании

После обогащения урана остается большое количество урановых продуктов, называемых обедненным ураном (ОУ). ОУ состоит на 99,8% из изотопа ²³⁸U [Бекман, 2009]. Радиоактивность обедненного урана, по оценкам разных исследователей, составляет в среднем 60 % от природного урана. Однако в химическом отношении ОУ проявляет такую же активность, как и природный уран, поскольку его химические свойства определяются электронами на внешних оболочках атома [Черноруков, 2010]. Благодаря своей высокой плотности и дешевизне, ОУ в настоящее время широко применяется как в гражданской, так и в военной областях. Его используют как защитный материал для поглощения рентгеновского и γ -излучений, в качестве балластной (морская техника), балансировочной (самолетостроение, космическая промышленность) и инерционной массы (в высокоскоростных роторах гироскопов, больших маховиках), для окраски стекла и т.п. Однако самое широкое применение обеднённый уран нашел при изготовлении сердечников для бронебойных снаря-

дов [Бекман, 2009]. Известно, что ОУ обладает пирофорными свойствами и при горении окисляется кислородом. Аэрозоль из частиц урана самовоспламеняется на воздухе уже при температуре 150–175 °С, образуя ряд оксидов [Черноруков, 2010]. Пробивая танковую броню, урановый сердечник сжигает все внутри танка.

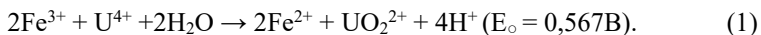
В последние годы опубликован ряд сообщений о значительной опасности для окружающей среды и здоровья человека боевого использования снарядов с обедненным ураном [Лошадкин и др., 2002; Bleise et al., 2003]. Такие снаряды применялись во время войн в Персидском заливе в 1991 г., на Балканах (1999 г.) в районах Боснии и Косово в бывшей Югославии, а также они использовались во время других военных операций. Использование бронебойных снарядов с обедненным ураном во время этих боевых действий привело к существенному загрязнению окружающей среды оксидами урана [Borrmann, 2010].

Обнаружено, что при использовании снарядов с обедненным ураном впоследствии наблюдается массовое заболевание людей «неясной этиологии» среди военнослужащих и мирного населения [Лошадкин и др., 2002]. Для этих заболеваний «неясной этиологии» характерны отдаленные эффекты в виде комплекса симптомов: расстройства памяти, бессонницы, угнетенного состояния, головокружений и головной боли, мышечной слабости, болей в суставах, воспаления кожных покровов, нарушения со стороны сердечно-сосудистой системы, органов дыхания и других внутренних органов, аллергические реакции, импотенция. К числу наиболее неблагоприятных отдаленных последствий относятся активация канцерогенеза и повышение частоты новообразований [Borrmann, 2010; Vogers et al., 2013]. После войны на Балканах сообщалось также о многочисленных случаях острой лейкемии среди военнослужащих, наряду с повышенной частотой других опухолевых заболеваний, которые связывали с использованием таких снарядов [Smirnova et al., 2011]. Эти заболевания наблюдаются только в Боснии и Косово, где использовались снаряды с обедненным ураном. В расположенной рядом Хорватии, где такие снаряды не применялись, эти последствия отсутствовали [Лошадкин и др., 2002].

Токсическое действие ОУ зависит от ряда факторов и, прежде всего, от его локализации в организме человека – внешнего или внутреннего воздействия. При внешнем воздействии основным органом поражения является кожа, в результате оседания на ее поверхности аэрозольных частиц. Попадание ОУ внутрь организма может происходить путем поступления через органы дыхания, при потреблении с пищей или водой.

[Bleise et al., 2003]. Он может попадать в организм человека при проникающих ранениях осколками уранового сердечника и в форме оксидов урана при окислении после взрыва снаряда. Основными оксидами, образующимися при этом, являются U_3O_8 , UO_2 и UO_3 [Бекман, 2009]. Следует отметить, что аналогичные окислы обогащенного ^{235}U , попали в окружающую среду при аварии на Чернобыльской АЭС [Salbu et al., 2003].

Оксиды урана нерастворимы в воде, хотя медленно растворяются в тканевой жидкости (недели UO_3 и годы U_3O_8 , UO_2). Водорастворимыми соединениями урана являются соли, содержащие ионы уранила (UO_2^{2+}), который может реагировать с различными биологическими молекулами. Соединения иона уранила UO_2^{2+} образуются в почве из оксидов [Sather et al., 2013] урана в результате геохимических окислительно-восстановительных реакций. Для геохимии урана наиболее важной является система уран-железо [Гитаева, 2000], переводящая уран в степени окисления +4 в состояние +6 в реакции:



Известно, что 2–5% потребленного с водой или пищей растворимого ОУ, содержащего ионы уранила попадает в кровь из кишечника, оставшиеся 95–98% быстро выводится из организма [Harley, 2000]. Около 90% ОУ, адсорбированного в крови, быстро выводится из организма с мочой в течение первой недели после попадания внутрь организма. Дольше всего уран сохраняется в костях (5–25 лет), а около 1%, по-видимому, остается там навсегда. В организме уран образует растворимые комплексы с бикарбонатом, цитратом или белками [Fox et al., 2008]. В крови около 47% урана образует комплексы с бикарбонатами, 32% связывается с белками крови, и 20% связывается с эритроцитами [Smirnova et al., 2011]. Были исследованы эффекты, вызванные нахождением фрагментов снарядов в телах 62 американских солдат, раненных шрапнелью с ОУ во время боевых действий в Персидском заливе. В результате установлено, что ОУ медленно растворяется и содержание урана в крови и моче этих солдат было повышенным на два порядка в течение нескольких лет после войны [McDiarmid et al., 2000].

Вдыхание пыли с частицами ОУ является главным путем попадания урана в легкие человека после применения на местности снарядов с ОУ. Около 95% вдыхаемых частиц с диаметром более 10 мкм накапливаются в верхних дыхательных путях. Частицы размером менее 10 мкм могут

проникать глубоко в легкие (до бронхов и альвеол) и находиться там длительное время [Pattison, 2013]. Количество ОУ, которое адсорбируется в крови и задерживается в тканях и органах, зависит от размера и растворимости частиц, содержащих уран. Растворимые формы находятся в организме в течение нескольких дней, а нерастворимые – от нескольких месяцев до нескольких лет. Как будет рассмотрено в дальнейшем, вероятно, химические токсические эффекты обусловлены преимущественно растворимыми формами урана, в то время как радиационные эффекты могут быть связаны с нерастворимыми соединениями, которые, попадая в легкие и лимфатические узлы, остаются в них на длительное время. Следует учитывать, что и после радиоактивного распада атомов урана радиоактивность продолжает сохраняться за счет образования других радиоактивных элементов в соответствующем ряду распада [Smirnova et al., 2011].

Таким образом, в связи с широким использованием соединений урана и загрязнением этими соединениями окружающей среды, существует проблема защиты человека и животных от повреждающего действия соединений урана при поступлении их в организм. Токсический эффект соединений ОУ зависит от ряда факторов: способа попадания в организм, вида соединения урана, его растворимости, длительности и механизма воздействия на организм.

8.2. Токсичность урановых соединений: химическая и радиационная компонента

Причиной токсичности и повреждающего действия урана и его соединений в организме считается как радиоактивность изотопов урана и продуктов их распада, так и их высокая химическая активность.

Радиоактивность. Радиационный механизм токсического действия урана, обусловлен его радиоактивностью. Деление ядра приводит к высвобождению α -частицы с большой энергией, которая вызывает ионизацию и сверхвозбуждение электронов внешних оболочек атомов. В результате происходит радиолиз воды и разрушение химических связей биомолекул [Ward, 1988; Кудряшов, 2004]. Процессы, происходящие в результате радиоактивности урана, сопровождаются развитием окислительного стресса, интенсивность которого зависит от концентрации соединений урана, а также состояния антиоксидантных и репарационных систем клеток. Токсическое действие урана, обусловленное его радиоак-

тивностью, наблюдается при потреблении воды с концентрацией урана свыше 15 мкг/л.

Химическая токсичность. Исследованиям химической токсичности урана до последнего времени уделялось малое внимание. Однако исследования последних лет показали, что химическая токсичность ионов уранила значительно превосходит токсичность, обусловленную радиоактивностью атомов урана. Химическая токсичность находится в прямой зависимости от типа соединений урана, их концентрации, растворимости и способа поступления в организм (Sztajnkrycer et al., 2004). Уран в виде ионов уранила практически необратимо связывается с сульфгидрильными группами аминокислотных остатков белков, что приводит к их инактивации. Особенно это касается ферментов-антиоксидантов и ферментов, участвующих в репарации ДНК, а также белков мембранных каналов, при этом возникает окислительный стресс (Domingo, 2001). Возможным механизмом реализации химической токсичности урана является его способность к образованию комплексов с биологически значимыми анионами, что негативно сказывается на водном обмене, обмене биологически значимых анионов и катионов [Baker, 2012].

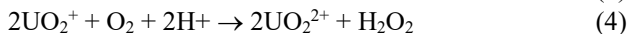
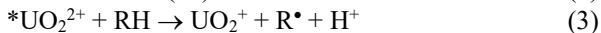
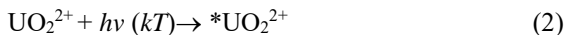
Соединения урана оказывают разноплановое токсическое действие, вызванное различными физико-химическими и биологическими процессами. Острое токсическое действие урана, обусловленное его радиационными и химическими свойствами, наблюдается при потреблении воды, содержащей концентрации урана 500–6000 мкг/л. При отравлении ураном в таких концентрациях токсический процесс обусловлен, главным образом, нарушением функции почек [Taylor, Taylor, 1997]. Большинство соединений урана выводится из организма преимущественно через почки, при этом происходят повреждения структур тубулярного и гломерулярного аппарата и нарушения их функциональных свойств. Урановая интоксикация высокими концентрациями соединений урана приводит также к функциональным и морфологическим нарушениям центральной и периферической нервной системы, которые выражаются в изменении условно-рефлекторной деятельности, нарушениях процессов возбуждения и торможения. Патологические процессы происходят в желудочно-кишечном тракте, печени, щитовидной железе, сердечно-сосудистой системе, надпочечниках. Они сопровождаются нарушениями водного, жирового и углеводного обмена [Sztajnkrycer et al., 2004; Taylor, Taylor, 1997].

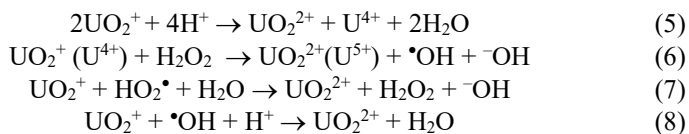
Таким образом, в острых случаях отравления урановыми соединениями (при поступлении в организм их больших концентраций за короткий период времени) доминирующими являются химические свойства урана. При длительном поступлении в малых концентрациях резко возрастает вклад радиационной составляющей. Основным результатом токсичности становится развитие окислительного стресса и инактивация ферментов. Так как, по данным разных авторов [Маленченко и др., 2011], содержание урана в различных органах и тканях человека при однократном введении отличается между собой на 1–2 порядка величины, возникают сложности при трактовке зависимости доза-эффект.

8.3. Образование активных форм кислорода под действием ионов уранила

Ионы уранила являются водорастворимым соединением урана, попадающим в окружающую среду и в организм за счет деятельности человека. Под влиянием ионов уранила в организме развивается окислительный стресс, Окислительный стресс сопровождается окислительными повреждениями ДНК, белков, липидов и других биомолекул.

Известно, что ионы уранила являются высокоизбирательными акцепторами гидратированного электрона [Пикаев, 1976]. Установлено, что гидратированный электрон возникает в системе вода-воздух из ряда анионов, в том числе из гидроксил аниона, в результате образования электрон-радикальной пары при действии различных физических факторов [Bruskov et al., 2002]. Показано, что ионы уранила существенно увеличивают выход перекиси водорода и гидроксильных радикалов при тепловом, световом и радиационном воздействии на воду [Smirnova et al., 2011; Smirnova et al., 2005]. Этот процесс происходит даже в диапазоне микромолярных концентраций уранилнитрата [Garmash, Smirnova, 2014]. В зависимости от воздействия физических факторов, наличия в среде молекулярного кислорода, ионов переменной валентности и восстановителей, ионы уранила участвуют в сопряженных радикально-цепных процессах, роль и детали которых еще предстоит выяснить. Наиболее существенные из них следующие [Хамидуллина и Лотник, 2013]:





В возбужденном состоянии ионы уранила более эффективно реагируют с восстановителями, анионами и органическими субстратами (3). Одним из продуктов этой реакции является ураноил ион (UO_2^+), это соединение в водных растворах вступает в три основных типа реакций: с молекулярным кислородом (4), диспропорционирования (5) и с АФК (6–8).

Ионы переменной валентности при наличии перекиси водорода в среде могут приводить к образованию гидроксильных радикалов в результате реакции Фентона. Установлено, что в присутствии H_2O_2 и аскорбата натрия обедненный уран, в виде уранилнитрата, вызывает образование гидроксильных радикалов, причем более эффективно, чем ионы железа в реакции Фентона [Miller et al., 2002]. Гидроксильные радикалы приводят к различным повреждениям ДНК [Газиев, 1999]. При этом наиболее биологически значимым ключевым биомаркером реакции гидроксильных радикалов с основаниями ДНК является образование 8-оксогуанина [Bruskov et al., 2012] и продуктов его дальнейшего окисления. Кроме того, ионы уранила вызывают окисление оснований ДНК с образованием тиминовых гликолей [Miller et al., 2002], дезаминирование цитозина и депуринизацию ДНК [Smirnova et al., 2005]. Показано, что уранилацетат в присутствии витамина С вызывает одноотяжевые разрывы ДНК [Yazzie et al., 2003], а также кластерные повреждения ДНК в культуре эпителиальных клеток человека [LaCerte et al., 2010]. Блокирование микромолярными концентрациями уранилацетата комплексообразования ДНК-связывающих белков с ДНК может быть причиной нарушения функционирования белков, участвующих в транскрипции и репарации, и быть одним из потенциальных механизмов токсических эффектов низких концентраций ионов уранила [Hartsock et al., 2007].

Таким образом, уран в составе химических соединений, содержащих ионы уранила, приводит к усилению генерации активных форм кислорода в водных растворах в результате сопряженных радикально-цепных реакций. Основными необходимыми компонентами для таких процессов являются наличие в водном растворе молекулярного кислорода и химических восстановителей.

8.4. Эффекты ионов уранила на клеточном и организменном уровнях

На клеточном уровне ОУ в виде уранилнитрата вызывает злокачественную трансформацию и является генотоксическим агентом для иммортализованных клеток остеобластов человека. При одинаковой концентрации ионов уранила, обладающих разной удельной радиоактивностью, неопластическая трансформация увеличивается с ростом радиоактивности. Эти данные позволяют полагать, что радиационный фактор может играть определенную роль в проявлении биологических эффектов при действии обедненного урана [Miller et al., 2002]. Ранее исследованы мутагенные эффекты ОУ в культуре клеток лейкоцитов человека и фибробластов эмбрионов мышей. ОУ, в виде уранил ацетата, в концентрации 100–500 мкг/л при добавлении к суспензии этих клеток вызывает значительное увеличение хромосом как диплоидных, так и тетраплоидных, а среди фибробластов мышей появлялись даже гексаплоидные и октаплоидные клетки [Маленченко и др., 2011]. В работе Миллер с соавторами было показано, что под действием обедненного урана, в виде уранилнитрата, увеличивается частота спонтанных мутаций у мышей. Более того, установлено, что повышенная частота мутаций сохраняется и у их потомков, которые оказались более подвержены радиационно-индуцированному окислительному стрессу по сравнению с потомками контрольных мышей [Miller et al., 2010]. Установлено влияние ионов уранила на образование полихроматофильных эритроцитов с микроядрами в костном мозге мышей, а также образование долгоживущих радикалов белков и карбонильных производных белков в плазме крови [Garmash, Smirnova, 2014]. Долгоживущие радикалы белков образуются под действием АФК, индуцированных различными факторами среды [Bruskov et al., 2014]. Установлено, что такие радикалы играют важную роль в последующей длительной генерации активных форм кислорода с образованием, в частности, H_2O_2 . Они существенно продлевают окислительный стресс и способны к окислительным повреждениям ДНК [Gudkov et al., 2010]. Ряд природных антиоксидантов при введении их мышам вскоре после облучения значительно подавлял этот процесс и значительно увеличивал выживаемость животных после облучения в летальных дозах [Asadullina et al., 2010]. Установлено, что при введении крысам окиси-закиси урана в брюшную полость и внутрь бедренной кости возникают саркомы в 7–36% случаев с минимальным латентным периодом до 7 месяцев [Hu, Zhu, 1990]. Показано, что в генетическом

аппарате половых клеток при урановой интоксикации (обедненный уран в виде уранил нитрата) индуцируются и накапливаются повреждения, которые передаются потомству. Это проявляется в инициации генетической нестабильности, повышенной вероятности онкологической трансформации и формировании генетического груза [Hao et al., 2012; Sudarevic et al., 2014].

Эпидемиологические данные свидетельствуют о возможной патогенетической связи между содержанием урана и продуктов его распада в почвах, водах и опухолеобразованием, частотой врожденных уродств, эндемической нефропатией и другими заболеваниями. Анализ врожденных уродств и смертности населения в зависимости от геохимических особенностей почв территории проживания приводит к выводу, что эти показатели выше в тех районах, почвы которых содержат больше урана [Бекман, 2009]. Повышенное содержание урана в питьевой воде (9–12 мкг/л по сравнению с 0,1–3,0 мкг/л в других районах) связано со значительно (более, чем в 4 раза) более высокой частотой различных патологий [Smirnova et al., 2011]. Вероятность заболевания раком щитовидной железы в Бразилии среди населения, постоянно проживающего в районах с повышенным уровнем урана была значительно выше, чем среди людей на территориях с низким содержанием урана [Москалев и Журавлев, 1983]. В обзоре [Brugge, Buchner, 2011] содержится информация о влиянии повышенных концентраций урана на здоровье людей и окружающую среду вблизи урановых рудников. Около 1200 тонн боеприпасов с ОУ было израсходовано в Ираке в ходе войны в Персидском заливе 1991 и 2003 годах. Увеличение в 2–3 раза общей частоты возникновения рака молочной железы и легких, лейкемии и лимфомы у жителей иракских городов Багдад, Басра, Мосул связывается именно с этим явлением [Fathi et al., 2013].

Таким образом, уран в составе химических соединений, преимущественно содержащих ионы уранила, проявляет существенные мутагенные и канцерогенные свойства. Эти эффекты свидетельствуют о генотоксичности ионов уранила, которые вызывают развитие продолжительного окислительного стресса и сопровождаются повреждением белков, ДНК и других биологически важных соединений. Даже при малых концентрациях ионов уранила (именно ионов уранила, а не других неразборчивых оксидов урана) их химическая токсичность преобладает над радиационной. Об этом убедительно свидетельствуют следующие результаты: (1) потенциально низкая удельная радиоактивность обедненного урана [Domingo, 2001], (2) малые различия между эффектами

обедненного и обогащенного урана [Darolles et al., 2010], (3) сильная зависимость повреждающего действия ионов уранила от температуры [Garmash et al., 2014].

8.5. Защита организма от токсического воздействия урановых соединений

Одной из актуальных современных проблем является поиск веществ, способных защищать клетки от окислительного стресса, вызванного токсическим действием урана. В настоящее время способы поиска такой защиты, в основном, направлены на применение энтеросорбентов. Предложен новый хелатирующий уранил ионы препарат деферипрон (L1) и 1-(2-гидроксиэтокси) метил-2-метил-3-гидроксильный-4-пиридинон (HEML1). Эти хелаторы не оказывают неблагоприятного воздействия на клетки почки человека, однако дают возможность в существенной мере защитить их при урановой интоксикации, вызванной образованием свободных радикалов [Liu et al., 2011]. Недавно показано действие углеводного полимера β -(1 \rightarrow 3)-D-глюкана, как эффективного средства защиты от окислительного стресса, вызванного обедненным ураном [Pourahmad et al., 2011]. Выявлена защитная роль ионов цинка против острой токсичности высоких концентраций ОУ (уранил нитрата). Ионы цинка при введении их в концентрации 10 мкг/г проявляют значительный протекторный эффект путем снижения содержания урана в почках. Это предотвращало некроз их клеток и приводило к активации антиоксидантных систем в организме крыс [Hao et al., 2012].

Таким образом, разработка методов эффективной нейтрализации патологических последствий воздействия соединений урана, в частности, ионов уранила, на биологические объекты, включая человека, в настоящее время является актуальной проблемой, требующей своего решения.

9. ВЛИЯНИЕ ВИДИМОГО СВЕТА НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОБЪЕКТЫ: ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

9.1. Роль света в жизни биологических объектов

Видимый свет – это электромагнитное излучение с длинами волн 380–780 нм и энергиями кванта 1,6–3,2 эВ, воспринимаемое человеческим глазом. Видимый свет очень важен для существования жизни на Земле, для большинства экологических сообществ он является основным источником энергии [Walter, 2003]. Исключением, пожалуй, являются только глубоководные сообщества «черных курильщиков», не способные использовать энергию солнечного излучения и живущие за счет энергии химических соединений, выделяемых на разломах литосферных плит [Weiss et al., 2016]. Превращение энергии квантов света в энергию химических связей происходит в процессе фотосинтеза, для этого высшим растениям преимущественно необходим свет с длиной волны 680 и 700 нм, хотя и встречаются исключения [Powles, 1984]. Если рассматривать всю живую природу, то с участием света протекают такие важнейшие процессы, как, фототаксис, фототропизм, фотопериодизм, циркадные ритмы и зрение. Фототаксис характерен в основном для микроорганизмов и растений, выражается в направленном движении по градиенту освещенности [Jekely et al., 2008]. Фототропизм проявляется в изменении направления роста органов растений или положения тела/органов у животных, в зависимости от направления падающего света [Reinert, 1959]. Под фотопериодизмом обычно понимают реакции живых организмов на суточный ритм освещенности – продолжительность светового дня или соотношение между темным и светлым временем суток. Под действием реакции фотопериодизма растения переходят от вегетативного роста к зацветанию, у животных фототропизм регулирует начало брачного периода и перелета у ряда птиц, линьки и зимней спячки у некоторых млекопитающих [Bradshaw, Holzapfel, 2007]. Циркадные ритмы – это циклические колебания интенсивности разных биологических процессов, связанные со сменой дня и ночи [Saper et al., 2005]. Циркадные ритмы имеют эндогенное происхождение (биологические часы), воздействие света производит лишь их подстройку [Millar, 2016]. Наиболее важным для человека является зрение – физиологический процесс восприятия, источником которого является свет, излучаемый

или отражаемый от окружающих нас предметов. Живые объекты могут не только улавливать изменения условий освещенности, но и сами генерировать свет, этот процесс называется биолюминесценция [Wilson, Hastings, 1998]. Обычно в основе биолюминесценции лежат химические реакции, в которых излишки энергии выделяются в виде света. Известно, что биолюминесценция нужна для привлечения добычи или партнеров, коммуникации и отпугивания хищников. Функция биолюминесценции для многих светящихся организмов до конца не изучена.

9.2. Физические механизмы действия света

Все виды взаимодействия видимого света с живой материей могут быть разделены на восемь категорий: преломление, рассеяние, отражение, пропускание, флуоресценция, поляризация, дифракция и поглощение. В живой природе есть примеры использования живыми системами всех восьми категорий взаимодействия, однако наиболее распространенным взаимодействием является поглощение [Bischof, 1995].

На микроскопическом уровне для разных веществ механизмы поглощения лазерного излучения различны. В случае металлов практически всю электромагнитную энергию поглощают свободные электроны в очень тонком (толщиной всего 100 нм) при поверхностном слое мишени. За время 10 пс они передают полученную энергию кристаллической решетке металла, в результате чего последняя нагревается. По этой причине нагрев металлов лазерным излучением в широком диапазоне длин волн оказывается поверхностным. В полупроводниках поглощение определяется соотношением ширины запрещенной зоны и энергией кванта света – фотон «перебрасывает» электрон из валентной зоны в зону проводимости. Для кристаллических диэлектриков основной «агент», принимающий энергию лазерного излучения, – колебания их кристаллической решетки. Поглощение света полимерами и жидкостями в основном тоже определяется возбуждением колебательных (и колебательно-вращательных) уровней, только уже молекул. Эти вещества хорошо поглощают излучение с длинами волн в красной области спектра; для них лазерный нагрев, как правило, бывает объемным. Однако до нагрева возбуждение видимым светом приводит к фотопревращению молекул: уменьшению энергии активации в химических реакциях, изменению конформации, снятию спиновых запретов, изменению спина другой молекулы [Pillouer-Prost, Cartier, 2016].

При достаточно высокой плотности мощности видимого излучения большая часть энергии превращается в тепло [Barmina et al., 2010] и нагревает вещество или ткань, вызывая ее тепловое расширение и термические повреждения. Тепловое расширение ткани приводит к генерации и распространению в ней и окружающей среде импульсов давления и ударных волн. Если облучаемая поверхность свободна (т.е. не контактирует с другой конденсированной средой), возникающий при этом импульс давления в линейном приближении пропорционален производной лазерного импульса по времени. В случае широко распространенной колоколообразной формы последнего изменение давления приобретает характерный биполярный вид, в котором за фазой сжатия следует фаза разрежения. Если же облучаемая поверхность контактирует с поверхностью более плотной среды, импульс давления становится униполярным импульсом сжатия [Andreev et al., 2007a]. Если такой импульс, распространяясь по веществу, доходит до его свободной поверхности, то при отражении он преобразуется в импульс растяжения (отрицательного давления), отрывая фрагменты поверхности мишени (возникают так называемые откольные явления).

При еще большей плотности мощности порядка 10^6 – 10^7 Вт/см² могут быть получены фотомеханические повреждения. В этом случае в месте светового воздействия достигается перегрев значительно выше температуры кипения воды. Распад этого состояния сопровождается резким повышением давления и образованием большого количества новых границ раздела фаз «жидкость-пар» – кавитационных пузырей [Andreev et al., 2007b]. Подобное расширение парогазовых полостей может приводить к генерированию в них электрических полей большой амплитуды [Andreev et al., 2010]. Дальнейшее увеличение интенсивности лазерного излучения на поверхности мишени до величин порядка 10^9 Вт/см² приводит к оптической ионизации паров вещества мишени и образованию плазменного факела, сопровождающемуся генерацией еще более мощных импульсов давления и ударных волн [Barmina et al., 2014].

9.3. Влияние света на физиологические реакции человека

В настоящее время хорошо известно влияние цвета, интенсивности и длительности светового потока на эмоциональное состояние человека. Это психофизиологические явления всегда начинаются с визуального контакта глазами и осмысления. Например, одни цвета нам кажутся теп-

лыми, а другие холодными. Ярко-красный цвет у большинства людей увеличивает частоту пульса, дыхания, артериальное давление и в целом действует возбуждающе, зеленый – наоборот, действует освежающе, успокаивающе [Kiseleva, Kulganov, 2012].

Другим типом физиологических эффектов видимого света являются системные кооперативные эффекты, связанные с воздействием видимого света на какой-либо орган или ткань. В большинстве подобных исследований наблюдается незначительные (обычно не более 20–30%) эффекты, не известна первичная мишень, получаемые данные в существенном числе случаев являются противоречивыми и не имеют физико-химического объяснения. Большинство авторов сходятся во мнении, что кванты красного света ускоряют дифференцировку клеток, восстанавливают их функциональную активность, стимулируют процессы репарации, обладают иммуномодулирующими, обезболивающими и гипосенсибилизирующими свойствами, кванты синего света обладают цитостатическим и бактерицидным действием.

Показано, что под действием видимого света с длиной волны 650 нм на кожу лица наблюдаются уменьшение растяжимости, повышением упругих свойств кожи [Kirianova et al., 2012]. Применение фототерапии в красной области спектра при купировании обострений бронхиальной астмы позволяет добиться положительных результатов в более короткие сроки [Ostrovskiy et al., 2014]. Семидневный курс облучения красным модулированным светом полости рта приводит при хроническом пародонтите к полной ремиссии в 100% случаев [Belenova, Kobzeva, 2014].

Светодиодное излучение красной части спектра оказывает анальгетическое действие при синдроме жжения полости рта [Borisova, 2012]. Светодиодное излучение в красной части спектра положительно влияет на ряд основных показателей при лечении инфицированных кожно-мышечных ран [Ermolaev, 2015]. Показано, что совместное воздействие красного света позволяет улучшить состояние репродуктивной системы женщин после операций на маточных трубах при бесплодии [Diamant, 2003]. Установлена эффективность лечебного воздействия лазерной терапии при венозном застое в органах малого таза [Vorodin, 2008]. Применение низкоинтенсивного красного лазерного излучения оказывает антигипоксическое действие при терапии больных с хронической obstructивной болезнью легких с сопутствующей ишемической болезнью сердца [Chernykh, 2013]. Выявлен, положительный эффект влияния низ-

коинтенсивного лазерного излучения Красной области спектра на функцию дыхания спортсменов [Bruk, 2010].

Много аналогичных данных получено в лабораторных экспериментах на животных, так известно о стимулирующем воздействии низкоинтенсивного красного света на сократительную активность изолированного сердца крысы после ишемии [Mopich et al., 2011]. Показано, что излучение красного диапазона положительно влияет на эмбриональное развитие у хомяков [Nakayama et al., 1994]. Облучение преобразованным светом с дополнительной люминесцентной компонентой в красной области существенно уменьшает количество аномально развитых и нежизнеспособных эмбрионов мышей [Chernov et al., 2013] (Рис. 18).

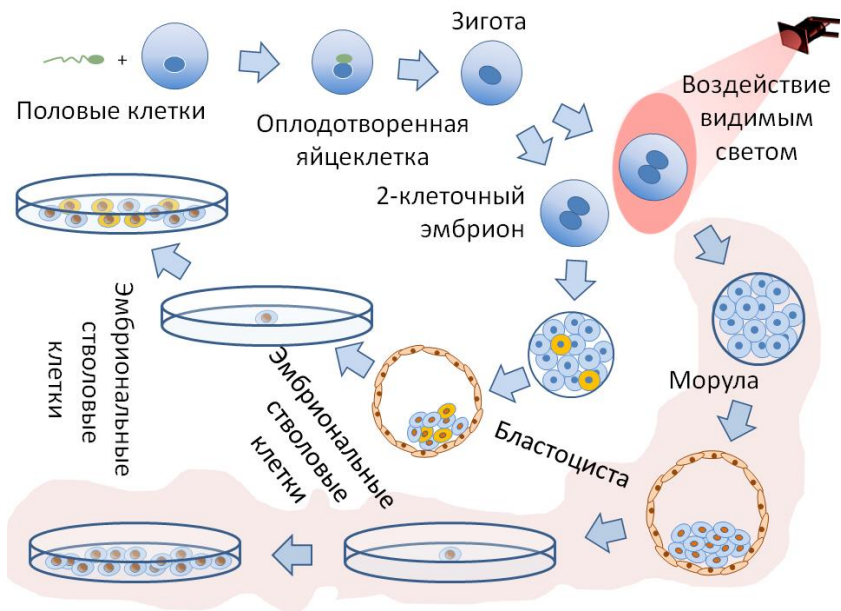


Рис. 18. Воздействие преобразованным светом на стадии двухклеточного эмбриона приводит к меньшей поврежденности эмбриональных стволовых клеток [Chernov et al., 2013]

9.4. Влияние света на микрофлору человека

Как отмечалось выше, кванты синего света обладают цитостатическим и бактерицидным действием. Свет синей части спектра способен инактивировать бактерии *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* [Eunwemeka et al., 2008], *Porphyromonas gingivalis* [Kotoku et al., 2009], *Propionibacterium acnes* [Ashkenazi et al., 2003], *Staphylococcus epidermidis* (Tuchina, Tuchin, 2009), *Pseudomonas aeruginosa* [Sailer et al., 1997] и других. Способность синего света инактивировать патогенные и условно-патогенные бактерии активно используется при сопутствующей терапии ЛОР заболеваний [Karandashov, 2013] и лечении ран и язв, а также поражений кожи [Gold et al., 2005].

Интересно, что для многих микроорганизмов, синтезирующих аналоги порфиринов, видимый свет красной части спектра также может оказывать ингибирующее действие. Лактобактерии, составляющие значительную часть микрофлоры кишечника, под действием красного света начинают интенсивно расти и размножаться. На основе этого эффекта разработана методика лечения дисбактериоза с помощью «фотонной» таблетки [Dirin et al., 2000]. «Фотонная» таблетка – это небольшая капсула длиной 22 мм и 11 мм в диаметре, внутри капсулы расположены светодиодные источники света, генератор электрических импульсов и источник питания. Клинические исследования показали эффективность «фотонной» таблетки при коррекции дисбактериоза кишечника [Naumov et al., 2000]. Эксперименты *in vitro* другой группы ученых показали, что при облучении культуры лактобактерий лазером (с длиной волны 0,65 мкм) количество колоний лактобактерий в опыте по сравнению с контролем может достоверно возрастать в 1,3 раза [Chukhrai et al., 2012]. Следует помнить, что стимулирующий эффект красного света наблюдается лишь при невысоких интенсивностях, так показано, что при облучении бактерий лазером с длиной волны 632,8 нм и энергетической экспозиции 2,5 Дж/см² наблюдается стимуляция роста и размножения, тогда как при энергетической экспозиции 10 Дж/см² наблюдается ингибирование жизненных функций [Monich et al., 2010]. В свете выше представленного, представляется перспективным продолжать разработки по фотобиомодуляции микробиоты человека и растений, причем уделять внимание разработке методов и приборов неинвазивного облучения.

9.5. Использование световых воздействий в диагностике и терапии

В настоящее время в медицинской диагностике используется большое количество фотокалориметрических, флуоресцентных и турбодиметрических (рассеяние) методов. Основными измеряемыми единицами при использовании этих методов является оптическое поглощение, интенсивность флуорисценции, рассеяние и даже смещение спектра при лазерной доплеровской флоуриметрии. Кроме диагностики свет используют также в терапии крайне широко от физиотерапевтических процедур до лечения онкологий [Loschenov et al., 2000].

Фотодинамическая терапия (ФДТ) – метод лечения онкологических заболеваний, ряда заболеваний кожи и некоторых инфекционных заболеваний [Filonenko, Serova, 2016]. Метод основан на применении светочувствительных лекарственных препаратов – фотосенсибилизаторов [Galkin et al., 2016]. Классическими фотосенсибилизаторами являются производные порфиринов и родственные им гетероароматические структуры. Такие фотосенсибилизаторы способны избирательно накапливаться в высокопролиферативных тканях, в том числе опухолевых, а также в некоторых микроорганизмах [Isenberg, 1964]. При действии на фотосенсибилизаторы видимым светом, с длинами волн, соответствующими их максимуму поглощения, в водных растворах, насыщенных молекулярным кислородом, наблюдается спин-конверсионная фотохимическая реакция основным продуктом которой является высокореакционный синглетный кислород [Zhou et al., 2016]. В биологических тканях и жидкостях за счет восстановления и протонирования синглетный кислород способен превращаться в большинство из известных активных форм кислорода [Gudkov et al., 2011]. Активные формы кислорода повреждают биологические молекулы и структуры клеток, накопивших фотосенсибилизатор, что приводит к их гибели. Нужно отметить, что образование активных форм кислорода происходит в водных растворах и без фотосенсибилизатора, однако эффективность этого процесса крайне мала [Gudkov et al., 2012]. В качестве источника света обычно используются лазерные установки, позволяющие излучать монохроматичный свет высокой интенсивности. Основными преимуществами ФДТ являются избирательность действия и хорошая переносимость организмом человека. Благодаря этим преимуществам и прогрессу, достигнутому в физике [Banerjee et al., 2016] ФДТ каждый год применяется для лечения все новых и новых заболеваний. Сегодня фотодинамическая терапия приме-

няется в гнойной хирургии, в эндокринологии, в ортопедии, в офтальмологии, в оториноларингологии, папилломавирусной инфекции, первичном и рецидивном раке кожи, при раннем центральном раке легкого, при стенозирующих злокачественных новообразованиях дыхательных путей, при первичном и метастатическом поражении плевры, при раннем раке пищевода и желудка, при метастатическом поражении брюшины, при поверхностном раке мочевого пузыря, при раннем раке шейки матки, при интраэпителиальных неоплазиях и начальном раке вульвы [Filonenko, Serova, 2016].

В настоящее время активно развивается течение альтернативное фотодинамической терапии – светоопосредованная терапия и диагностика. Метод основан на применении светочувствительных лекарственных препаратов, состоящих из молекулы действующего вещества и молекулы переносчика. Функция молекулы переносчика избирательно накапливаться в высокопролиферативных тканях, функция действующего вещества может быть любая. Находясь в комплексе с молекулой переносчиком, действующее вещество является не активным. Молекулы переносчика устроены таким образом, что при возбуждении их видимым светом они высвобождают действующее вещество, которое тут же становится активным. В настоящее время для светоопосредованной терапии в качестве молекул переносчиков используют производные кобаламина (витамина В₁₂) [Shell, Lawrence, 2015] и тритиокарбоната [McKenzie et al., 2015]. Вещества группы витамина В₁₂ наиболее удобны, поскольку связь между аксиальным заместителем и кобальтом является довольно слабой (<30 ккал/моль). Видимый свет в диапазоне 330–560 нм возбуждает коринное кольцо (аналог тетропорфиринового кольца) и вызывает разрыв связи с аксиальным заместителем. В качестве такого заместителя могут быть противоопухолевые препараты, флуорофоры и т.д. С помощью одних можно проводить терапию, с помощью других диагностику.

Кроме гетероароматических структур в светоопосредованной терапии используют комплексные соединения некоторых переходных металлов, таких как рутений (Ru) (Fry, Mascharak, 2011). Удачным фототерапевтическим агентом оказался $[\text{Ru}(\text{tpy})(5\text{CNU})_3]^{2+}$, который высвобождает при действии света 5-цианоуридин (5CNU), который ингибирует синтез пиримидиновых нуклеозидов и репликацию ДНК [Sgambellone et al., 2013]. Не менее удачными оказались комплексы рутения с полипиридилом [Howerton et al., 2012].

Кроме низкомолекулярных молекул переносчиков в светоопосредованной терапии предполагается применения различных типов функционализированных наноструктур [Griepenburg et al., 2015]. Ярким примером является использование в качестве переносчиков в светоопосредованной терапии двухслойный нанотрубок из TiO_2 . Триггером запускающимся от видимого света являются гидрофобные «колпачки» на концах нанотрубки, представляющие собой наночастицы золота. Данные трубки можно снарядить любым препаратом, заткнуть концы, а потом высвободить в нужном месте [Jia et al., 2015]. Есть удачные примеры создания наночастиц для светоопосредованной терапии с применением плазмонного резонанса [Luo et al., 2011].

Оптические методы активно используются не только в медицине, но и в сельском хозяйстве [Belov et al., 2012]. Более того, по изменению уровней флуоресценции листьев, стебля, накоплению определенных металлов можно эффективно диагностировать большое количество фитопатогенных организмов [Glinushkin et al., 2010]. Фототерапия, применяемая для лечения людей, вполне возможна и для лечения растений, известны работы, в которых уже сейчас применяются оптические методы лечения растений. Патологическое состояние растений, причиной которых стали возбудители фунгальной, бактериальной природы, в настоящее время вполне могут контролироваться оптическими воздействиями [Bornstein et al., 2009]. В последние десятилетия проблема контроля встает достаточно остро, так как стремительно растет число ивazий (Seraya et al., 2015) и ранее неопределяемых нозологий [Glinushkin et al., 2016].

Таким образом, оптические методы диагностики и терапии интенсивно применяются в медицине. Сегодня силы исследователей направлены на создание технологий, совмещающих вместе способность к диагностике и терапии. Данный подход получил название терагностики – подход, заключающийся в комплексном решении терапевтических и диагностических проблем путем создания препаратов (в том числе для безопасных типов продукции) [Semenov et al., 2016], которые являются одновременно и терапевтическим агентом, и средством ранней диагностики [Gudkov et al., 2016]. Современный уровень медицины еще не реализовал все богатство методического арсенала физики, химии и биологии, хотя для некоторых задач уже необходимо новые идеи и подходы. В ветеринарии и растениеводстве необходимо активно переносить методы диагностики и терапии из медицины, а также разрабатывать новые методы, учитывающие специфику этих направлений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наука часто развивается конвергентным способом. Многие идеи витают в воздухе и в итоге реализуются в одно и то же время, в разных научных коллективах, независимо друг от друга. Зачастую приоритет многих научных открытий приписывается иностранным ученым. В ряде случаев это не безосновательно, однако, в области радиационной биофизики и радиационной биологии это не так. Многие фундаментальные основы радиационной биофизики и биологии заложены трудами выдающихся отечественных ученых. Ниже я бы хотел упомянуть некоторых из них, а также кратко изложить их достижения.

Николай Владимирович Тимофеев-Ресовский (1900–1981 гг.) – биолог, генетик. Участвовал в создании первой биофизической модели структуры гена, предложил возможные способы его изменения, участвовал в определении «физического размера гена». Впервые высказал идею о том, что ионизирующее излучение не только вызывает лучевую болезнь, но и приводит к изменениям наследственного аппарата, которые могут проявиться у отдалённого потомства.

Александр Михайлович Кузин (1906–1999 гг.) – биофизик и радиобиолог. Основные труды по биохимии и молекулярным основам действия ионизирующих излучений на живые организмы, в частности радиационного поражения клетки. Открыл образование ингибиторов роста в облученных тканях растений. Автор структурно-метаболической теории в радиобиологии. Открыл ряд новых эффектов, связанных с гормезисом у растений.

Борис Николаевич Тарусов (1900–1977 гг.) – биофизик и радиобиолог. Установил связь между радиочувствительностью тканей и содержанием в них природных антиоксидантов. Материалы по исследованию действия ионизирующей радиации были изложены в двух монографиях «Основы биологического действия радиоактивных излучений» и «Первичные процессы лучевого поражения».

Георгий Артемьевич Зедгенидзе (1902–1994 гг.) – рентгенолог, радиолог, радиобиолог. Извесен по изучению функциональных и анатомических изменений, возникающих при лучевой болезни и местных радиационных поражениях. Участвовал в разработке рентгеноконтрастных и радиоизотопных методов диагностики и совершенствовании методов лучевой терапии онкологических больных. Является одним из основоположников рентгеновской томографии.

Николай Петрович Дубинин (1906–1998 гг.) – генетик, радиобиолог. Работал в области космической генетики и над проблемами радиационной генетики.

Николай Викторович Лучник (1922–1993 гг.) – основатель отдела радиационной биофизики в Институте медицинской радиологии АМН СССР в Обнинске. Идейный основоположник лучевой терапии, которая применяется до сих пор для лечения злокачественных опухолей.

Владимир Иванович Корогодин (1929–2005 гг.) – радиобиолог, эволюционист. Открыл феномен репарации ДНК. Участвовал в развитии представлений о каскадном мутагенезе и хромосомной нестабильности клеток. Автор функциональной концепции мутагенеза.

Лазарь Хаимович Эйбус (1920–2009 гг.) – физик, биофизик, радиобиолог. Автор основополагающих монографий «Кислород в радиобиологии», «Физико-химические основы радиобиологических процессов и защиты от излучений» и «Неспецифическая реакция клеток и радиочувствительность».

Самуил Петрович Ярмоненко (1920–2011 гг.) – радиолог. Знаменит исследованиями по воздействию радиации на биологические объекты. Разработчик ряда протоколов для лучевого лечения опухолей. Автор самого популярного в стране учебника по радиобиологии.

Анатолий Фёдорович Цыб (1934–2013 гг.) – радиолог, радиобиолог. Автор фундаментальных монографий «Ликвидаторы Чернобыльской катастрофы: радиационно-эпидемиологический анализ медицинских последствий» и «Медицинские радиологические последствия Чернобыля для населения России: Оценка радиационных рисков».

Александр Васильевич Севанькаев (1936–2017 гг.) – радиобиолог. Известен своими работами по воздействию ионизирующей радиации на вестибулярный аппарат. Один из основоположников радиационной цитогенетики в стране.

Александр Семенович Саенко (1936–2014 гг.) – радиобиолог, биохимик. Внес вклад в изучение процессов повреждения и репарации ДНК, а также «дерепрессии генов в облучённых клетках».

Нужно отметить, что радиационная биофизика до сих пор является довольно сильной научной дисциплиной в нашей стране. Дисциплиной занимаются сотни научных сотрудников с довольно высокой квалификацией. Среди ныне живущих исследователей хотелось бы отметить серьезный вклад следующих отечественных радиационных биофизиков и радиобиологов (Заранее извиняюсь перед теми, кого запомнил упомянуть): Ю.Б. Кудряшов (радиационная биофизика), В.И. Брусков (по-

вреждения биомолекул), М.В. Васин (радиационная защита), В.Г. Петин (синергические эффекты радиации), А.Н. Гребенюк (радиозащита), И.К. Коломийцева (молекулярная радиобиология), А.В. Аклев (клеточная радиобиология), Е.А. Красавин (медицинская радиобиология), А.А. Москалёв (молекулярная радиобиология), А.В. Масленникова (сочетанное действие излучений), Ю.К. Корыстов (редокс сигнализация при радиационных повреждениях), А.Ф. Кожокару (радиозащита), В.И. Новоселов (радиозащита), М.Г. Шарапов (радиозащита), С.И. Заичкина (радиационная цитогенетика), А.И. Газиев (радиационно-индуцированная внеклеточная ДНК, межклеточная сигнализация), В.Г. Артохов (радиобиология), С.А. Гераськин (радиоэкология), П.Ю. Волкова (радиоэкология), Н.И. Санжарова (радиоэкология), И.Б. Ушаков (радиозащита), И.С. Драчёв (радиозащита), А.В. Шафиркин (космическая радиобиология), Б.С. Федоренко (корпускулярные излучения), А.А. Иванов (корпускулярные излучения), И.А. Замулаева (радиационная биохимия), Л.П. Жаворонков (неионизирующая радиация), В.Н. Бинги (неионизирующая радиация), А.Б. Гапеев (неионизирующая радиация), С.Ю. Перов (неионизирующая радиация), Г.Д. Засухина (радиационная генетика), А.Н. Котеров (радиозащита), С.Г. Андреев (радиационная биофизика ДНК и хроматина), В.Ю. Нугис (радиационная гематология), А.Н. Осипов (молекулярная радиобиология), Л.М. Рождественский (радиозащита) и многие другие.

Также хочу упомянуть всех, кто помогал мне работать над учебным пособием, делился важной информацией и ссылками на литературу, участвовал в обсуждении написанного, критиковал и оппонировал: М.Г. Шарапов (ИБК РАН, г. Пущино), В.И. Брусков (ИТЭБ РАН, г. Пущино), В.И. Новоселов (ИБК РАН, г. Пущино), В.З. Ланкин (НМИЦ кардиологии, г. Москва), В.А. Воденеев (ИББМ ННГУ, г. Нижний Новгород), Н.Ю. Шилягина (ИББМ ННГУ, г. Нижний Новгород), А.В. Звягин (Сеченовский Университет, г. Москва), М.А. Гринберг (ИББМ ННГУ, г. Нижний Новгород), В.С. Сухов (ИББМ ННГУ, г. Нижний Новгород), А.В. Черников (ИТЭБ РАН, г. Пущино), С.Н. Андреев (МПГУ, г. Москва), Е.В. Бармина (ИОФ РАН, г. Москва), Н.Р. Попова (ИТЭБ РАН, г. Пущино), Н.Ф. Бункин (МГТУ, г. Москва), Б.Б. Картабаева (ВНИИФ, п. Большие Вяземы), А.П. Несват (ОГАУ, г. Оренбург), Е.В. Степанов (ИОФ РАН, г. Москва), А.П. Глинушкин (ВНИИФ, п. Большие Вяземы), Д.Е. Бурмистров (ИОФ РАН, г. Москва).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Введение

1. Blokhina, O., Virolainen, E., Fagerstedt, K.V., 2003. Antioxidants, Oxidative Damage and Oxygen Deprivation Stress: A Review. *Ann Bot.* 91 Spec No, 179-194.
2. Bruskov, V.I., Karp, O.E., Garmash, S.A., Shtarkman, I.N., Chernikov, A.V., Gudkov, S.V., 2012. Prolongation of Oxidative Stress by Long-Lived Reactive Protein Species Induced by X-Ray Radiation and Their Genotoxic Action. *Free Radic Res.* 46, 1280-1290. doi: 10.3109/10715762.2012.709316.
3. Chernikov, A.V., Gudkov, S.V., Usacheva, A.M., Bruskov, V.I., 2017. Exogenous 8-Oxo-7,8-Dihydro-2'-Deoxyguanosine: Biomedical Properties, Mechanisms of Action, and Therapeutic Potential. *Biochemistry (Mosc).* 82, 1686-1701. doi: 10.1134/s0006297917130089.
4. Cooke, M.S., Evans, M.D., Dizdaroglu, M., Lunec, J., 2003. Oxidative DNA Damage: Mechanisms, Mutation, and Disease. *Faseb j.* 17, 1195-1214. doi: 10.1096/fj.02-0752rev.
5. Culligan, K.M., Robertson, C.E., Foreman, J., Doerner, P., Britt, A.B., 2006. Atr and Atm Play Both Distinct and Additive Roles in Response to Ionizing Radiation. *Plant J.* 48, 947-961. doi: 10.1111/j.1365-313X.2006.02931.x.
6. Czarnocka, W., Karpinski, S., 2018. Friend or Foe? Reactive Oxygen Species Production, Scavenging and Signaling in Plant Response to Environmental Stresses. *Free Radic Biol Med.* 10.1016/j.freeradbiomed.2018.01.011doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.01.011.
7. Davies, M.J., 2005. The Oxidative Environment and Protein Damage. *Biochim Biophys Acta.* 1703, 93-109. doi: 10.1016/j.bbapap.2004.08.007.
8. Dietz, K.J., 2014. Redox Regulation of Transcription Factors in Plant Stress Acclimation and Development. *Antioxid Redox Signal.* 21, 1356-1372. doi: 10.1089/ars.2013.5672.
9. Esnault, M.-A., Legue, F., Chenal, C., 2010. Ionizing Radiation: Advances in Plant Response. *Environ Exp Bot.* 68, 231-237. doi: 10.1016/j.envexpbot.2010.01.007.
10. Gapeyev, A., Lukyanova, N., Gudkov, S., 2014. Hydrogen Peroxide Induced by Modulated Electromagnetic Radiation Protects the Cells from DNA Damage. *Cent Eur J Biol.* 9, doi: 10.2478/s11535-014-0326-x.
11. Ge, J., Lan, M., Zhou, B., Liu, W., Guo, L., Wang, H., Jia, Q., Niu, G., Huang, X., Zhou, H., Meng, X., Wang, P., Lee, C.S., Zhang, W., Han, X., 2014. A Graphene Quantum Dot Photodynamic Therapy

Agent with High Singlet Oxygen Generation. *Nat Commun.* 5, 4596. doi: 10.1038/ncomms5596.

12. Gudkov, S.V., Chernikov, A., Bruskov, V., 2016. Chemical and Radiological Toxicity of Uranium Compounds (Review). *Russ J Gen Chem.* 86, 1531-1538. doi: 10.1134/S1070363216060517.

13. Kreslavskii, V., Los, D., Allakhverdiev, S., Kuznetsov, V., 2012. Signaling Role of Reactive Oxygen Species in Plants under Stress. *Russ J Plant Physl.* 59, 141–154. doi: 10.1134/S1021443712020057.

14. Miller, G., Schlauch, K., Tam, R., Cortes, D., Torres, M.A., Shulaev, V., Dangl, J.L., Mittler, R., 2009. The Plant Nadph Oxidase RbohD Mediates Rapid Systemic Signaling in Response to Diverse Stimuli. *Sci Signal.* 2, ra45. doi: 10.1126/scisignal.2000448.

15. Miret, J.A., Munne-Bosch, S., 2015. Redox Signaling and Stress Tolerance in Plants: A Focus on Vitamin E. *Ann N Y Acad Sci.* 1340, 29-38. doi: 10.1111/nyas.12639.

16. Mittler, R., 2017. Ros Are Good. *Trends Plant Sci.* 22, 11-19. doi: 10.1016/j.tplants.2016.08.002.

17. Sankaranarayanan, K., 2001. Estimation of the Hereditary Risks of Exposure to Ionizing Radiation: History, Current Status, and Emerging Perspectives. *Health Phys.* 80, 363-369.

18. Shabala, S., White, R., Djordjevic, M., Ruan, Y.-l., Mathesius, U., 2015. Root-to-Shoot Signalling: Integration of Diverse Molecules, Pathways and Functions. *Funct Plant Biol.* 43, doi: 10.1071/FP15252.

19. Sharapov, M.G., Novoselov, V.I., Fesenko, E.E., Bruskov, V.I., Gudkov, S.V., 2017. The Role of Peroxiredoxin 6 in Neutralization of X-Ray Mediated Oxidative Stress: Effects on Gene Expression, Preservation of Radiosensitive Tissues and Postradiation Survival of Animals. *Free Radic Res.* 51, 148-166. doi: 10.1080/10715762.2017.1289377.

20. Sharapov, M. G., Gudkov, S. V., Lankin, V. Z., & Novoselov, V. I., 2021. Role of Glutathione Peroxidases and Peroxiredoxins in Free Radical-Induced Pathologies. *Biochemistry (Moscow).* 86. 11, 1418-1433.

21. Ward, J.F., 1988. DNA Damage Produced by Ionizing Radiation in Mammalian Cells: Identities, Mechanisms of Formation, and Reparability. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol.* 35, 95-125.

22. Waszczak, C., Carmody, M., Kangasjarvi, J., 2018. Reactive Oxygen Species in Plant Signaling. *Annu Rev Plant Biol.* 69, 209-236. doi: 10.1146/annurev-arplant-042817-040322.

Раздел 1. АФК, свободные радикалы и окислительный стресс

1. Меньщикова, Е.Б., Ланкин, В.З., Зенков, Н.К., Бондарь, И.А., Круговых, Н.Ф., 2006. Труфакин, В.А. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты. 556.
2. Hernansanz-Agustín, P., Enríquez, J.A., 2021. Generation of Reactive Oxygen Species by Mitochondria. *Antioxidants*. Basel. 10. 3, 1–18.
3. McCord, J.M., 2000. The evolution of free radicals and oxidative stress. *Am. J. Med.*, 108. 8, 652–659.
4. Brand, M.D. 2016. Mitochondrial generation of superoxide and hydrogen peroxide as the source of mitochondrial redox signaling. *Free Radic. Biol. Med.*, 100, 14–31.
5. Crapo, J.D., and Tierney, D.F., 1974. Superoxide dismutase and pulmonary oxygen toxicity. *Am. J. Physiol.* 226. 6, 1401–1407.
6. Di Meo, S., Reed, T.T., Venditti, P., and Victor, V.M., 2016. Role of ROS and RNS Sources in Physiological and Pathological Conditions. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2016.
7. Halliwell, B., 2020. Reflections of an aging free radical. *Free Radic. Biol. Med.*, 161, 234–245.
8. Schöneich, C., 2019. Thiyl radical reactions in the chemical degradation of pharmaceutical proteins. *Molecules*. 24, 23.
9. Bruskov, V.I., Karp, O.E., Garmash, S.A., Shtarkman, I.N., Chernikov, A. V., and Gudkov, S. V., 2012. Prolongation of oxidative stress by long-lived reactive protein species induced by X-ray radiation and their genotoxic action. *Free Radic. Res.* 46. 10, 1280–1290.
10. Soodaeva, S.K., Klimanov, I.A., and Nikitina, L.Y., 2017. Nitrosative and oxidative stresses in respiratory diseases. *Pulmonologiya*. 27. 2, 262–273.
11. Владимиров, Ю.А., Проскурнина, Е.В., 2009. Свободные радикалы и Клеточная хемилюминесценция. *Успехи биологической химии*. 49, 341–388.
12. Sies, H., and Jones, D.P., 2020. Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*
13. Kohlgrüber, S., Upadhye, A., Dyballa-Rukes, N., McNamara, C.A., and Altschmied, J., 2017. Regulation of Transcription Factors by Reactive Oxygen Species and Nitric Oxide in Vascular Physiology and Pathology. *Antioxidants Redox Signal.* 26. 13, 679–699.
14. Hernández-García, D., Wood, C.D., Castro-Obregón, S., and Covarrubias, L., 2010. Reactive oxygen species: A radical role in development? *Free Radic. Biol. Med.* 49. 2, 130–143.

15. Cadet, J., and Davies, K.J.A., 2017. Oxidative DNA Damage & Repair: An Introduction. *Free Radic Biol Med.* 107, 2–12.
16. Chernikov, A. V., Gudkov, S. V., Usacheva, A.M., and Bruskov, V.I., 2017. Exogenous 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine: Biomedical properties, mechanisms of action, and therapeutic potential. *Biochem.* 82. 13, 1686–1701.
17. Poetsch, A.R., 2020. The genomics of oxidative DNA damage, repair, and resulting mutagenesis. *Comput. Struct. Biotechnol. J.* 18, 207–219.
18. Davies, M.J., 2016. Protein oxidation and peroxidation. *Biochem. J.* 473. 7, 805–825.
19. Kehm, R., Baldensperger, T., Raupbach, J., Höhn, A., 2021. Protein oxidation - Formation mechanisms, detection and relevance as biomarkers in human diseases. *Redox Biol.* 101901.
20. Ланкин, В.З., Шумаев, К.Б., Тихазе, А.К., Курганов, Б.И., 2017. Влияние Дикарбониллов На Кинетические Характеристики Глутатионпероксидазы, “Доклады Академии Наук.” Доклады Академии Наук. 6, 706–709.

Раздел 2. Антиоксиданты

1. Balsera, M., and Buchanan, B.B., 2019. Evolution of the thioredoxin system as a step enabling adaptation to oxidative stress. *Free Radic. Biol. Med.* 140, 28–35.
2. Bondareva, A.A., Capecchi, M.R., Iverson, S. V., Li, Y., Lopez, N.I., Lucas, O., Merrill, G.F., Prigge, J.R., Siders, A.M., Wakamiya, M., Wallin, S.L., and Schmidt, E.E., 2007. Effects of thioredoxin reductase-1 deletion on embryogenesis and transcriptome. *Free Radic. Biol. Med.* 43. 6, 911–923.
3. Braakman, R., 2019. Evolution of cellular metabolism and the rise of a globally productive biosphere. *Free Radic. Biol. Med.* 140, 172–187
4. Brigelius-Flohé, R., and Maiorino, M., 2013. Glutathione peroxidases. *Biochim. Biophys. Acta - Gen. Subj.* 1830. 5, 3289–3303.
5. Budanov, A. V., Sablina, A.A., Feinstein, E., Koonin, E. V., and Chumakov, P.M., 2004. Regeneration of Peroxiredoxins by p53-Regulated Sestrins, Homologs of Bacterial AhpD. *Science* (80-.). 304, 596–600.
6. Calderon, R.H., García-Cerdán, J.G., Malnoë, A., Cook, R., Russell, J.J., Gaw, C., Dent, R.M., De Vitry, C., and Niyogi, K.K., 2013. A conserved rubredoxin is necessary for photosystem II accumulation in diverse oxygenic photoautotrophs. *J. Biol. Chem.* 288. 37, 26688–26696.
7. Chabory, E., Damon, C., Lenoir, A., Kauselmann, G., Kern, H., Zevnik, B., Garrel, C., Saez, F., Cadet, R., Henry-Berger, J., Schoor, M.,

Gottwald, U., Habenicht, U., Drevet, J.R., and Vernet, P., 2009. Epididymis seleno-independent glutathione peroxidase 5 maintains sperm DNA integrity in mice. *J. Clin. Invest.* 119. 7, 2074–2085.

8. Ding, H., Demple, B., 2000. Direct nitric oxide signal transduction via nitrosylation of iron-sulfur centers in the SoxR transcription activator. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 97. 10, 5146–5150.

9. Esworthy, R.S., Yang, L., Frankel, P.H., Chu, F.F., 2005. Epithelium-specific glutathione peroxidase, Gpx2, is involved in the prevention of intestinal inflammation in selenium-deficient mice. *J. Nutr.*, 135. 4, 740–745.

10. Fisher, A.B., 2011. Peroxiredoxin 6: a bifunctional enzyme with glutathione peroxidase and phospholipase A2 activities. *Antioxid. Redox Signal.* 15. 3, 831–844.

11. Fisher, A.B., Vasquez-Medina, J.P., Dodia, C., Sorokina, E.M., Tao, J.-Q., Feinstein, S.I., 2018. Peroxiredoxin 6 phospholipid hydroperoxidase activity in the repair of peroxidized cell membranes. *Redox Biol.* 14, 41–46.

12. Flohé, L., Toppo, S., Cozza, G., Ursini, F., 2011. A Comparison of Thiol Peroxidase Mechanisms. *Antioxid. Redox Signal.* 15. 3, 763–780.

13. Gladyshev, V.N., Kryukov, G. V., Fomenko, D.E., Hatfield, D.L., 2004. Identification of trace element-containing proteins in genomic databases. *Annu. Rev. Nutr.* 24, 579–596.

14. Ingles-Prieto, A., Ibarra-Molero, B., Delgado-Delgado, A., Perez-Jimenez, R., Fernandez, J.M., Gaucher, E.A., Sanchez-Ruiz, J.M., and Gavira, J.A., 2013. Conservation of protein structure over four billion years. *Structure*, 21. 9, 1690–1697.

15. Jiao, Y., Wang, Y., Guo, S., and Wang, G., 2017. Glutathione peroxidases as oncotargets. *Oncotarget.* 8. 45, 80093–80102.

16. Johansson, L., Gafvelin, G., and Arnér, E.S.J., 2005. Selenocysteine in proteins - Properties and biotechnological use. *Biochim. Biophys. Acta - Gen. Subj.* 1726. 1, 1–13.

17. Kim, H., An, S., Ro, S.H., Teixeira, F., Jin Park, G., Kim, C., Cho, C.S., Kim, J.S., Jakob, U., Lee, J.H., and Cho, U.S. (2015) Janus-faced Sestrin2 controls ROS and mTOR signalling through two separate functional domains. *Nat. Commun.*, 6, 1–11.

18. Knoop, B., Becker, S., Poncin, M.A., Glibert, J., Derclaye, S., Clippe, A., and Alsteens, D., 2018. Specific Interactions Measured by AFM on Living Cells between Peroxiredoxin-5 and TLR4: Relevance for Mechanisms of Innate Immunity. *Cell Chem. Biol.* 25. 5, 550-559.e3.

19. Labunskyy, V.M., Hatfield, D.L., and Gladyshev, V.N., 2014. Selenoproteins: Molecular pathways and physiological roles. *Physiol. Rev.* 94. 3, 739–777.

20. Lee, Y.J., 2020. Knockout Mouse Models for Peroxiredoxins. *Antioxidants*. 9. 2, 182.
21. Lu, J., and Holmgren, A., 2014. The thioredoxin antioxidant system. *Free Radic. Biol. Med.* 66, 75–87.
22. Lu, L., Oveson, B.C., Jo, Y.J., Lauer, T.W., Usui, S., Komeima, K., Xie, B., Campochiaro, P.A., 2009. Increased expression of glutathione peroxidase 4 strongly protects retina from oxidative damage. *Antioxidants Redox Signal*. 11. 4, 715–724.
23. Lubos, E., Loscalzo, J., and Handy, D.E., 2011. Glutathione peroxidase-1 in health and disease: From molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antioxidants Redox Signal*. 15. 7, 1957–1997.
24. Mariotti, M., Ridge, P.G., Zhang, Y., Lobanov, A. V., Pringle, T.H., Guigo, R., Hatfield, D.L., and Gladyshev, V.N., 2012. Composition and evolution of the vertebrate and mammalian selenoproteomes. *PLoS One* 7, 3.
25. McCord, J.M., 2000. The evolution of free radicals and oxidative stress. *Am. J. Med.* 108. 8, 652–659.
26. Miller, A.F., 2012. Superoxide dismutases: Ancient enzymes and new insights. *FEBS Lett.* 586. 5, 585–595.
27. Modi, T., Huihui, J., Ghosh, K., and Ozkan, S.B., 2018. Ancient thioredoxins evolved to modern day stability-function requirement by altering native state ensemble. *Philos Trans R Soc L. B Biol Sci.* 373, 20170184.
28. Nonn, L., Williams, R.R., Erickson, R.P., and Powis, G., 2003. The Absence of Mitochondrial Thioredoxin 2 Causes Massive Apoptosis, Exencephaly, and Early Embryonic Lethality in Homozygous Mice. *Mol. Cell. Biol.* 23. 3, 916–922.
29. Olson, K.R., 2020. Reactive oxygen species or reactive sulfur species: Why we should consider the latter. *J. Exp. Biol.* 223. 4.
30. Pan, J.L., and Bardwell, J.C.A., 2006. The origami of thioredoxin-like folds. *Protein Sci.* 15. 10, 2217–2227.
31. Perkins, A., Nelson, K.J., Parsonage, D., Poole, L.B., and Karplus, P.A., 2015. Peroxiredoxins: guardians against oxidative stress and modulators of peroxide signaling. *Trends Biochem Sci.* 40. 8, 435–445.
32. Peskin, A. V, Low, F.M., Paton, L.N., Maghzal, G.J., Hampton, M.B., and Winterbourn, C.C., 2007. The high reactivity of peroxiredoxin 2 with H₂O₂ is not reflected in its reaction with other oxidants and thiol reagents. *J. Biol. Chem.* 282. 16, 11885–92.
33. Portillo-Ledesma, S., Randall, L.M., Parsonage, D., Dalla Rizza, J., Karplus, P.A., Poole, L.B., Denicola, A., and Ferrer-Sueta, G., 2018. Differential

Kinetics of Two-Cysteine Peroxiredoxin Disulfide Formation Reveal a Novel Model for Peroxide Sensing. *Biochemistry*. 57. 24, 3416–3424.

34. Radyuk, S.N., and Orr, W.C., 2018. The Multifaceted Impact of Peroxiredoxins on Aging and Disease. *Antioxidants Redox Signal*. 29. 13, 1293–1311.

35. Rhee, S.G., Kil, I.S., 2017. Multiple functions and regulation of mammalian peroxiredoxins. *Annu. Rev. Biochem.*, 86. 1, 1–27.

36. Rhee, S.G., Woo, H.A., and Kang, D., 2018. The Role of Peroxiredoxins in the Transduction of H₂O₂ Signals. *Antioxid. Redox Signal*. 28. 7, 537–557.

37. Schröder, E., and Eaton, P., 2008. Hydrogen peroxide as an endogenous mediator and exogenous tool in cardiovascular research: issues and considerations. *Curr. Opin. Pharmacol*. 8. 2, 153–9.

38. Sharapov, M.G., and Novoselov, V.I., 2019. Catalytic and Signaling Role of Peroxiredoxins in Carcinogenesis. *Biochem*. 84. 2, 79–100.

39. Sharapov, M. G., Gudkov, S. V., & Lankin, V. Z., 2021. Hydroperoxide-reducing enzymes in the regulation of free-radical processes. *Biochemistry (Moscow)*. 86. 10, 1256-1274.

40. Sharapov, M.G., Glushkova, O. V., Parfenyuk, S.B., Gudkov, S. V., Lunin, S.M., Novoselova, E.G., 2021. The role of TLR4/NF-κB signaling in the radioprotective effects of exogenous Prdx6. *Arch. Biochem. Biophys*. 702, 108830.

41. Sharapov, M.G., Ravin, V.K., and Novoselov, V.I., 2014. Peroxiredoxins as multifunctional enzymes. *Mol. Biol*. 48. 4, 520–545.

42. Toppo, S., Flohé, L., Ursini, F., Vanin, S., and Maiorino, M., 2009. Catalytic mechanisms and specificities of glutathione peroxidases: Variations of a basic scheme. *Biochim. Biophys. Acta - Gen. Subj.*, 1790. 11, 1486–1500.

43. Winterbourn, C.C., and Peskin, A. V., 2016. Kinetic Approaches to Measuring Peroxiredoxin Reactivity. *Mol. Cells*. 39. 1, 26–30.

44. Yang, W.S., Sriramaratnam, R., Welsch, M.E., Shimada, K., Skouta, R., Viswanathan, V.S., Cheah, J.H., Clemons, P.A., Shamji, A.F., Clish, C.B., Brown, L.M., Girotti, A.W., Cornish, V.W., Schreiber, S.L., and Stockwell, B.R., 2014. Regulation of ferroptotic cancer cell death by GPX4. *Cell*. 156. 1–2, 317–331.

45. Zorov, D.B., Juhaszova, M., and Sollott, S.J., 2014. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release. *Physiol. Rev*. 94. 3, 909–950.

46. Меньщикова, Е.Б., Ланкин, В.З., Зенков, Н.К., Бондарь, И.А., Круговых, Н.Ф., 2006. Труфакин, В.А. Окислительный стресс. Преокиданты и антиоксиданты. 556.

Раздел 3. Свободнорадикальные патологии

1. Aicardo, A., Martinez, D. M., Campolo, N., Bartesaghi, S., and Radi, R., 2016. Biochemistry of nitric oxide and peroxynitrite: sources, targets and biological implications, *Biochem. Oxid. Stress*, 4977. doi: 10.1007/9783319458656_5.

2. Altomare, A., Baron, G., Gianazza, E., Banfi, C., Carini, M., and Aldini, G., 2021. Lipid peroxidation derived reactive carbonyl species in free and conjugated forms as an index of lipid peroxidation: limits and perspectives. *Redox Biol.*, 42, 101899. doi: 10.1016/j.redox.2021.101899.

3. An, J. H., Seong, J. S., Proteomics, R., and Radiosusceptibility, A., 2006. Proteomics analysis of apoptosisregulating proteins in tissues with different radiosensitivity. *J. Radiat. Res.* 47, 147155. doi: 10.1269/jrr.47.147.

4. Anderson, M. M., Hazen, S. L., Hsu, F. F., Heinecke, J. W., 1997. Human neutrophils employ the myeloperoxidase hydrogen peroxidechloride system to convert hydroxyl amino acids into glycolaldehyde, 2hydroxypropanal, and acrolein: a mechanism for the generation of highly reactive α hydroxy and α,β unsaturated aldehydes by phagocytes at sites of inflammation. *J. Clin. Invest.*, 99, 424432. doi: 10.1172/JCI119176

5. Augusto, O., Bonini, M. G., Amanso, A. M., Linares, E., Santos, C. C. X., and De Menezes, S. L., 2002. Nitrogen dioxide and carbonate radical anion: two emerging radicals in biology. *Free Radic. Biol. Med.* 32, 841859. doi: 10.1016/s08915849(02)007864.

6. Bernheim, F., 1963. Biochemical implications of prooxidants and antioxidants. *Radiat. Res. Suppl.* 3, 1732.

7. Borrelli, A., Schiattarella, A., Mancini, R., Morrica, B., Cerciello, V., et al., 2009. A recombinant MnSOD is radioprotective for normal cells and radiosensitizing for tumor cells. *Free Radic. Biol. Med.* 46, 110116. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2008.

8. Burillo, E., Jorge, I., MartinezLópez, D., Camafeita, E., BlancoColio, L. M., et al., 2016. Quantitative HDL proteomics identifies peroxiredoxin 6 as a biomarker of human abdominal aortic aneurysm. *Sci. Rep.* 6, 38477. doi: 10.1038/srep38477.

9. Cataldi, S., Borrelli, A., Ceccarini, M. R., Nakashidze, I., Codini, M., et al., 2019. Neutral sphingomyelinase modulation in the protective/ preven-

tive role of rMnSOD from radiation-induced damage in the brain. *Int. J. Mol. Sci.* 20, 5431. doi: 10.3390/ijms20215431.

10. Cerda, M.B., Lloyd, R., Batalla, M., Giannoni, F., Casal, M., and Policastro, L., 2017. Silencing peroxiredoxin 2 sensitizes human colorectal cancer cells to ionizing radiation and oxaliplatin. *Cancer Lett.* 388, 312319. doi: 10.1016/j.canlet.2016.12.009.

11. Chen, M.F., Keng, P. C., Shau, H., Wu, C.T., Hu, Y.C., et al., 2006. Inhibition of lung tumor growth and augmentation of radiosensitivity by decreasing peroxiredoxin I expression. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 64, 581591. doi: 10.1016/j.ijrobp.2005.10.012.

12. Chhunchha, B., Kubo, E., Kompella, U. B., and Singh, D. P., 2021. Engineered sumoylation-deficient prdx6 mutant protein-loaded nanoparticles provide increased cellular defense and prevent lens opacity. *Antioxidants (Basel)*. 10, 1245. doi: 10.3390/antiox10081245.

13. Chistiakov, D. A., Orekhov, A. N., and Bobryshev, Y. V., 2016. LOX1 mediated effects on vascular cells in atherosclerosis. *Cell. Physiol. Biochem.* 38, 18511859. doi: 10.1159/000443123.

14. Diamond, A. M., Murray, J. L., Dale, P., Tritz, R., Sandstrom, P. A., and Grdina, D. J., 1995. Effects of selenium on glutathione peroxidase activity and radioprotection in mammalian cells, *Radiat. Oncol. Invest.* 3, 383386.

15. Ding, Y., Yamada, S., Wang, K. Y., Shimajiri, S., Guo, X., et al., 2010. Overexpression of peroxiredoxin 4 protects against high-dose streptozotocin-induced diabetes by suppressing oxidative stress and cytokines in transgenic mice. *Antioxidants Redox Signal.* 13, 14771490. doi: 10.1089/ars.2010.3137.

16. Dong, S., Lyu, X., Yuan, S., Wang, S., Li, W., et al., 2020. Oxidative stress: a critical hint in ionizing radiation induced pyroptosis. *Radiat. Med. Prot.* 1, 179185. doi: 10.1016/j.radmp.2020.10.001.

17. Forman, H. J., and Zhang, H., 2021. Targeting oxidative stress in disease: promise and limitations of antioxidant therapy, *Nat. Rev. Drug Discov.* 20, 689709. doi: 10.1038/s41573021002331.

18. Gerschman, R., Gilbert, D. L., Nye, S. W., Dwyer, P., and Fenn, W. O., 1954. Oxygen poisoning and X-irradiation: a mechanism in common, *Science*. 119, 623626. doi: 10.1126/science.119.3097.623.

19. Gil, D., Rodriguez, J., Ward, B., Vertegel, A., Ivanov, V., and Reukov, V., 2017. Antioxidant activity of SOD and catalase conjugated with nanocrystalline ceria. *Bioengineering (Basel)*. 4, 18. doi: 10.3390/bioengineering4010018.

20. Goncharov, R.G., Rogov, K.A., Temnov, A.A., Novoselov, V.I., and Sharapov, M.G., 2019. Protective role of exogenous recombinant peroxiredoxin 6 under ischemiareperfusion injury of kidney. *Cell Tissue Res.* 378, 319332. doi: 10.1007/s0044101903073z.
21. Guan, T., Song, J., Wang, Y., Guo, L., Yuan, L., et al., 2017. Expression and characterization of recombinant bifunctional enzymes with glutathione peroxidase and superoxide dismutase activities. *Free Radic. Biol. Med.* 110, 188195. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2017.06.005.
22. Gudkov, S.V., Popova, N.R., and Bruskov, V.I., 2015. Radioprotective substances: history, trends and prospects, *Biophysics.* 60, 659667. doi: 10.1134/S0006350915040120.
23. Gupta, D., Harish, B., Kissner, R., and Koppenol, W. H., 2009. Peroxynitrate is formed rapidly during decomposition of peroxynitrite at neutral pH. *Dalt. Trans.*, 29, 57305736. doi: 10.1039/b905535e.
24. Guryev, E.L., Volodina, N.O., Shilyagina, N.Y., Gudkov, S.V., Balalaeva, I.V., et al., 2018. Radioactive (⁹⁰Y) upconversion nanoparticles conjugated with recombinant targeted toxin for synergistic nanotheranostics of cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 115, 96909695. doi: 10.1073/pnas.1809258115.
25. Ho, J.N., Lee, S.B., Lee, S.S., Yoon, S.H., Kang, G.Y., et al., 2010. Phospholipase A2 activity of peroxiredoxin 6 promotes invasion and metastasis of lung cancer cells. *Mol. Cancer Ther.* 9, 825832. doi: 10.1158/15357163.MCT090904.
26. Huang, J.Q., Zhou, J.C., Wu, Y.Y., Ren, F.Z., and Lei, X.G., 2018. Role of glutathione peroxidase 1 in glucose and lipid metabolism-related diseases. *Free Radic. Biol. Med.* 127, 108115. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.05.077.
27. IhidaStansbury, K., Ames, J., Chokshi, M., Aiad, N., Sanyal, S., et al., 2015. Role played by Prxl-dependent extracellular matrix properties in vascular smooth muscle development in embryonic lungs. *Pulm. Circ.*, 5, 382397. doi: 10.1086/681272.
28. IsarankuraNaAyudhya, C., Yainoy, S., Tantimongcolwat, T., Bülow, L., and Prachayasittikul, V., 2010. Engineering of a novel chimera of superoxide dismutase and Vitreoscilla Hemoglobin for rapid detoxification of reactive oxygen species. *J. Biosci. Bioeng.* 110, 633637. doi: 10.1016/j.jbiosc.2010.07.001.
29. Jeong, S.J., Park, J.G., and Oh, G.T., 2021. Peroxiredoxins as potential targets for cardiovascular disease. *Antioxidants (Basel).* 10, 1244. doi: 10.3390/antiox10081244.

30. Jia, W., Chen, P., and Cheng, Y., 2019. PRDX4 and its roles in various cancers. *Technol. Cancer Res. Treat.* 18, 1533033819864313. doi: 10.1177/1533033819864313.
31. Jiao, Y., Wang, Y., Guo, S., and Wang, G., 2017. Glutathione peroxidases as oncotargets, *Oncotarget.* 8, 8009380102. doi: 10.18632/oncotarget.20278.
32. Karaduleva, E.V., Mubarakshina, E.K., Sharapov, M.G., Volkova, A.E., Pimenov, O.Y., et al., 2016. Cardioprotective effect of modified peroxiredoxins in retrograde perfusion of isolated rat heart under conditions of oxidative stress. *Bull. Exp. Biol. Med.* 160, 639642, doi: 10.1007/s1051701632371.
33. Kisucka, J., Chauhan, A. K., Patten, I. S., Yesilaltay, A., Neumann, C., et al., 2008. Peroxiredoxin1 prevents excessive endothelial activation and early atherosclerosis. *Circ. Res.* 103, 598605. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.108.174870.
34. Koulajian, K., Ivovic, A., Ye, K., Desai, T., Shah, A., et al., 2013. Overexpression of glutathione peroxidase 4 prevents β cell dysfunction induced by prolonged elevation of lipids in vivo. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 305, 254262. doi: 10.1152/ajpendo.00481.2012.
35. Król, M., and Kepinska, M., 2020. Human nitric oxide syn thase – its functions, polymorphisms, and inhibitors in the context of inflammation, diabetes and cardiovascular diseases. *Int. J. Mol. Sci.*, 22, 56. doi: 10.3390/ijms22010056.
36. Lacramioara, L., Diaconu, A., Butnaru, M., and Verestiuc, L., 2016. Biocompatible SPIONs with superoxid dismutase/catalase immobilized for cardiovascular applications. *IFMBE Proc.* 55, 323326. doi: 10.1007/9789812877369_78.
37. Lankin, V. Z., and Tikhaze, A. K., 2016. Free radical processes play an important role in the etiology and patho genesis of atherosclerosis and diabetes, *Kardiologiia.* 56, 97105.
38. Lankin, V. Z., and Tikhaze, A. K., 2016. Role of oxidative stress in the genesis of atherosclerosis and diabetes mellitus: a personal look back on 50 years of research. *Curr. Aging Sci.* 10, 1825. doi: 10.2174/1874609809666160926142640.
39. Lankin, V.Z., Antonovsky, V.L., and Tikhaze, A.K., 2004. Regulation of free radical lipoperoxidation and organic peroxides metabolism during normal station and pathologies, in *Peroxides at the Beginning of the Third Millennium.* Nova Sci. Publ. 85111.

40. Lankin, V.Z., Konovalova, G.G., Tikhaze, A.K., Shumaev, K.B., Belova Kumskova, E.M., et al., 2016. Aldehyde inhibition of antioxidant enzymes in the blood of diabetic patients. *J. Diabetes.* 8, 398404. doi: 10.1111/17530407.12309.
41. Lankin, V.Z., Shadyro, O.I., Shumaev, K.B., Shumaev, K.B., Tikhaze, A.K., and Sladkova, A.A., 2019. Non enzymatic methylglyoxal formation from glucose metabolites and generation of superoxide anion radical during methylglyoxaldependent crosslinks reaction. *J. Antioxid. Act.* 1, 3345. doi: 10.14302/issn.24712140.jaa192997.
42. Lankin, V.Z., Sharapov, M.G., Goncharov, R.G., Tikhaze, A.K., and Novoselov, V.I., 2019. Natural dicarbonyls inhibit peroxidase activity of peroxiredoxins. *Dokl. Biochem. Biophys.* 485, 132134. doi: 10.1134/S1607672919020157.
43. Lankin, V.Z., Shumaev, K.B., Tikhaze, A.K., and Kurganov, B.I., 2017. Influence of dicarbonyls on kinetic characteristics of glutathione peroxidase. *Dokl. Biochem. Biophys.* 475, 287290. doi: 10.1134/S1607672917040123.
44. Lankin, V.Z., Tikhaze, A.K., 2003. Free Radicals, Nitric Oxide, and Inflammation: Molecular, Biochemical, and Clinical Aspects. IOS Press, NATO Science Series.
45. Lankin, V.Z., Tikhaze, A.K., and Kumskova, E.M., 2012. Macrophages actively accumulate malonyldialdehyde modified but not enzymatically oxidized low density lipoprotein. *Mol. Cell. Biochem.* 365, 9398. doi: 10.1007/s1101001212475.
46. Lankin, V.Z., Tikhaze, A.K., and Osis, Y.G., 2002. Modeling the cascade of enzymatic reactions in liposomes including successive free radical peroxidation, reduction, and hydrolysis of phospholipid polyenoic acyls for studying the effect of these processes on the structuraldynamic parameters of the membranes. *Biochemistry (Moscow).* 67, 566574. doi: 10.1023/a:1015502429453.
47. Lankin, V.Z., Tikhaze, A.K., Kapel'ko, V.I., Shepel'kova, G.S., Shumaev, K.B., et al., 2007. Mechanisms of oxidative modification of low density lipoproteins under conditions of oxidative and carbonyl stress. *Biochemistry (Moscow)*, 72, 10811090. doi: 10.1134/s0006297907100069.
48. Lankin, V.Z., Tikhaze, A.K., Konovalova, G.G., Odinkova, O.A., Doroshchuk, N.A., and Chazova, I.E., 2018. Oxidative and carbonyl stress as a factors of the modification of proteins and DNA destruction in diabetes. *Ter. Arkh.* 90, 4650. doi: 10.26442/terarkh20189010450.
49. Lankin, V.Z., Tikhaze, A.K., Kukharchuk, V.V., Konovalova, G.G., Pisarenko, O.I., et al., 2003. Antioxidants decreases the intensification of low

density lipoprotein in vivo peroxidation during therapy with statins. *Mol. Cell. Biochem.* 249, 129140.

50. Lankin, V., Konovalova, G., Tikhaze, A., Shumaev, K., Kumskova, E., and Viigimaa, M., 2014. The initiation of free radical peroxidation of lowdensity lipoproteins by glucose and its metabolite methylglyoxal: a common molecular mechanism of vascular wall injure in atherosclerosis and diabetes. *Mol. Cell. Biochem.* 395, 241252. doi: 10.1007/s1101001421312.

51. Lee, H.C., Kim, D.W., Jung, K.Y., Park, I.C., Park, M.J., et al., 2004. Increased expression of antioxidant enzymes in radioresistant variant from U251 human glioblastoma cell line. *Int. J. Mol. Med.* 13, 883887.

52. Lee, K., Park, J.S., Kim, Y.J., Soo Lee, Y., Sook Hwang, T., et al., 2002. Differential expression of Prx I and II in mouse testis and their upregulation by radiation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 296, 337342. doi: 10.1016/s0006291x(02)00801x.

53. Li, Z., Wang, F., Roy, S., Sen, C.K., and Guan, J., 2009. Injectable, highly flexible, and thermosensitive hydrogels capable of delivering superoxide dismutase. *Biomacromolecules.* 10, 33063316. doi: 10.1021/bm900900e.

54. Maksimenko, A.V., 2016. Widening and elaboration of consecutive research into therapeutic antioxidant enzyme derivatives. *Oxidative medicine and cellular longevity.* 2016, 3075695. doi: 10.1155/2016/3075695.

55. Mansur, D.B., Kataoka, Y., Grdina, D.J., Diamond, A.M., 2001. Radiosensitivity of mammalian cell lines engineered to overexpress cytosolic glutathione peroxidase. *Radiat. Res.* 155, 536542. doi: 10.1667/00337587(2001)155[0536:romcle]2.0.co;2.

56. Mao, G.D., Thomas, P.D., Lopaschuk, G.D., and Poznansky, M.J., 1993. Superoxide dismutase (SOD)catalase conjugates. Role of hydrogen peroxide and the Fenton reaction in SOD toxicity. *J. Biol. Chem.* 268, 416420.

57. Maruhashi, T., and Higashi, Y., 2021. Pathophysiological Association between diabetes mellitus and endothelial dysfunction. *Antioxidants (Basel).* 10, 1306. doi: 10.3390/antiox10081306.

58. Matsushima, S., Kinugawa, S., Ide, T., Matsusaka, H., Inoue, N., et al., 2006. Overexpression of glutathione peroxidase attenuates myocardial remodeling and preserves diastolic function in diabetic heart. *Am. J. Physiol. Hear. Circ. Physiol.* 291, 22372245. doi: 10.1152/ajpheart.00427.2006.

59. McCord, J.M., and Fridovich, I., 1969. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *J. Biol. Chem.* 244, 60496055, doi: 10.1016/S00219258(18)635045.

60. Menshchikova, E.B., Lankin, V.Z., Zenkov, N.K., Bondar, I.A., Krugovykh, N.F., and Trufakin, V.A., 2006. Oxidative Stress. ProOxidants and Antioxidants. Slovo.
61. Miura, Y., Kano, M., Yamada, M., Nishine, T., Urano, S., et al., 2007. Proteomic study on Xirradiationresponsive proteins and ageing: search for responsible proteins for radiation adaptive response. *J. Biochem.* 142, 145155. doi: 10.1093/jb/mvml18.
62. Mu, H., Sun, J., Li, L., Yin, J., Hu, N., et al., 2018. Ionizing radiation exposure: hazards, prevention, and biomarker screening, *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 25, 15294 15306. doi: 10.1007/s1135601820979.
63. Mushenkova, N.V., Bezsonov, E.E., Orekhova, V.A., Popkova, T.V., Starodubova, A.V., and Orekhov, A.N., 2021. Recognition of oxidized lipids by macrophages and its role in atherosclerosis development. *Biomedicines.* 9, 915. doi: 10.3390/biomedicines9080915.
64. Novoselov, V.I., Ravin, V.K., Sharapov, M.G., Sofin, A.D., Kukushkin, N.I., and Fesenko, E.E., 2011. Modified peroxiredoxins as prototypes of drugs with powerful antioxidant action. *Biophysics.* 56, 836842. doi: 10.1134/S0006350911050137.
65. Novoselova, E.G., Glushkova, O.V, Lunin, S.M., Khrenov, M.O., Parfenyuk, S.B., et al., 2020. Peroxiredoxin 6 attenuates alloxaninduced type 1 diabetes mellitus in mice and cytokineinduced cytotoxicity in RINm5F Beta cells. *J. Diabetes Res.* 2020, 7523892. doi: 10.1155/2020/7523892.
66. Novoselova, E.G., Glushkova, O.V., Parfenyuk, S.B., Khrenov, M.O., Lunin, S.M., et al., 2019. Protective effect of peroxiredoxin 6 against toxic effects of glucose and cytokines in pancreatic RINm5F β cells. *Biochemistry (Moscow).* 84, 637643. doi: 10.1134/S0006297919060063.
67. Oberley, L.W., 1988. Free radicals and diabetes. *Free Radic. Biol. Med.* 5, 113124. doi: 10.1016/08915849(88)900366.
68. Pacifici, F., Arriga, R., Sorice, G.P., Capuani, B., Scioli, M.G., et al., 2014. Peroxiredoxin 6, a novel player in the pathogenesis of diabetes. *Diabetes.* 63, 32103220. doi: 10.2337/db140144.
69. Park, J.G., Yoo, J.Y., Jeong, S.J., Choi, J.H., Lee, M. R., et al., 2011. Peroxiredoxin 2 deficiency exacerbates atherosclerosis in apolipoprotein Edeficient mice. *Circ. Res.* 109, 739749. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.111.245530.
70. Phaniendra, A., Jestadi, D.B., and Periyasamy, L., 2015. Free radicals: properties, sources, targets, and their imply cation in various diseases. *Ind. J. Clin. Biochem.*, 30, 1126. doi: 10.1007/s1229101404460.
71. Pisani, A., Sabbatini, M., Riccio, E., Rossano, R., Andreucci, M., et al., 2014. Effect of a recombinant man ganese superoxide dismutase on

prevention of contrast induced acute kidney injury. *Clin. Exp. Nephrol.* 18, 424431. doi: 10.1007/s1015701308282.

72. Radi, R., 2013. Peroxynitrite, a stealthy biological oxidant. *J. Biol. Chem.*, 288, 2646426472. doi: 10.1074/jbc.R113. 472936.

73. Sena, C.M., Pereira, A.M., and Seica, R., 2013. Endothelial dysfunction – a major mediator of diabetic vascular disease. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis.* 1832, 22162231. doi: 10.1016/j.bbadis.2013.08.006.

74. Sharapov, M.G., and Novoselov, V.I., 2019 Catalytic and signaling role of peroxiredoxins in carcinogenesis. *Biochemistry (Moscow)*. 84, 79100. doi: 10.1134/S0006297919020019.

75. Sharapov, M.G., Glushkova, O.V., Parfenyuk, S.B., Gudkov, S.V., Lunin, S.M., and Novoselova, E.G., 2021. The role of TLR4/NFκB signaling in the radioprotective effects of exogenous Prdx6. *Arch. Biochem. Biophys.* 702, 108830. doi: 10.1016/j.abb.2021.108830.

76. Sharapov, M.G., Goncharov, R.G., Gordeeva, A.E., Novoselov, V.I., Antonova, O.A., et al., 2016. Enzymatic antioxidant system of endotheliocytes. *Dokl. Biochem. Biophys.* 471, 410412. doi: 10.1134/S1607672916060090.

77. Sharapov, M.G., Gordeeva, A.E., Goncharov, R.G., Tikhonova, I.V., Ravin, V.K., et al., 2017. The effect of exogenous peroxiredoxin 6 on the state of mesenteric vessels and the small intestine in ischemia–reperfusion injury. *Biophys. J.* 62, 9981008. doi: 10.1134/S0006350917060239.

78. Sharapov, M.G., Gudkov, S.V., and Lankin, V.Z., 2021. Hydroperoxidoreducing enzymes in the regulation of free radical processes. *Biochemistry (Moscow)*. 86, 12561274. doi: 10.1134/S0006297921100084.

79. Sharapov, M.G., Gudkov, S.V., Gordeeva, A.E., Karp, O.E., Ivanov, V.E., et al., 2016. Peroxiredoxin 6 is a natural radioprotector. *Dokl. Biochem. Biophys.* 467, 110112. doi: 10.1134/S1607672916020095.

80. Sharapov, M.G., Novoselov, V.I., and Gudkov, S.V., 2019. Radioprotective role of peroxiredoxin 6, *Antioxidants (Basel)*. 8, 15. doi: 10.3390/antiox8010015.

81. Sharapov, M.G., Novoselov, V.I., Fesenko, E.E., Bruskov, V.I., and Gudkov, S.V., 2017. The role of peroxiredoxin 6 in neutralization of Xray mediated oxidative stress: effects on gene expression, preservation of radiosensitive tissues and postirradiation survival of animals. *Free Radic. Res.* 51, 148166. doi: 10.1080/10715762.2017.1289377.

82. Sharapov, M.G., Novoselov, V.I., Ravin, and V.K., 2016. Construction of a fusion enzyme exhibiting superoxide dismutase and peroxidase activity. *Biochemistry (Moscow)*. 81, 420427. doi: 10.1134/S0006297916040131.

83. Sharapov, M.G., Novoselov, V.I., Samygina, V.R., Konarev, P.V., Molochkov, A.V., et al., 2020. A chimeric recombinant protein with peroxidase and superoxide dismutase activities: physicochemical characterization and applicability to neutralize oxidative stress caused by ionizing radiation. *Biochem. Eng. J.* 159, 107603. doi: 10.1016/j.bej.2020.107603.
84. Shumaev, K.B., Ruuge, E.K., Dmitrovsky, A.A., Bykhovsky V.Ya., and Kukharchuk, V.V., 1997. Effect of lipid peroxidation products and antioxidants on the formation of probucol radical in low density lipoproteins. *Biochemistry (Moscow)*. 62, 657660.
85. Sies, H., and Jones, D.P., 2020. Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 21, 363383. doi: 10.1038/s4158002002303.
86. Sies, H., Berndt, C., and Jones, D.P., 2017. Oxidative stress, *Annu. Rev. Biochem.* 86, 715748, doi: 10.1146/annurevbiochem061516045037.
87. Simone, E.A., Dziubla, T.D., Arguiri, E., Vardon, V., Shuvaev, V.V., et al., 2009. Loading PEGcatalase into filamentous and spherical polymer nanocarriers, *Pharm. Res.*, 26, 250260, doi: 10.1007/s1109500897447.
88. Stancill, J.S., Happ, J.T., Broniowska, K.A., Hogg, N., and Corbett, J.A., 2020. Peroxiredoxin 1 plays a primary role in protecting pancreatic β cells from hydrogen peroxide and peroxyxynitrite. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 318, R1004R1013. doi: 10.1152/ajpregu.00011.2020.
89. Stevens, G.N., Joiner, M.C., Joiner, B., Johns, H., and Stratford, M.R. (1989) Role of glutathione peroxidase in the radiation response of mouse kidney, *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 16, 12131217, doi: 10.1016/03603016(89)902861.
90. Sun, J., Chen, Y., Li, M., and Ge, Z., 1998. Role of antioxidant enzymes on ionizing radiation resistance, *Free Radic. Biol. Med.*, 24, 586593. doi: 10.1016/s08915849(97)002918.
91. Talukdar, D., Chaudhuri, B.S., Ray, M., and Ray, S., 2009. Critical evaluation of toxic versus beneficial effects of methylglyoxal, *Biochemistry (Moscow)*, 74, 10591069. doi: 10.1134/s0006297909100010.
92. Toppo, S., Flohé, L., Ursini, F., Vanin, S., and Maiorino, M., 2009. Catalytic mechanisms and specificities of glutathione peroxidases: variations of a basic scheme, *Biochim. Biophys. Acta Gen. Subj.* 1790, 14861500. doi: 10.1016/j.bbagen.2009.04.007.
93. Tribble, D.L., BarcellosHoff, M.H., Chu, B.M., and Gong, E.L., 1999. Ionizing radiation accelerates aortic lesion formation in fatted mice via

SODinhibitable processes. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 19, 13871392. doi: 10.1161/01.atv.19.6.1387.

94. Vasin, M.V., and Ushakov, I.B., 2019. Potential ways to increase body resistance to damaging action of ionizing radiation with radiomitigators. *Biol. Bull. Rev.* 9, 503519. doi: 10.1134/S2079086419060082.

95. Vasin, M.V., and Ushakov, I.B., 2020. Radiomodulators as agents of biological protection against oxidative stress under the influence of ionizing radiation. *Biol. Bull. Rev.* 10, 251265. doi: 10.1134/S2079086420040106.

96. Verma, P., Kunwar, A., Arai, K., Iwaoka, M., and Priyadarsini, K.I., 2018. Mechanism of radioprotection by dihydroxy1selenolane (DHS): effect of fatty acid conjugation and role of glutathione peroxidase (GPx). *Biochimie.* 144, 122133. doi: 10.1016/j.biochi.2017.10.021.

97. Vladimirov, Y.A., and Proskurnina, E.V., 2009. Free radicals and cell chemiluminescence. *Biochemistry (Moscow).* 74, 15451566. doi: 10.1134/s0006297909130082.

98. Wang, X., Phelan, S.A., ForsmanSemb, K., Taylor, E.F., Petros, C., et al., 2003. Mice with targeted mutation of peroxiredoxin 6 develop normally but are susceptible to oxidative stress. *J. Biol. Chem.* 278, 2517925190. doi: 10.1074/jbc.M302706200.

99. Ward, J.F., 1988. DNA damage produced by ionizing radiation in mammalian cells: identities, mechanisms of formation, and reparability. *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.* 35, 95125. doi: 10.1016/s00796603(08)60611x.

100. Xue, Q., Yan, Y., Zhang, R., and Xiong, H., 2018. Regulation of iNOS on immune cells and its role in diseases. *Int. J. Mol. Sci.*, 19, 3805. doi: 10.3390/ijms19123805.

101. Yarmonenko, S.P., and Vaison, A.A., 2004. Radiobiology of Humans and Animals, Vysshaya shkola. Moscow.

102. Zhang, B., Wang, Y., and Su, Y., 2009. Peroxiredoxins, a novel target in cancer radiotherapy. *Cancer Lett.* 286, 154160. doi: 10.1016/j.canlet.2009.04.043.

103. Zhang, S., Wang, W., Gu, Q., Xue, J., Cao, H., et al., 2014. Protein and miRNA profiling of radiation-induced skin injury in rats: the protective role of peroxiredoxin6 against ionizing radiation. *Free Radic. Biol. Med.* 69, 96107. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2014.01.019.

104. Zharikov, A.A., Terekhov, O.V., and Pasov, V.V., 2013. Ultrasound-guided minimally-invasive treatment of patients with late radiation injuries to lesser pelvic organs. *Onkologiya. Zhurn. Im. P.A. Gertsena.* 5, 2630.

Раздел 4. Радиозащитные вещества: история, тенденции и перспективы

1. Варгянян, Л.П., Крутовских, Г.Н., Пустовалов, Ю.И. и др., 1989. Радиозащитное действие рибоксина. Радиобиология. 29, 707–709.

2. Васин, М.В., 2006. Средства профилактики и лечения лучевых поражений. ВЦМК «Защита». 340.

3. Васин, М.В., 2010. Противолучевые лекарственные средства. Изд-во российской медицинской академии последиplomного образования, 180.

4. Васин, М.В., Ушаков, И.Б., Ковтун, В.Ю. и др., 2008. Характеристика противолучевых свойств радиопротектора Б-190 при его применении после облучения. Радиационная Биология. Радиоэкология. 48. 6, 623–632.

5. Газиев, А.И., 1999. Повреждение ДНК в клетках под действием ионизирующей радиации. Радиационная Биология. Радиоэкология. 39, 630–638.

6. Газиев, А.И., 2013. Пути сохранения целостности митохондриальной ДНК и функций митохондрий в клетках, подвергшихся воздействию ионизирующей радиации. Радиационная Биология. Радиоэкология. 53, 117–136.

7. Гребенюк, А.Н., Зацепин, В.В., Аксенова, Н.В., Назаров, В.Б., Власенко, Т.Н., 2010. Влияние последовательного применения препарата б-190 и интерлейкина-1 на выживаемость и костномозговое кроветворение облученных мышей. Радиационная Биология. Радиоэкология. 50. 4, 423–426.

8. Гудков, С.В., Гармаш, С.А., Штаркман, И.Н. и др., 2010. Долгоживущие радикалы белка, индуцируемые рентгеновским облучением, являются источником активных форм кислорода в водной среде. ДАН. 430. 1, 123–126.

9. Джойнер, М.С., Ван Дер Когель, О.Д., 2013. Основы клинической радиобиологии. Бином. 600.

10. Драчёв, И.С., Легеза, В.И., Турлаков Ю.С., 2013. Перспективы применения соединений селена в качестве радиопротекторов. Радиационная Биология. Радиоэкология. 53, 475–480.

11. Зенков, Н.К., Ланкин, В.З., Меньщикова, Е.Б., 2001. Окислительный стресс: биохимический и патофизиологический аспекты. МАИК «Наука/Интерпериодика». 343.

12. Иванов, А.А., Кузнецов, В.П., Уланова, А.М. и др., 2004. Противолучевая эффективность лейкинферона у собак и морских свинок. Радиационная Биология. Радиоэкология. 44. 4, 403–411.

13. Ильин, Л.А., 2004. Радиационная медицина. Том 1. Медицина. 989.

14. Ильин, Л.А., Андрианова, И.Е., Глушков, В.А. и др., 2004. Лечебно-профилактические свойства низкомолекулярного хитозана при экс-

периментальном лучевом поражении. Радиационная Биология. Радиоэкол. 44. 5, 547–549.

15. Котеров, А.Н., Филиппович, И.В., 1995. Радиобиология металлоионов (обзор). Радиационная Биология. Радиоэкол. 35, 162–178.

16. Кудряшов, Ю.Б., 2004. Радиационная биофизика (ионизирующие излучения). Физматлит., 443.

17. Лосева, М.И., Пуртова, Л.А., Гавалова, Р.Ф., 2002. Ингибитор ангиотензин превращающего фермента эналаприл в лечении постлучевого и лекарственно-индуцированного эндомиокардиального фиброза при лимфогранулематозе. Кардиология. 42. 11, 48–51.

18. Лучник, Н.В., 1958. Влияние дрожжевых экстрактов на облученные организмы. Биохимия. 23, 146–153.

19. Пирутин, С.К., Туровецкий, В.Б., Кедров, А.В. и др., 2012. Модификация радиационных эффектов влияние гидроксированного фуллерена C₆₀(OH)₂₅ на целостность плазматических мембран макрофагов. Радиационная Биология. Радиоэкол. 52. 3, 252–256.

20. Попова, Н.Р., Гудков, С.В., Брусков, В.И., 2014. Природные пуриновые соединения как радиозащитные средства. Радиационная биология. Радиоэкология. 54. 1, 1–12

21. Проскуряков, С.Я., Кучеренко, Н.Г., Семенов, М.Н. и др., 2003. NO-ингибирующая активность радиопротекторов. Радиационная Биология. Радиоэкол. 43, 51–55.

22. Рождественский, Л.М., Дешевой, Ю.Б., Лебедев, В.Г. и др., 2002. Зависимость лечебной эффективности интерлейкина-1b от срока введения препарата после облучения мышей. Радиационная Биология. Радиоэкол. 42. 1, 65–69.

23. Сенюк, О.Ф., Ревина, А.А., Тарасенко, П.Д. и др., 2000. Иммунологические механизмы радиопротекторного действия церулоплазмينا. Радиационная Биология. Радиоэкол. 40. 2, 197–203.

24. Чертков, К.С., Петров, В.М., 1993. Фармако-химическая защита и заместительное лечение как составные части системы радиационной безопасности космонавтов при экспедиции к Марсу. Авиокосм. эколог. Медицина. 27, 27–32.

25. Шишкина, Л.Н., 2013. Особенности антиоксидантов как радиопротекторов при лучевом поражении разной степени тяжести. Радиационная Биология. Радиоэкол. 53, 536–542

26. Эйдус, Л.Х., 1972. Физико-химические основы радиобиологических процессов и защиты от излучений. Атомиздат. 239.

27. Эйдус, Л.Х., Корыстов, Ю.Н., 1984. Кислород в радиобиологии. Энергоатомиздат. 177

28. Alekperov, U.K., Akhundova, D.D., 1975. A cytogenetic analysis of the antimutagenic action of alpha-tocopherol on spontaneous and radiation-induced chromosomal mutations. *Genetika*. 10. 7., 12–17.
29. Andrievsky, G.V., Bruskov, V.I., Tykhomyrov, A.A. et al., 2009. Peculiarities of the antioxidant and radioprotective effects of hydrated C60 fullerene nanostructures in vitro and in vivo. *Free Radic. Biol. Med.* 47, 786–793.
30. Asadullina, N.R., Gudkov, S.V., Bruskov, V.I., 2012. Caffeine modifies effects of x-ray action on mice after exposure to radiation and exhibits radioprotective properties. *Dokl. Biochem. Biophys.* 442. 1, 22–25.
31. Asadullina, N.R., Usacheva, A.M., Gudkov, S.V., 2012. Protection of mice against X-ray injuries by the post-irradiation administration of inosine-5'-monophosphate. *J. Radiat. Res.* 53. 2, 211–216.
32. Asadullina, N.R., Usacheva, A.M., Smirnova, V.S. et al., 2010. Antioxidative and radiation modulating properties of guanosine-5'-monophosphate. *Nucleosides Nucleotides. Nucleic Acids.* 29. 10, 786–799.
33. Bao, Y., Wang, D., Li, Z. et al., 2013. Efficacy of a novel chelator BPCBG for removing uranium and protecting against uranium-induced renal cell damage in rats and HK-2 cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 269, 17–24.
34. Belosludtsev, K.N., Saris, N.-E. L., Andersson, L.C. et al., 2006. On the mechanism of palmitic acid-induced apoptosis: the role of a pore induced by palmitic acid and Ca^{2+} in mitochondria. *J. Bioenerg. Biomembr.* 38, 113–120.
35. Belosludtsev, K.N., SarisNils-Erik, L., Belosludtseva, N.V. et al., 2009. Physiological aspects of the mitochondrial cyclosporin A-insensitive palmitate/ Ca^{2+} -induced pore: tissue specificity, age profile and dependence on the animal adaptation to hypoxia. *J. Bioenerg. Biomembr.* 41, 395–401.
36. Bogdanovic, V., Stankov, K., Icevic, I. et al., 2008. Fullerenol C60(OH)24 effects on antioxidative enzymes activity in irradiated human erythroleukemia cell line. *J. Radiat. Res.* 49, 321–327.
37. Brown, A.P., Chung, E.J., Urick, M.E. et al., 2010. Evaluation of the fullerene compound DF-1 as a radiation protector. *Radiat. Oncol.* 5, 34–43.
38. Brown, D.Q., Graham, W.J. 3rd, MacKenzie, L.J. et al., 1988. Can WR-2721 be improved upon? *Pharmacol. Ther.* 39, 157–168.
39. Bruskov, V.I., Karp, O.E., Garmash, S.A. et al., 2012. Prolongation of oxidative stress by long-lived reactive protein species induced by X-ray radiation and their genotoxic action. *Free Radic. Res.* 46, 1280–1290.
40. Burdelya, L.G., Krivokrysenko, V.I., Tallant, T.C. et al., 2008. An agonist of toll-like receptor 5 has radioprotective activity in mouse and primate models. *Science*. 320. 5873, 226–230.
41. Carpenter, M., Agarwal, S.H., Nie, S.H. et al., 2004. Inhalation delivery of gemagglutinin epitope-tagged manganese superoxide dismutase-

plasmid/liposome (HA-MnSOD-PL) complexes to the lung protects against fractionated irradiation lung damage. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 60, 172–172.

42. Chui, S., Oleinick, N.L., 1998. Radioprotection of cellular chromatin by the polyamines spermine and putrescine: preferential action against formation of DNA-protein crosslinks. *Radiat. Res.* 149, 543–549.

43. Cohen, E.P., Robbins, E.C., 2003. Radiation nephropathy. *Semin. Nephrol.* 23, 486–499.

44. Daroczi, B., Kari, G., McAleer, M.F. et al., 2006. In vivo radioprotection by the fullerene nanoparticle DF-1 as assessed in a Zebrafish model. *Clin. Cancer Res.* 12, 7086–7091.

45. Denison, L., Haigh, A., D’Cunha, G., 1992. DNA ligands as radioprotectors: molecular studies with Hoechst 33342 and Hoechst 33258. *Int. J. Radiat. Biol.* 61, 69–81.

46. Detre, K.D., Finch, S.C., 1958. Radiation-protective effects of yeast extract and yeast ribonucleic acid. *Science.* 128, 656–657.

47. Doherty, D., Burnett, W., 1955. Protective effect of S, betaaminoethylisothiuronium Br-HBr and related compounds against x-radiation death in mice. *Poc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 89, 312–315.

48. Fukuda, S., Iida, H., Ikeda, M. et al., 2005. Toxicity of uranium and the removal effects of CBMIDA and EHPB in simulated wounds of rats. *Health Phys.* 89, 81–88.

49. Fukuda, S., Ikeda, M., Anzai, K. et al., 2006. Radiation protection by deferiprone in animal models. *Hemoglobin.* 30, 201–208.

50. Fukuda, S., Ikeda, M., Nakamura, M. et al., 2009. Acute toxicity of subcutaneously administered depleted uranium and the effects of CBMIDA in the simulated wounds of rats. *Health Phys.* 96, 483–492.

51. Gabor, M., 1996. Albert Szent-Györgyi and flavonoid research. *Orv Hetil.* 137, 83–84.

52. Gehrisch, A., Dorr, W., 2007. Effects of systemic or topical administration of sodium selenite on early radiation effects in mouse oral mucosa. *Strahlenther. Onkol.* 183, 36–42.

53. Gosule, L.S., Schellman, J.A., 1978. DNA condensation with polyamines I. Spectroscopic studies. *J. Mol. Biol.* 121, 311–326.

54. Gray, L.H., Conger, A.D., Ebert, M. et al., 1953. The concentration of oxygen dissolved in tissues at the time of irradiation as a factor in radiotherapy. *Br. J. Radiol.* 26, 638–648.

55. Gudkov S.V., Gudkova O.Y., Chernikov A.V. et al., 2009. Protection of mice against X-ray injuries by the post-irradiation administration of guanosine and inosine. *Int. J. Radiat. Biol.* 85. 2, 116–125.

56. Gudkov, S.V., Shtarkman, I.N., Smirnova, V.S. et al., 2006. Guanosine and inosine display antioxidant activity, protect DNA in vitro from oxidative damage induced by reactive oxygen species, and serve as radioprotectors in mice. *Radiat. Res.* 165, 538–545.
57. Hahn, S.M., Deluca, A.M., Coffin D. et al., 1998. In vivo radioprotection and effects on blood pressure of the stable free radical nitroxides. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 42, 839–842.
58. Halliwell, B., 1999. Antioxidant defense mechanisms: from the beginning to the end (of the beginning). *Free Radic. Res.* 31, 261–272.
59. Hanson, W.R., Houseman, K.A., Collins, P.W., 1988. Radiation protection in vivo by prostaglandins and related compounds of the arachidonic acid cascade. *Pharmacol. Ther.* 39, 347–356.
60. Hanson, W. R., Zhen, W., Geng, L. et al., 1995. The prostaglandin E1 analog, misoprostol, a normal tissue protector, does not protect four murine tumors in vivo from radiation injury. *Radiat. Res.* 142, 281–287.
61. Herodin, F., Roy, L., Grenier, N., Delaunay, C. et al., 2007. Antiapoptotic cytokines in combination with pegfilgrastim soon after irradiation mitigates myelosuppression in nonhuman primates exposed to high irradiation dose. *Exp. Hematol.* 35, 1172–1181.
62. Holt, J.A., 1975. The principles of hyperbaric and anoxic radiotherapy. *Br. J. Radiol.* 48, 819–826.
63. Hosseinimehr, S.J., 2007. Trends in the development of radioprotective agents. *Drug Discov. Today*.12.,794–805.
64. Hosseinimehr, S.J., Tavakoli, H., Pourheidari, G. et al., 2003. Radioprotective effects of citrus extract against irradiation in mouse bone marrow cells. *J. Radiat. Res.* 44, 237–241.
65. Hosseinimehr, S.J., Zakaryae, V., Froughzadeh, M., 2006. Oral oxymetholone reduces mortality induced by gamma irradiation in mice through stimulation of hematopoietic cells. *Mol. Cell. Biochem.* 287, 193–199.
66. Il'iuchenok, T.Iu., Khomenko, A.I., Frigidova, L.M. et al., 1975. Pharmacological and radioprotective properties of some gamma-pyrone derivatives (flavanones and flavanols). *Farmakol. Toksikol.* 38, 607–612.
67. Jagetia, G.C., Baliga, M.S., 2002. Influence of the leaf extract of *Mentha arvensis* Linn. (Mint) on the survival of mice exposed to different doses of gamma radiation. *Strahlenther. Onkol.* 178, 91–98.
68. Jagetia, G.C., Baliga, M.S., Malagi, K.J. et al., 2003. Influence of the leaf extract of *Mentha arvensis* Linn. (Mint) on the survival of mice exposed to different doses of gamma radiation. *J. Pharm. Pharmacol.* 55, 1151–1158.

69. Kagi, J.H.R., Schaffer, A., 1988. Biochemistry of metallothioneine. *Biochemistry*. 27, 8509–8515.
70. Korystov, Yu.N., Vexler, F.B., 1988. Mechanisms of the radioprotective effect of cysteamine in *Escherichia coli*. *Radiat. Res.* 114, 550–555.
71. Krishna, C.M., Liebmann, J.E., Kaufman, D. et al., 1992. The catecholic metal sequestering agent 1,2-dihydroxybenzene-3,5-disulfonate confers protection against oxidative cell damage. *Arch. Biochem. Biophys.* 29, 98–106.
72. Kroto, H.W., Heath, J.R., O'Brien, S.C. et al., 1985. C60: Buckminsterfullerene. *Nature*. V. 318, 162 – 163.
73. Krusic, P.J., Wasserman, E., Keizer, P. et al., 1991. Radical reactions of C60. *Science*. 254, 1183–1185.
74. Kumar, B., Kunwar, A., Ahmad, A. et al., 2009. In vitro radioprotection studies of organoselenium compounds: differences between mono- and diselenides. *Radiat. Environ. Biophys.* 48, 379–384.
75. Kuna, P., 1983. Duration and degree of radioprotection of WR- 2721 in mice following its intraperitoneal, intramuscular and subcutaneous administration. *Radiobiol. Radiother.* 24, 357–364.
76. Landauer, M.R., Davis, H.D., Dominitz, J.A. et al., 1988. Comparative behavioral toxicity of four sulfhydryl radioprotective compounds in mice: WR-2721, cysteamine, diethyldithiocarbamate, and N-acetylcysteine. *Pharmacology and Therapeutics*. 39, 97–100.
77. Landauer, M.R., Srinivasan, V., Seed, T.M., 2003. Genistein treatment protects mice from ionizing radiation injury. *J. Appl. Tox.* 23., 379–385.
78. Lee, T.K., Johnke, R.M., Allison, R.R. et al., 2005. Radioprotective potential of ginseng. *Mutagenesis*. 20, 237–243.
79. Lin, H.S., Lin, T.S., Lai, R.S. et al., 2001. Fullerenes as a new class of radioprotectors. *Int. J. Radiat. Biol.* 77, 235–239.
80. Lobachevsky, P.N., Vasireddy, R.S., Broadhurst, S. et al., 2011. Protection by methylproamine of irradiated human keratinocytes correlates with reduction of DNA damage. *Int. J. Radiat. Biol.* 87, 274–283.
81. Maisin, J., Dumont, P., Dunjio, A., 1960. Yeast ribonucleic acid and its nucleotides as recovery factors in rats receiving an acute whole-body dose of X-rays. *Nature*. 186, 91–92.
82. Margoshes, M., Vallee, B.L., 1957. A cadmium protein from equine kidney cortex. *J. Am. Chem. Soc.* 79, 4813–4814.
83. Martin, R.F., Broadhurst, S., D'Abrew, S. et al., 1996. Radioprotection by DNA ligands. *Br. J. Cancer*. 27, S99– S101.

84. Martin, R.F., Holmes, N., 1983. Use of an ¹²⁵I-labelled DNA ligand to probe DNA structure. *Nature*. 302, 452–454.
85. McCord, J.M., Fridovich, I., 1969. Superoxide dismutase – an enzymic function for erythrocyte hemocuprein. *J. Biol. Chem.* 244, 6049–6055.
86. Miller, S.M., Wang, A.Z., 2013. Nanomedicine in chemoradiation. *Ther. Deliv.* 4, 239–250.
87. Mishra, K., Bhardwaj, R., Chaudhury, N.K., 2009. Netropsin, a minor groove binding ligand: a potential radioprotective agent. *Radiat. Res.* 172, 698–705.
88. Molteni, A., Moulder, J.E., Cohen, E.F. et al., 2000. Control of radiation induced pneumopathy and lung fibrosis by angiotensin converting enzyme inhibitors and angiotensin II type I receptor blocker. *Int. J. Radiat. Biol.* 76, 523–532.
89. Moulder, J. E., Fish, B. L., 1997. Angiotensin II receptor antagonists in treatment and prevention of radiation nephropathy. *Radiat. Oncol. Investig.* 5, 50–53.
90. Murata, R., Nishimura, Y., Hiraoka, M. et al., 1995. Manganese chloride treatment does not protect against acute radiation injury of skin or crypt cells. *Radiat. Res.* 143, 316–319.
91. Nagaprashantha, L.D., Vatsyayan, R., Singhal, J. et al., 2011. Anti-cancer effects of novel flavonoid vicenin-2 as a single agent and in synergistic combination with docetaxel in prostate cancer. *Biochem. Pharmacol.* 82, 9, 1100–1109.
92. Nair, C.K., Parida, D.K., Nomura, T., 2001. Radioprotectors in radiotherapy. *J. Radiat. Res.* 42, 21-37.
93. Neal, R., Matthews, R.H., Lutz, P. et al., 2003. Antioxidant role of N-acetyl cysteine isomers following high dose irradiation. *Free Radic. Biol. Med.* 34, 689–695.
94. Needleman, P., Turk, J., Morrison, A. R. et al., 1986. Arachidonic acid metabolism. *Ann. Rev. Biochem.* 55, 69–102.
95. Neta, R., Douches, S.D., Oppenheim, J.J., 1986. Interleukin I is a radioprotector. *J. Immunol.* 136, 2483–2485.
96. Novick, A., Szilard, L., 1952. Anti-mutagens. *Nature*. 170, 926–927.
97. Okunieff, P., 1991. Interactions between ascorbic acid and the radiation of bone marrow, skin, and tumor. *Am. J. Clin. Nutr.* 54, 1281–1283.
98. Patt, H.M., Tyree, E.B., Straube, R.L. et al., 1949. Cysteine protection against X irradiation. *Science*. 110, 213–214.
99. Petkau, A., Chelack, W.S., 1974. Protection of *Acholeplasma laidlawii* B by superoxide dismutase. *Int. J. Radiat. Biol. Relat. Stud. Phys. Chem. Med.* 26, 421–426.

100. Prasad, K.N., 1972. Radioprotective effect of prostaglandin and an inhibitor of cyclic nucleotide phosphodiesterase on mammalian cells in culture. *Int. J. Radiat. Biol. Relat. Stud. Phys. Chem. Med.* 22, 187–189.
101. Prasad, K.N., Kumar, X.D., Yan A.J. et al., 2003. Alpha-tocopherol succinate, the most effective form of vitamin E for adjuvant cancer treatment: A review. *J. Am. Coll. Nutr.* 22, 108–117.
102. Ramounet-Le Gall, B., Grillon, G., Rateau, G. et al., 2003. Comparative decorporation efficacy of 3,4,3-LIHOPO, 4,4,4-LIHOPO and DTPA after contamination of rats with soluble forms of ²³⁸Pu and ²³³U. *Radiat. Prot. Dosimetry.* 105, 535–538.
103. Reagan-Shaw, S., Mukhtar, H., Ahmad, N., 2008. Resveratrol imparts photoprotection of normal cells and enhances the efficacy of radiation therapy in cancer cells. *Photochem. Photobiol.* 84, 415–421.
104. Redlich, C.A., Rockwell, S., Chung, J.S. et al., 1998. Vitamin A inhibits radiation-induced pneumonitis in rats. *J. Nutr.* 128, 1661–1664.
105. Riehl, T., Cohen, S., Tessner, T. et al., 2000. Lipopolysaccharide is radioprotective in mouse intestine through a prostaglandin mediated mechanism. *Gastroenterology.* 118, 1106–1116.
106. Sarma, L., Kesavan, P.C., 1993. Protective effects of vitamins C and E against gamma-ray-induced chromosomal damage in mouse. *Int. J. Radiat. Biol.* 63, 759–764.
107. Satoh, M., Miura, N., Naganuma, A. et al., 1989. Prevention of adverse effects of gamma ray irradiation after metallothioneine induction by bismuth subnitrate in mice. *Eur. J. Canc. Clin. Oncol.* 25, 1729–1731.
108. Seifter, E., Mendecki, J., Holtzman, S. et al., 1988. Role of vitamin A and carotene in radiation protection: Relation to antioxidant properties. *Pharm. Therap.* 39, 357–365.
109. Sharma, M., Kumar, M., 2007. Radioprotection of Swiss albino mice by *Myristica fragrans* houtt. *J. Radiat. Res.* 48, 135–141.
110. Shen, H., Chen, Z.J., Zilfou, J.T. et al., 2001. Binding of the aminothiol WR-1065 to transcription factors influences cellular response to anticancer drugs. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 297, 1067–1073.
111. Shimazu, F., Tappel, A.L., 1964. Selenoamino acids as radiation protectors in vitro. *Radiat. Res.* 23, 210 – 217.
112. Shimoi, K., Masuda, S., Furogori, M. et al., 1994. Radioprotective effect of antioxidative flavonoids in gamma-ray irradiated mice. *Carcinogenesis.* 15, 2669–2672.
113. Smith, P.J., Anderson, C.O., 1984. Modification of the radiation sensitivity of human tumour cells by a bis-benzimidazole derivative. *Int. J. Radiat. Biol.* 46, 331–334.

114. Snyder, R.D., Schroeder, K.K., 1994. Radiosensitivity of polyamine-depleted HeLa cells and modulation by the aminothiols WR-1065. *Radiat Res.* 137, 1, 67–75.
115. Song, J.Y., Han, S.K., Bae, K.G. et al., 2003. Radioprotective effects of ginsan, an immunomodulator. *Radiat. Res.* 159, 768–774.
116. Stickney, D.R., Dowding, C., Authier, S. et al., 2007. 5-Androstenediol improves survival in clinically unsupported rhesus monkeys with radiation-induced myelosuppression. *Int. Immunopharmacol.* 7, 500–505.
117. Stiff, P., Bensinger, W., Emmanouilides, T., Gentile, T., 2003. Treatment of mucositis with palifermin improves patient function and results in a clinically meaningful reduction in mouth and throat soreness (MTS): Phase 3 results. *Blood.* 102, 676.
118. Stone, H.B., Moulder, J.E., Coleman, C.N. et al., 2004. Models for evaluating agents intended for the prophylaxis, mitigation and treatment of radiation injuries: Report of an NCI Workshop, *Radiat. Res.* 162, 711–728.
119. Tabaczar, S., Talar, M., Gwoldzilski, K., 2011. Nitroxides as antioxidants possibilities of their application in chemoprevention and radioprotection. *Postepy Hig. Med. Dosw.* 65, 46–54.
120. Tannehill, S. P., Mehta, M. P., 1996. Amifostine and radiation therapy: past, present, and future. *Semin. Oncol.* 23, 8, 69–77.
121. Theriot, C.A., Casey, R.C., Moore, V.C. et al., 2010. Dendro[C(60)]fullerene DF-1 provides radioprotection to radiosensitive mammalian cells. *Radiat. Environ. Biophys.* 49, 437–445.
122. Thompson, L.H., 2012. Recognition, signaling, and repair of DNA double-strand breaks produced by ionizing radiation in mammalian cells: the molecular choreography. *Mutat. Res.* 751, 158–246.
123. Trajkovic, S., Dobric, S., Jacevic, V. et al., 2007. Tissue-protective effects of fulleranol C60(OH)24 and amifostine in irradiated rats. *Colloids Surf. B.* 58, 39–43.
124. Uma Devi, P., Ganasoundari, A., Rao, B.S.S. et al., 1999. In vivo radioprotection by *Ocimum flavinoids*: Survival of mice. *Radiat. Res.* 151, 74–78.
125. Ward, W.F., Hoellwarth, A. S., Tuttle, R. D., 1983. Collagen accumulation in irradiated rat lung: modification by D-penicillamine. *Radiology.* 146, 533–537.
126. Ward, W.F., Lin, P.J.P., Wong, P.S. et al., 1993. Radiation pneumonitis in rats and its modification by angiotensin converting enzyme inhibitor captopril evaluated by high resolution computed tomography. *Radiat. Res.* 135, 81–87.

127. Weil, J.T., Van der Veen, J., Olcott, H.S., 1968. Stable nitroxides as lipid antioxidants. *Nature*. 219, 168–169.

128. Weiss, J.F., 1997. Pharmacologic approaches to protection against radiation induced lethality and other damage. *Environ. Health Perspect.* 105, 1473–1478.

129. Weiss, J.F., Landauer, M.R., 2009. History and development of radiation-protective agents *Int. J. Radiat. Biol.*, 85.7, 539–573.

130. Whitnall, M.H., Elliott, T.B., Harding, R.A. et al., 2000. Androstenediol stimulates myelopoiesis and enhances resistance to infection in gamma-irradiated mice. *Int. J. Immunopharmacol.* 22, 1–14.

131. Wilson, B., Matsuzawa, T., 1963. Germfree studies of protection induced by bacterial endotoxin against X-irradiation. *Radiat. Res.* 19, 231–235.

132. Winczura, P, Jassem, J., 2010. Combined treatment with cytoprotective agents and radiotherapy. *Cancer Treatment Rev.* 36, 268–275.

133. Xun, C., Shen, N., Li, B. et al., 2008. Radiation mitigation effect of cultured mushroom fungus *Hirsutella sinensis* (CorImmune) isolated from a Chinese/Tibetan herbal preparation – *Cordyceps sinensis*. *Int. J. Radiat. Biol.* 84, 139–149.

134. Yuhas, J.M., Storer, J.B., 1969. Chemoprotection against three modes of radiation death in the mouse. *Int. J. Radiat. Biol. Rel. Stud. Phys. Chem. Med.* 15, 233–237.

135. Zhao, Q., Li, Y., Xu, J. et al., 2005. Radioprotection by fullereneols of *Stylonychia mytilus* exposed to γ -rays. *Int. J. Radiat. Biol.* 81, 169–175.

Раздел 5. Роль пероксиредоксина 6 в развитии и нейтрализации радиационно-индуцированного окислительного стресса

1. An, J.H., KIM, J., Seong, J., 2004. Redox signaling by ionizing radiation in mouse liver. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1030, 86–94.

2. An, J.H., Seong, J.S., 2006. Proteomics analysis of apoptosis-regulating proteins in tissues with different radiosensitivity. *J. Radiat. Res.* 47, 147–155.

3. Baldwin, A.S., 2001. Control of oncogenesis and cancer therapy resistance by the transcription factor NF-kappaB. *J. Clin. Investig.* 107, 241–246.

4. Bast, A., Erttmann, S.F., Walther, R., Steinmetz, I., 2010. Influence of iNOS and COX on peroxiredoxin gene expression in primary macrophages. *Free Radic. Biol. Med.* 49, 1881–1891.

5. Bienert, G.P., Møller, A.L., Kristiansen, K.A., Schulz, A., Møller, I.M., Schjoerring, J.K., Jahn, T.P., 2007. Specific aquaporins facilitate the

diffusion of hydrogen peroxide across membranes. *J. Biol. Chem.* 282, 1183–1192.

6. Chen, M.-F., Keng, P.C., Shau, H., Wu, C.-T., Hu, Y.-C., Liao, S.-K., Chen, W.-C., 2006. Inhibition of lung tumor growth and augmentation of radiosensitivity by decreasing peroxiredoxin I expression. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 64, 581–591.

7. Choi, H., Chang, J.-W., Jung, Y.-K., 2011. Peroxiredoxin 6 interferes with TRAIL-induced death-inducing signaling complex formation by binding to death effector domain caspase. *Cell. Death Differ.* 18, 405–414.

8. Cuadrado, A., Martín-Moldes, Z., Ye, J., Lastres-Becker, I., 2014. Transcription factors NRF2 and NF- κ B are coordinated effectors of the Rho family, GTP-binding protein RAC1 during inflammation. *J. Biol. Chem.* 289, 15244–15258.

9. Dietz, K.-J., 2011. Peroxiredoxins in plants and cyanobacteria. *Antioxid. Redox Signal.* 15, 1129–1159.

10. Do Yo, Y., Chung, Y.M., Park, J.K., Ahn, C.M., Kim, S.K., Kim, H.J., 2002. Synergistic effect of peroxiredoxin II antisense on cisplatin-induced cell death. *Exp. Mol. Med.* 34, 273–277.

11. Du, J.-R., Kuang, X., Wang, L.-F., Yu, L., Li, Y.-J., Wang, Y.-N., He, Q., Chen, C., Du, J.-R., 2014. Ligustilide ameliorates neuroinflammation and brain injury in focal cerebral ischemia/reperfusion rats: Involvement of inhibition of TLR4/peroxiredoxin 6 signaling. *Free Radic. Biol. Med.* 71, 165–175.

12. Egler, R.A., Fernandes, E., Rothermund, K., Sereika, S., de Souza-Pinto, N., Jaruga, P., Dizdaroglu, M., Prochownik, E. V., 2005. Regulation of reactive oxygen species, DNA damage, and c-Myc function by peroxiredoxin 1. *Oncogene* 24, 8038–8050.

13. Farooqui, A.A., 2009. Lipid Mediators in the Neural Cell Nucleus: Their Metabolism, Signaling, and Association with Neurological Disorders. *Neuroscientist.* 15, 392–407.

14. Fujita, Y., Nakanishi, T., Hiramatsu, M., Mabuchi, H., Miyamoto, Y., Miyamoto, A., Shimizu, A., Tanigawa, N., 2006. Proteomics-based approach identifying autoantibody against peroxiredoxin VI as a novel serum marker in esophageal squamous cell carcinoma. *Clin. Cancer Res.* 12, 6415–6420.

15. Gallagher, B.M., Phelan, S.A., 2007. Investigating transcriptional regulation of Prdx6 in mouse liver cells. *Free Radic. Biol. Med.* 42, 1270–1277.

16. Grigoriev, P.A., Sharapov, M.G., Novoselov, V.I., 2015. Voltage-dependent cation-selective ion channels formed by peroxiredoxin 6 in a lipid bilayer. *Biophys. J.* 60, 696–699.
17. Gudkov, A.V., Komarova, E.A., 2010. Radioprotection: Smart games with death. *J. Clin. Invest.* 120, 2270–2273.
18. Gudkov, S.V., Garmash, S.A., Shtarkman, I.N., Chernikov, A.V., Karp, O.E., Bruskov, V.I., 2010. Long-lived protein radicals induced by X-ray irradiation are the source of reactive oxygen species in aqueous medium. *Dokl Biochem. Biophys.* 430, 1–4.
19. Gudkov, S.V., Popova, N.R., Bruskov, V.I., 2015. Radioprotectors: History, Trends and Prospects. *Biofizika.* 60, 801–811.
20. Gudkov, S.V., Shilyagina, N.Y., Vodeneev, V.A., Zvyagin, A.V., 2016. Targeted Radionuclide Therapy of Human Tumors. *Int. J. Mol. Sci.* 17, 33.
21. Guo, Q.J., Mills, J.N., Bandurraga, S.G., Nogueira, L.M., Mason, N.J., Camp, E.R., Larue, A.C., Turner, D.P., Findlay, V.J., 2013. MicroRNA-510 promotes cell and tumor growth by targeting peroxiredoxin1 in breast cancer. *Breast Cancer Res.* 15, R70.
22. Hellweg, C.E., 2015. The Nuclear Factor κ B pathway: A link to the immune system in the radiation response. *Cancer Lett.* 368, 275–289.
23. Hess, A., Wijayanti, N., Neuschäfer-Rube, A.P., Katz, N., Kietzmann, S., Immenschuh, S., 2003. Phorbol ester-dependent activation of peroxiredoxin I gene expression via a protein kinase C, Ras, p38 mitogen-activated protein kinase signaling pathway. *J. Biol. Chem.* 278, 45419–45434.
24. Hoshino, I., Nagata, M., Takiguchi, N., Nabeya, Y., Ikeda, A., Yokoi, S., Kuwajima, A., Tagawa, M., Matsushita, K., Satoshi, Y., et al., 2017. Panel of autoantibodies against multiple tumor-associated antigens for detecting gastric cancer. *Cancer Sci.* 108, 308–315.
25. Ishii, T., Itoh, K., Takahashi, S., Sato, H., Yanagawa, T., Katoh, Y., Bannai, S., Yamamoto, M., 2000. Transcription factor Nrf2 coordinately regulates a group of oxidative stress-inducible genes in macrophages. *J. Biol. Chem.* 275, 16023–16209.
26. Ishikawa, Y., Yokoo, T., Kitamura, M., 1997. c-Jun/AP-1, but not NF-kappa B, is a mediator for oxidant-initiated apoptosis in glomerular mesangial cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 240, 496–501.
27. Ito, T., Kimura, S., Seto, K., Warabi, E., Kawachi, Y., Shoda, J., Tabuchi, K., Yamagata, K., Hasegawa, S., Bukawa, H., et al., 2014. Peroxiredoxin I plays a protective role against UVA irradiation through reduction of oxidative stress. *J. Dermatol. Sci.* 74, 9–17.

28. Jo, M., Yun, H.-M., Park, K.-R., Park, M.H., Lee, D.H., Cho, S.H., Yoo, H.-S.S., Lee, Y.-M., Jeong, H.S., Kim, Y., et al., 2014. Anti-cancer effect of thiacecremonone through down regulation of peroxiredoxin 6. *PLoS ONE*. 9, e91508.
29. Kanasty, R., Dorkin, J.R., Vegas, A., Anderson, D., 2013. Delivery materials for siRNA therapeutics. *Nat. Mater.* 12, 967–977.
30. Karihtala, P., Mäntyniemi, A., Kang, S.W., Kinnula, V.L., Soini, Y., 2003. Peroxiredoxins in breast carcinoma. *Clin. Cancer Res.* 9, 3418–3424.
31. Karp, O.E., Gudkov, S.V., Garmash, S.A., Shtarkman, I.N., Chernikov, A.V., Bruskov, V.I., 2010. Genotoxic effect of long-lived protein radicals in vivo generated by X-ray irradiation. *Dokl Biochem. Biophys.* 434, 250–253.
32. Kim, S.Y., Jo, H.-Y., Kim, M.H., Cha, Y.-Y., Choi, S.W., Shim, J.-H., Kim, T.J., Lee, K.-Y., 2008. H₂O₂-dependent hyperoxidation of peroxiredoxin 6 (Prdx6) plays a role in cellular toxicity via up-regulation of iPLA2 activity. *J. Biol. Chem.* 283, 33563–33568.
33. Kim, T.H., Song, J., Alcantara Llaguno, S.R., Murnan, E., Liyanarachchi, S., Palanichamy, K., Yi, J.-Y., Viapiano, M.S., Nakano, I., Yoon, S.O., et al., 2012. Suppression of peroxiredoxin 4 in glioblastoma cells increases apoptosis and reduces tumor growth. *PLoS ONE* 7, e42818.
34. Klossowski, S., Muchowicz, A., Firczuk, M., Swiech, M., Redzej, A., Golab, J., Ostaszewski, R., Swiech, M., Redzej, A., Golab, J., et al., 2012. Studies toward novel peptidomimetic inhibitors of thioredoxin-thioredoxin reductase system. *J. Med. Chem.* 55, 55–67.
35. Lankin, V.Z., Tikhaze, A.K., 2017. Role of Oxidative Stress in the Genesis of Atherosclerosis and Diabetes Mellitus: A Personal Look Back on 50 Years of Research. *Curr. Aging Sci.*
36. Lankin, V.Z., Tikhaze, A.K., Kapel'ko, V.I., Shepel'kova, G.S., Shumaev, K.B., Panasenko, O.M., Konovalova, G.G., Belenkov, Y.N., 2007. Mechanisms of oxidative modification of low density lipoproteins under conditions of oxidative and carbonyl stress. *Biochemistry.* 72, 1081–1090.
37. Lee, H.L., Park, M.H., Son, D.J., Song, H.S., Kim, J.H., Ko, S.C., Song, M.J., Lee, W.H., Yoon, J.H., Ham, Y.W., et al., 2015. Anti-cancer effect of snake venom toxin through down regulation of AP-1 mediated PRDX6 expression. *Oncotarget.* 6, 22139–22151.
38. Lee, K., Park, J.S., Kim, Y.J., Soo Lee, Y., Sook Hwang, T., Kim, D.J., Park, E.M., Park, Y.M., 2002. Differential expression of Prx I and II in mouse testis and their up-regulation by radiation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 296, 337–342.

39. Lee, W., Ku, S.-K., Bae, J.-S., 2015. Anti-inflammatory Effects of Baicalin, Baicalein, and Wogonin In Vitro and In Vivo. *Inflammation* 38, 110–125.
40. Levanova, A., Poranen, M.M., 2018. RNA Interference as a Prospective Tool for the Control of Human Viral Infections. *Front. Microbiol.* 9, 2151.
41. Li, Q., Wang, N., Wei, H., Li, C., Wu, J., Yang, G., 2016. miR-24-3p Regulates Progression of Gastric Mucosal Lesions and Suppresses Proliferation and Invasiveness of N87 Via Peroxiredoxin 6. *Dig. Dis. Sci.* 61, 3486–3497.
42. Li, W., Khor, T.O., Xu, C., Shen, G., Jeong, W.-S., Yu, S., Kong, A.-N., 2008. Activation of Nrf2-antioxidant signaling attenuates NFkappaB-inflammatory response and elicits apoptosis. *Biochem. Pharmacol.* 76, 1485–1489.
43. Liu, G.-H., Qu, J., Shen, X., 2008. NF-kappaB/p65 antagonizes Nrf2-ARE pathway by depriving CBP from Nrf2 and facilitating recruitment of HDAC3 to MafK. *Biochim. Biophys. Acta.* 1783, 713–727.
44. Liu, G.-Y., Shi, J.-X., Shi, S.-L., Liu, F., Rui, G., Li, X., Gao, L.-B., Deng, X.-L., Li, Q.-F., 2017. Nucleophosmin Regulates Intracellular Oxidative Stress Homeostasis via Antioxidant PRDX6. *J. Cell. Biochem.* 118, 4697–4707.
45. Ma, Q., 2013. Role of Nrf2 in Oxidative Stress and Toxicity. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 53, 401–426.
46. Metcalf, D., 2008. Hematopoietic cytokines. *Blood.* 111, 485–491.
47. Min, Y., Wi, S.M., Shin, D., Chun, E., Lee, K.-Y., 2017. Peroxiredoxin-6 Negatively Regulates Bactericidal Activity and NF-kB Activity by Interrupting TRAF6-ECSIT Complex. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 7, 1–13.
48. Moreno-Manzano, V., Ishikawa, Y., Lucio-Cazana, J., Kitamura, M., 1999. Suppression of Apoptosis by All-trans-Retinoic Acid. *J. Biol. Chem.* 274, 20251–20258.
49. Novoselov, V.I., Ravin, V.K., Sharapov, M.G., Sofin, A.D., Kukushkin, N.I., Fesenko, E.E., 2011. Modified peroxiredoxins as prototypes of drugs with powerful antioxidant action. *Biophysics.* 56.
50. Pak, J.H., Choi, W.H., Lee, H.M., Joo, W.-D., Kim, J.-H., Kim, Y.-T., Kim, Y.-M., Nam, J.-H., 2011. Peroxiredoxin 6 overexpression attenuates cisplatin-induced apoptosis in human ovarian cancer cells. *Cancer Investig.* 29, 21–28.
51. Pak, J.H., Son, W.C., Seo, S.B., Hong, S.J., Sohn, W.M., Na, B.K., Kim, T.S., 2016. Peroxiredoxin 6 expression is inversely correlated with

nuclear factor- κ B activation during *Clonorchis sinensis* infestation. *Free Radic. Biol. Med.* 99, 273–285.

52. Peskin, A.V., Dickerhof, N., Poynton, R.A., Paton, L.N., Pace, P.E., Hampton, M.B., Winterbourn, C.C., 2013. Hyperoxidation of peroxiredoxins 2 and 3: Rate constants for the reactions of the sulfenic acid of the peroxidatic cysteine. *J. Biol. Chem.* 288, 14170–14177.

53. Petkau, A., 1978. Radiation protection by superoxide dismutase. *Photochem. Photobiol.* 28, 765–774.

54. Petkau, A., 1987. Role of superoxide dismutase in modification of radiation injury. *Br. J. Cancer. Suppl.* 8, 87–95.

55. Prosser, C.L., Painter, E.E., Lisco, H., Brues, A.M., Jacobson, L.O., Swift, M.N., 1947. The Clinical Sequence of Physiological Effects of Ionizing Radiation in Animals. *Radiology.* 49, 299–313.

56. Rhee, S.G., Kil, I.S., 2016. Multiple Functions and Regulation of Mammalian Peroxiredoxins. *Annu. Rev. Biochem.* 85, 1–27.

57. Rhee, S.G., Woo, H.A., 2011. Multiple functions of peroxiredoxins: Peroxidases, sensors and regulators of the intracellular messenger H₂O₂, and protein chaperones. *Antioxid. Redox Signal.* 15, 781–794.

58. Riddell, J.R., Maier, P., Sass, S.N., Moser, M.T., Foster, B.A., Gollnick, S.O., 2012. Peroxiredoxin 1 stimulates endothelial cell expression of VEGF via TLR4 dependent activation of HIF-1 α . *PLoS ONE* 7, e50394.

59. Riddell, J.R., Wang, X.-Y., Minderman, H., Gollnick, S.O., 2010. Peroxiredoxin 1 stimulates secretion of proinflammatory cytokines by binding to TLR4. *J. Immunol.* 184, 1022–1030.

60. Rithidech, K.N., Reungpatthanaphong, P., Honikel, L., Rusek, A., Simon, S.R., 2010. Dose-rate effects of protons on in vivo activation of nuclear factor-kappa B and cytokines in mouse bone marrow cells. *Radiat. Environ. Biophys.* 49, 405–419.

61. Schmitt, A., Schmitz, W., Hufnagel, A., Schartl, M., Meierjohann, S., 2015. Peroxiredoxin 6 triggers melanoma cell growth by increasing arachidonic acid-dependent lipid signalling. *Biochem. J.* 471, 267–279.

62. Sharapov, M.G., Gudkov, S.V., Gordeeva, A.E., Karp, O.E., Ivanov, V.E., Shelkovskaya, O.V., Bruskov, V.I., Novoselov, V.I., Fesenko, E.E., 2016. Peroxiredoxin 6 is a natural radioprotector. *Dokl Biochem. Biophys.* 467, 110–112.

63. Sharapov, M.G., Novoselov, V.I., Fesenko, E.E., Bruskov, V.I., Gudkov, S.V., 2017. The role of peroxiredoxin 6 in neutralization of X-ray mediated oxidative stress: Effects on gene expression, preservation of

radiosensitive tissues and postradiation survival of animals. *Free Radic. Res.* 51, 148–166.

64. Sharapov, M.G., Novoselov, V.I., & Gudkov, S.V., 2019. Radioprotective role of peroxiredoxin 6. *Antioxidants*. 8, 1, 15.

65. Stone, H.B., Moulder, J.E., Coleman, C.N., Ang, K.K., Anscher, M.S., Barcellos-Hoff, M.H., Dynan, W.S., Fike, J.R., Grdina, D.J., Greenberger, J.S., et al., 2003. Models for Evaluating Agents Intended for the Prophylaxis, Mitigation and Treatment of Radiation Injuries Report of an NCI Workshop, December 3–4. *Radiat. Res.* 162, 711–728.

66. Takada, Y., Mukhopadhyay, A., Kundu, G.C., Mahabeleshwar, G.H., Singh, S., Aggarwal, B.B., 2003. Hydrogen peroxide activates NF-kappa B through tyrosine phosphorylation of I kappa B alpha and serine phosphorylation of p65: Evidence for the involvement of I kappa B alpha kinase and Syk protein-tyrosine kinase. *J. Biol. Chem.* 278, 24233–24241.

67. Turpaev, K.T., 2006. Role of transcription factor AP-1 in integration of cellular signalling systems. *Mol. Biol. (Mosk)*. 40, 945–961.

68. Veltri, S., Smith, J.W., 1996. Interleukin 1 trials in cancer patients: A review of the toxicity, antitumor and hematopoietic effects. *Stem Cells*. 14, 164–176.

69. Vénéreau, E., Ceriotti, C., Bianchi, M.E., 2015. DAMPs from Cell Death to New Life. *Front. Immunol.* 6, 422.

70. Walsh, B., Pearl, A., Suchy, S., Tartaglio, J., Visco, K., Phelan, S.A., 2009. Overexpression of Prdx6 and resistance to peroxide-induced death in Hepal-6 cells: Prdx suppression increases apoptosis. *Redox Rep.* 14, 275–284.

71. Wang, W., Xia, T., Yu, X., 2015. Wogonin suppresses inflammatory response and maintains intestinal barrier function via TLR4-MyD88-TAK1-mediated NF-κB pathway in vitro. *Inflamm. Res.* 64, 423–431.

72. Weiss, J.F., Landauer, M.R., 2009. History and development of radiation-protective agents. *Int. J. Radiat. Biol.* 85, 539–573.

73. Wu, Y., Feinstein, S.I., Manevich, Y., Chowdhury, I., Pak, J.H., Kazi, A., Dodia, C., Speicher, D.W., Fisher, A.B., 2009. Mitogen-activated protein kinase-mediated phosphorylation of peroxiredoxin 6 regulates its phospholipase A2 activity. *Biochem. J.* 419, 669–679.

74. Yao, J., Zhao, L., Zhao, Q., Zhao, Y., Sun, Y., Zhang, Y., Miao, H., You, Q.-D., Hu, R., Guo, Q.-L., 2014. NF-κB and Nrf2 signaling pathways contribute to wogonin-mediated inhibition of inflammation-associated colorectal carcinogenesis. *Cell. Death Dis.* 5, e1283.

75. Yun, H.-M., Park, K.-R., Lee, H.P., Lee, D.H., Jo, M., Shin, D.H., Yoon, D.-Y., Han, S.B., Hong, J.T., 2014. PRDX6 promotes lung tumor progression via its GPx and iPLA2 activities. *Free Radic. Biol. Med.* 69, 367–376.

76. Yun, H.-M., Park, K.-R., Park, M.H., Kim, D.H., Jo, M.R., Kim, J.Y., Kim, E.-C., Yoon, D.Y., Han, S.B., Hong, J.T., 2015. PRDX6 promotes tumor development via the JAK2/STAT3 pathway in a urethane-induced lung tumor model. *Free Radic. Biol. Med.* 80, 136–144.

77. Zha, X., Wu, G., Zhao, X., Zhou, L., Zhang, H., Li, J., Ma, L., Zhang, Y., 2015. PRDX6 Protects ARPE-19 Cells from Oxidative Damage via PI3K/AKT Signaling. *Cell. Physiol. Biochem.* 36, 2217–2228.

78. Zhang, B., Su, Y., Ai, G., Wang, Y., Wang, T., Wang, F., Ionizing, P.I., 2005. Involvement of peroxiredoxin I in protecting cells from radiation-induced death. *J. Radiat. Res.* 46, 305–312.

79. Zhang, B., Wang, Y., Liu, K., Yang, X., Song, M., Wang, Y., Bai, Y., 2008. Adenovirus-mediated transfer of siRNA against peroxiredoxin I enhances the radiosensitivity of human intestinal cancer. *Biochem. Pharmacol.* 75, 660–667.

Раздел 6. Направленная радионуклидная терапия опухолей человека

1. Allen, B.J., Singla, A.A., Rizvi, S.M., Graham, P., Bruchertseifer, F., Apostolidis, C., Morgenstern, A., 2011. Analysis of patient survival in a Phase I trial of systemic targeted α -therapy for metastatic melanoma. *Immunotherapy.* 3, 9, 1041–1050.

2. Anderson, P.M., Subbiah, V., Rohren, E., 2014. Bone-seeking radiopharmaceuticals as targeted agents of osteosarcoma: samarium-153-EDTMP and radium-223. *Adv. in Exp. Medi. and Biol.* 804, 291–304.

3. Asadullina, N.R., Usacheva, A.M., Gudkov, S.V., 2012. Protection of mice against X-ray injuries by the post-irradiation administration of inosine-5'-monophosphate. *Journal of Radiation Research.* 53, 211–216.

4. Asadullina, N.R., Usacheva, A.M., Smirnova, V.S., Gudkov, S.V., 2010. Antioxidative and radiation modulating properties of guanosine-5'-monophosphate. *Nucleosides Nucleotides & Nucleic Acids.* 29, 786–799.

5. Audia, G., Bersillon, O., Blachot, J., Wapstra, A.H., 2003. The NUBASE evaluation of nuclear and decay properties. *Nuclear Physics A.* 729, 3–128.

6. Barendsen, G.W., Beusker, T.L., Vergroesen, A.J., Budke, L., 1960. Effects of different radiations on human cells in tissue culture. II. Biological experiments. *Rad. Res.* 13, 841–849.

7. Beatson, R.E., Taylor-Papadimitriou, J., Burchell, J.M., 2010. MUC1 immunotherapy. *Immunother.* 2. 3, 305–327.
8. Bodei, L., Cremonesi, M., Kidd, M., Grana, C.M., Severi, S., Modlin, I.M., Paganelli, G., 2014. Peptide receptor radionuclide therapy for advanced neuroendocrine tumors. *Thor. Surg. Clinics.* 24. 3, 333–349.
9. Cole, J.T., Holland, N.B., 2015. Multifunctional nanoparticles for use in theranostic applications. *Drug Del. and Transl. Res.* 5, 3, 295–309.
10. Curcio, C.G., Vasile, C., Gianciotta, A., Casali, A., Gionfra, T., Rinaldi, M., Guadagni, A., Le Pera, V., Segà, E., 1976. Short-term results of combined radioimmunotherapy in inoperable lung cancer. *Tumori.* 62. 6, 587–598.
11. Dash, A., Knapp, F.F., Pillai, M.R., 2013. Targeted radionuclide therapy – an overview. *Current radiopharmaceuticals.* 6. 3, 152–180.
12. Dechant, M., Bruenke, J., Valerius, T., 2003. HLA class II antibodies in the treatment of hematologic malignancies. *Sem. in Nuc. Med.* 30. 4, 465–475.
13. Erba, P.A., Sollini, M., Orciuolo, E., Traino, C., Petrini, M., Paganelli, G., Bombardieri, E., Grana, C., Giovannoni, L., Neri, D., Messen, H.D., Mariani, G., 2012. Radioimmunotherapy with radretumab in patients with relapsed hematologic malignancies. *Journ. of Nuc. Med.* 53. 6, 922–927.
14. Forrer, F., Waldherr, C., Maecke, H.R., Mueller-Brand, J., 2006. Targeted radionuclide therapy with ⁹⁰Y-DOTATOC in patients with neuroendocrine tumors. *Anticanc. Res.* 26, 703–708.
15. Fujiki, M., Aucejo, F., Kim, R., 2013. Adjuvant treatment of hepatocellular carcinoma after orthotopic liver transplantation: do we really need this? *Clin. Transpl.* 27. 2, 169–177.
16. Garinchesa, P., Sakamoto, J., Welt, S., Real, F., Rettig, W., Old, L., 1996. Organ-specific expression of the colon cancer antigen A33, a cell surface target for antibody-based therapy. *Int. Journ. of Oncol.* 9. 3, 465–471.
17. Golden, E.B., Apetoh, L., 2015. Radiotherapy and immunogenic cell death. *Seminars in Radiation Oncology.* 25. 1, 11–17.
18. Goldenberg, D.M., Chang, C.H., Rossi, E.A., McBride, J.W., Sharkey, R.M., 2012. Pretargeted molecular imaging and radioimmunotherapy. *Theranostics.* 2. 5, 523–540.
19. Goldsmith, S.J., 2010. Radioimmunotherapy of lymphoma: Bexxar and Zevalin. *Sem. in Nuc. Med.* 40. 2, 122–135.
20. Govindan, S.V., Goldenberg, D.M., 2010. New antibody conjugates in cancer therapy. *The Scient. World J.* 10, 2070–2089
21. Gudkov, S.V., Gudkova, O.Y., Chernikov, A.V., Bruskov, V.I., 2009. Protection of mice against X-ray injuries by the post-irradiation

administration of guanosine and inosine. *Int. Journ. of Rad. Biol.* 85. 2, 116–125.

22. Gudkov, S.V., Popova, N.R., Bruskov, V.I., 2015. Radioprotectors: History, Trends and Prospects. *Biofizika.* 60. 4, 801–811.

23. Gudkov, S.V., Shilyagina, N.Y., Vodeneev, V.A., & Zvyagin, A.V., 2015. Targeted radionuclide therapy of human tumors. *International journal of molecular sciences.* 17. 1, 33.

24. Gudkov, S.V., Shtarkman, I.N., Smirnova, V.S., Chernikov, A.V., Bruskov, V.I., 2006. Guanosine and inosine display antioxidant activity, protect DNA in vitro from oxidative damage induced by reactive oxygen species, and serve as radioprotectors in mice. *Radiation Res.* 165, 538–545.

25. Han, S., Jin, G., Wang, L., Li, M., He, C., Guo, X., Zhu, Q., 2014. The role of PAM4 in the management of pancreatic cancer: diagnosis, radioimmunodetection, and radioimmunotherapy. *Journ. of Immunol. Res.* 2014. doi: 10.1155/2014/268479.

26. Hdeib, A., Sloan, A., 2012. Targeted radioimmunotherapy: the role of ¹³¹I-chTNT-1/B mAb (Cotara) for treatment of high-grade gliomas. *Fut. Oncol.* 8. 6, 659–669.

27. Hofmeister, V., Schrama, D., Becker, J.C., 2008. Anti-cancer therapies targeting the tumor stroma. *Cancer Immunol, Immunother.* 57. 1, 1-17.

28. Huang, C.Y., Pourgholami, M.H., Allen, B.J., 2012. Optimizing radioimmunoconjugate delivery in the treatment of solid tumor. *Canc. Treat. Rev.* 38. 7, 854-860.

29. Jabbour, E., O'Brien, S., Ravandi, F., Kantarjian, H., 2015. Monoclonal antibodies in acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* Vol. 125. 26, 4010–4016.

30. Jurcic, J.G., 2013. Radioimmunotherapy for hematopoietic cell transplantation. *Immunotherapy.* 5. 4, 383–394.

31. Kassis, A.I., Adelstein, S.J., 2005. Radiobiologic principles in radionuclide therapy. *Journal of Nuclear Medicine.* 46, 4S–12S.

32. Koon, H.B., Junghans, R.P., 2000. Anti-CD30 antibody-based therapy. *Curr. Opin. in Oncol.* 12. 6, 588–593.

33. Kraeber-Bodéré, F., Bodet-Milin, C., Rousseau, C., Eugène, T., Pallardy, A., Frampas, E., Carlier, T., Ferrer, L., Gaschet, J., Davodeau, F., Gestin, J.F., Faivre-Chauvet, A., Barbet, J., Chérel, M., 2014. Radioimmunoconjugates for the treatment of cancer. *Seminars in Oncol.* 41. 5, 613–622.

34. Kraeber-Bodéré, F., Rousseau, C., Bodet-Milin, C., Frampas, E., Faivre-Chauvet, A., Rauscher, A., Sharkey, R.M., Goldenberg, D.M., Chatal,

J.F., Barbet, J., 2015. A pretargeting system for tumor PET imaging and radioimmunotherapy. *Front. in Pharmacol.* Volume. 6, 54.

35. Kuroda, I., 2012. Effective use of strontium-89 in osseous metastases. *Annals of Nuclear Medicine.* 26. 3, 197–206.

36. Larson, S.M., Carrasquillo, J.A., Cheung, N.K., Press, O.W., 2015. Radioimmunotherapy of human tumours. *Nature Reviews Cancer.* 15. 6, 347–360.

37. Leonard, J.P., Coleman, M., Ketas, J.C., Chadburn, A., Furman, R., Schuster, M.W., Feldman, E.J., Ashe, M., Schuster, S.J., Wegener, W.A., Hansen, H.J., Ziccardi, H., Eschenberg, M., Gayko, U., Fields, S.Z., Cesano, A., Goldenberg, D.M., 2004. Epratuzumab, a humanized anti-CD22 antibody, in aggressive non-Hodgkin's lymphoma: phase I/II clinical trial results. *Clin. Canc. Res.* 10. 16, 5327–5334.

38. Liersch, T., Meller, J., Kulle, B., Behr, T.M., Markus, P., Langer, C., Ghadimi, B.M., Wegener, W.A., Kovacs, J., Horak, I.D., Becker, H., Goldenberg, D.M., 2005. Phase II trial of carcinoembryonic antigen radioimmunotherapy with ¹³¹I-labetuzumab after salvage resection of colorectal metastases in the liver: five-year safety and efficacy results. *Journ. of Clin. Oncol.* 23. 27, 6763–6770.

39. Liersch, T., Meller, J., Kulle, B., Behr, T.M., Markus, P., Langer, C., Ghadimi, B.M., Wegener, W.A., Kovacs, J., Horak, I.D., Becker, H., Goldenberg, D.M., 2005. Phase II trial of carcinoembryonic antigen radioimmunotherapy with ¹³¹I-labetuzumab after salvage resection of colorectal metastases in the liver: five-year safety and efficacy results. *Journ. of Clin. Oncol.* 23. 27, 6763–6770.

40. Nisa, L., Savelli, G., Giubbini, R., 2011. Yttrium-90 DOTATOC therapy in GEP-NET and other SST2 expressing tumors: a selected review. *Ann. of Nucl. Med.* 25. 2, 75–85.

41. Ogawa, K., Aoki, M., 2014. Radiolabeled apoptosis imaging agents for early detection of response to therapy. *The Scient. World J.* 2014, 1-11.

42. Pouget, J.P., Lozza, C., Deshayes, E., Boudousq, V., Navarro-Teulon, I., 2015. Introduction to radiobiology of targeted radionuclide therapy. *Frontiers in Medicine.* 2, 12.

43. Press, O.W., Shan, D., Howell-Clark, J., Eary, J., Appelbaum, F.R., Matthews, D., King, D.J., Haines, A.M., Hamann, P., Hinman, L., Shochat, D., Bernstein, I.D., 1996. Comparative metabolism and retention of iodine-125, yttrium-90, and indium-111 radioimmunoconjugates by cancer cells. *Cancer Research.* 56. 9, 2123–2129.

44. Qaim, S.M., 2001. Therapeutic radionuclides and nuclear data. *Radiochimica Acta*. 89, 297–302.
45. Raja, C., Graham, P., Abbas Rizvi, S.M., Song, E., Goldsmith, H., Thompson, J., Bosserhoff, A., Morgenstern, A., Apostolidis, C., Kearsley, J., Reisfeld, R., Allen, B.J., 2007. Interim analysis of toxicity and response in phase 1 trial of systemic targeted alpha therapy for metastatic melanoma. *Cancer Biology & Therapy*. 6, 6, 846–852.
46. Reilly, R.M., 1991. Radioimmunotherapy of malignancies. *Clinical Pharmacology*. 10, 5, 359–375.
47. Ronca, R., Sozzani, S., Presta, M., Alessi, P., 2009. Delivering cytokines at tumor site: The immunocytokine-conjugated anti-EDB-fibro-nectin antibody case. *Immunobiology*. 214, 9-10, 800–810.
48. Sánchez Ruiz, A.C., De la Cruz-Merino, L., Provencio Pulla, M., 2014. Role of consolidation with yttrium-90 ibritumomab tiuxetan in patients with advanced-stage follicular lymphoma. *Ther. Adv. in Hemat.* 5, 3, 78–90.
49. Sansovini, M., Severi, S., Ambrosetti, A., Monti, M., Nanni, O., Sarnelli, A., Bodei, L., Garaboldi, L., Bartolomei, M., Paganelli, G., 2013. Treatment with the radiolabelled somatostatin analog Lu-DOTATATE for advanced pancreatic neuroendocrine tumors. *Neuroendocrinology*. 97, 4, 347–354.
50. Scott, A.M., Wolchok, J.D., Old, L.J., 2012. Antibody therapy of cancer. *Nat. Rev. Cancer*. 12, 4, 278–287.
51. Seidl, C., 2014. Radioimmunotherapy with α -particle-emitting radionuclides. *Immunotherapy*. 6, 4, 431–458.
52. Seifert, R.P., Bulkeley, W. 3rd, Zhang, L., Menes, M., Bui, M.M., 2014. A practical approach to diagnose soft tissue myeloid sarcoma preceding or coinciding with acute myeloid leukemia. *Ann. of Diagn. Pathol.* 18, 4, 253–260.
53. Sfakianakis, G.N., DeLand, F.H., 1982. Radioimmunodiagnosis and radioimmunotherapy, 1982. *Journal of Nuclear Medicine*. 23, 9, pp.840–850.
54. Shah, M., Da Silva, R., Gravekamp, C., Libutti, S.K., Abraham, T., Dadachova, E., 2015. Targeted radionuclide therapies for pancreatic cancer. *Canc. Gene Ther.* 22, 8, 375–379.
55. Shapira, S., Fokra, A., Arber, N., Kraus, S., 2014. Peptides for diagnosis and treatment of colorectal cancer. *Curr. Med. Chem.* 21, 21, 2410–2416.
56. Slovin, S., 2015. Biomarkers for immunotherapy in genitourinary malignancies. *Urol. Oncol: Seminars and Original.* doi: 10.1016/j.urolonc.2015.02.007.

57. Tabata, R., Iwama, H., Tabata, C., Yasumizu, R., Kojima, M., 2014. CD5- and CD23-positive splenic diffuse large B-cell lymphoma with very low CD20 expression. *Journ. of Clin. and Experiment. Hematopath.* 54. 2, 155–161.

58. Tagawa, S.T., Milowsky, M.I., Morris, M., Vallabhajosula, S., Christos, P., Akhtar, N.H., Osborne, J., Goldsmith, S.J., Larson, S., Taskar, N.P., Scher, H.I., Bander, N.H., Nanus, D.M., 2013. Phase II study of Lutetium-177-labeled anti-prostate-specific membrane antigen monoclonal antibody J591 for metastatic castration-resistant prostate cancer. *Clin. Cancer Res.* 19. 18, 5182–5191.

59. Waldherr, C., Pless, M., Maecke, H.R., Schumacher, T., Crazzolara, A., Nitzsche, E.U., Haldemann, A., Mueller-Brand, J., 2002. Tumor response and clinical benefit in neuroendocrine tumors after 7.4 GBq (90)Y-DOTATOC. *Journ. of Nucl. Med.* 43. 5, 610–616.

60. Ward J. F. DNA damage produced by ionizing radiation in mammalian cells: Identities, mechanisms of formation and reparability. *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology* 1988; Volume 35, pp. 95–125.

61. Weiner, G.J., 2015. Building better monoclonal antibody-based therapeutics. *Nat. Rev. Cancer.* 15. 6, 361–370.

62. Zhang, M., Yao, Z., Zhang, Z., Garmestani, K., Talanov, V.S., Plascjak, P.S., Yu, S., Kim, H.S., Goldman, C.K., Paik, C.H., Brechbiel, M.W., Carrasquillo, J.A., Waldmann, T.A., 2006. The anti-CD25 monoclonal antibody 7G7/B6, armed with the alpha-emitter 211At, provides effective radioimmunotherapy for a murine model of leukemia. *Cancer Research.* 66. 16, 8227–8232.

Раздел 7. Влияние ионизирующих излучений на физиологические и молекулярные процессы у растений

1. Agarwal, R., Rane, S.S., Sainis, J.K., 2008. Effects of (60)Co Gamma Radiation on Thylakoid Membrane Functions in *Anacystis Nidulans*. *J Photochem Photobiol B.* 91, 9-19. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2008.01.006.

2. Ahuja, S., Singh, B., Gupta, V.K., Singhal, R.K., Venu Babu, P., 2014. Very Low Dose Gamma Irradiation Stimulates Gaseous Exchange and Carboxylation Efficiency, but Inhibits Vascular Sap Flow in Groundnut (*Arachis Hypogaea L.*). *Int J Radiat Biol.* 90, 179-186. doi: 10.3109/09553002.2014.868615.

3. Alikamanoglu, S., Yaycili, O., Sen, A., 2011. Effect of Gamma Radiation on Growth Factors, Biochemical Parameters, and Accumulation of

Trace Elements in Soybean Plants (*Glycine Max L. Merrill*). *Biol Trace Elem Res.* 141, 283-293. doi: 10.1007/s12011-010-8709-y.

4. Ananthaswamy, H.N., Vakil, U.K., Sreenivasan, A., 1971. Biochemical and physiological changes in gamma-irradiated wheat during germination. *Radiat. Bot.* 11, 1–12. [https://doi.org/10.1016/s0033-7560\(71\)91257-9](https://doi.org/10.1016/s0033-7560(71)91257-9)

5. Araujo, W.L., Nunes-Nesi, A., Fernie, A.R., 2014. On the Role of Plant Mitochondrial Metabolism and Its Impact on Photosynthesis in Both Optimal and Sub-Optimal Growth Conditions. *Photosynth Res.* 119, 141-156. doi: 10.1007/s11120-013-9807-4.

6. Arena, C., De Micco, V., De Maio, A., 2014. Growth Alteration and Leaf Biochemical Responses in *Phaseolus Vulgaris* Exposed to Different Doses of Ionising Radiation. *Plant Biol (Stuttg)*. 16 Suppl 1, 194-202. doi: 10.1111/plb.12076.

7. Ashraf, M., A. Cheema, A., Rashid, M., Qamar, Z.-U.-Q., 2003. Effect of Gamma Rays on M1 Generation in Basmati Rice. *Pak J Bot.* 35, 791-795.

8. Ben Salem, I., Fekih, S., Sghaier, H., Bousselmi, M., Saidi, M., Landoulsi, A., Fattouch, S., 2013. Effect of Ionising Radiation on Polyphenolic Content and Antioxidant Potential of Parathion-Treated Sage (*Salvia Officinalis*) Leaves. *Food Chem.* 141, 1398–1405. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.04.008.

9. Benderitter, M., Vincent-Genod, L., Pouget, J.P., Voisin, P., 2003. The Cell Membrane as a Biosensor of Oxidative Stress Induced by Radiation Exposure: A Multiparameter Investigation. *Radiat Res.* 159, 471-483.

10. Beyaz, R., Kahramanogullari, C.T., Yildiz, C., Darcin, E.S., Yildiz, M., 2016. The Effect of Gamma Radiation on Seed Germination and Seedling Growth of *Lathyrus Chrysanthus* Boiss. Under in Vitro Conditions. *J Environ Radioact.* 162-163, 129-133. doi: 10.1016/j.jenvrad.2016.05.006.

11. Biermans, G., Horemans, N., Vanhoudt, N., Vandenhove, H., Saenen, E., Van Hees, M., Wannijn, J., Vangronsveld, J., Cuypers, A., 2015. Biological Effects of Alpha-Radiation Exposure by (241)Am in *Arabidopsis Thaliana* Seedlings Are Determined Both by Dose Rate and (241)Am Distribution. *J Environ Radioact.* 149, 51-63. doi: 10.1016/j.jenvrad.2015.07.007.

12. Bitarishvili, S., Volkova, P., Geras'kin, S., 2018. Γ -Irradiation of Barley Seeds and Its Effect on the Phytohormonal Status of Seedlings. *Russ J Plant Physiol.* 65, 446-454. doi: 10.1134/S1021443718020024.

13. Blaser, S., Schluter, S., Vetterlein, D., 2018. How Much Is Too Much?-Influence of X-Ray Dose on Root Growth of Faba Bean (*Vicia Faba*)

and Barley (*Hordeum Vulgare*). PLoS One. 13, e0193669. doi: 10.1371/journal.pone.0193669.

14. Bode, R., Ivanov, A.G., Huner, N.P., 2016. Global Transcriptome Analyses Provide Evidence That Chloroplast Redox State Contributes to Intracellular as Well as Long-Distance Signalling in Response to Stress and Acclimation in *Arabidopsis*. *Photosynth Res.* 128, 287-312. doi: 10.1007/s11120-016-0245-y.

15. Braunstein, S., Badura, M.L., Xi, Q., Formenti, S.C., Schneider, R.J., 2009. Regulation of protein synthesis by ionizing radiation. *Mol. Cell Biol.* 29, 5645–5656. <https://doi.org/10.1128/mcb.00711-09>.

16. Breslavets, L.B., 1946. *Plants and X-Rays*. Acad. Sci. U.S.S.R. Press (Translation American Institute of Biological Sciences 1960.), Moscow.

17. Caplin, N., Willey, N., 2018. Ionizing Radiation, Higher Plants, and Radioprotection: From Acute High Doses to Chronic Low Doses. *Front Plant Sci.* 9, 847. doi: 10.3389/fpls.2018.00847.

18. Chandorkar, K.R., Clark, G.M., 1986. Physiological and Morphological Responses of *Pinus Strobus* L. And *Pinus Sylvestris* L. Seedlings Subjected to Low-Level Continuous Gamma Irradiation at a Radioactive Waste Disposal Area. *Environ Exp Bot.* 26, 259-270. doi: 10.1016/0098-8472(86)90038-9.

19. Chen, Q.F., Ya, H.Y., Feng, Y.R., Jiao, Z., 2014. Expression of the Key Genes Involved in Aba Biosynthesis in Rice Implanted by Ion Beam. *Appl Biochem Biotechnol.* 173, 239-247. doi: 10.1007/s12010-014-0837-y.

20. Chen, Q.F., Ya, H.Y., Feng, Y.R., Jiao, Z., 2014. Expression of the key genes involved in ABA biosynthesis in rice implanted by ion beam. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 173, 239–247. <https://doi.org/10.1007/s12010-014-0837-y>.

21. Cohen, I., Sapir, Y., Shapira, M., 2006. A Conserved Mechanism Controls Translation of Rubisco Large Subunit in Different Photosynthetic Organisms. *Plant Physiol.* 141, 1089-1097. doi: 10.1104/pp.106.079046.

22. Culligan, K.M., Robertson, C.E., Foreman, J., Doerner, P., Britt, A.B., 2006. Atr and Atm Play Both Distinct and Additive Roles in Response to Ionizing Radiation. *Plant J.* 48, 947-961. doi: 10.1111/j.1365-313X.2006.02931.x.

23. Dartnell, L.R., Storrie-Lombardi, M.C., Mullineaux, C.W., Ruban, A.V., Wright, G., Griffiths, A.D., Muller, J.P., Ward, J.M., 2011. Degradation of Cyanobacterial Biosignatures by Ionizing Radiation. *Astrobiology.* 11, 997-1016. doi: 10.1089/ast.2011.0663.

24. De Micco, V., Arena, C., Aronne, G., 2014a. Anatomical Alterations of *Phaseolus Vulgaris* L. Mature Leaves Irradiated with X-Rays. *Plant Biol* (Stuttg). 16 Suppl 1, 187-193. doi: 10.1111/plb.12125.
25. De Micco, V., Arena, C., Pignalosa, D., Durante, M., 2011. Effects of Sparsely and Densely Ionizing Radiation on Plants. *Radiat Environ Biophys.* 50, 1-19. doi: 10.1007/s00411-010-0343-8.
26. De Micco, V., Paradiso, R., Aronne, G., De Pascale, S., Quarto, M., Arena, C., 2014b. Leaf Anatomy and Photochemical Behaviour of *Solanum Lycopersicum* L. Plants from Seeds Irradiated with Low-Let Ionising Radiation. *ScientificWorldJournal.* 2014, 428141. doi: 10.1155/2014/428141.
27. Deng, C., Wang, T., Wu, J., Xu, A., Li, H., Liu, M., Wu, L., Lu, J., Bian, P., 2017. Modulation of modeled microgravity on radiation-induced adaptive response of root growth in *Arabidopsis thaliana*. *Mutat. Res.* 796. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2017.02.002>.
28. Desai, A.S., Rao, S., 2014. Effect of Gamma Radiation on Germination and Physiological Aspects of Pigeon Pea (*Cajanus Cajan* (L.) Millsp) Seedlings. *IMPACT: IJRANSS.* 2, 47-52.
29. Dixit, A.K., Bhatnagar, D., Kumar, V., Rani, A., Manjaya, J.G., Bhatnagar, D., 2010. Gamma Irradiation Induced Enhancement in Isoflavones, Total Phenol, Anthocyanin and Antioxidant Properties of Varying Seed Coat Colored Soybean. *J Agric Food Chem.* 58, 4298-4302. doi: 10.1021/jf904228e.
30. Donini, B., Scarascia Mugnozza, G.T., D'amato, F., 1964. Effects of chronic gamma irradiation in durum and bread wheats. *Radiat. Bot.* 4, 387-393. [https://doi.org/10.1016/s0033-7560\(64\)80005-3](https://doi.org/10.1016/s0033-7560(64)80005-3).
31. El-Beltagi, H.S., Ahmed, O.K., El-Desouky, W., 2011. Effect of Low Doses Γ -Irradiation on Oxidative Stress and Secondary Metabolites Production of Rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.) Callus Culture. *Radiat Phys Chem.* 80, 968-976. doi: 10.1016/j.radphyschem.2011.05.002.
32. Esch, H., Miltenburger, H., Hug, O., 1964. Die Beeinflussung Elektrischer Potentiale Von Algenzellen Durch Röntgenstrahlen. *Biophysik.* 1, 380-388. doi: 10.1007/BF01191329.
33. Fan, J., Shi, M., Huang, J.-Z., Xu, J., Wang, Z.-D., Guo, D.-P., 2014. Regulation of Photosynthetic Performance and Antioxidant Capacity by 60co Γ -Irradiation in *Zizania Latifolia* Plants. *J Environ Radioact.* 129, 33-42. doi: 10.1016/j.jenvrad.2013.11.013.
34. Fortunati, A., Tassone, P., Damasso, M., Migliaccio, F., 2010. Neutron Irradiation Affects the Expression of Genes Involved in the Response to Auxin, Senescence and Oxidative Stress in *Arabidopsis*. *Plant Signal Behav.* 5, 959-967.

35. Foyer, C.H., Noctor, G., 2011. Ascorbate and Glutathione: The Heart of the Redox Hub. *Plant Physiol.* 155, 2-18. doi: 10.1104/pp.110.167569.
36. Fromm, J., Lautner, S., 2007. Electrical Signals and Their Physiological Significance in Plants. *Plant Cell Environ.* 30, 249-257. doi: 10.1111/j.1365-3040.2006.01614.x.
37. Geras'kin, S., Vasiliyev, D., Makarenko, E., Volkova, P., Kuzmenkov, A., 2017. Influence of Long-Term Chronic Exposure and Weather Conditions on Scots Pine Populations. *Environ Sci Pollut Res Int.* 24, 11240-11253. doi: 10.1007/s11356-017-8692-3.
38. Geraskin, S.A., Dikarev, V.G., Zyablitskaya, Y.Y., Oudalova, A.A., Spirin, Y.V., Alexakhin, R.M., 2003. Genetic Consequences of Radioactive Contamination by the Chernobyl Fallout to Agricultural Crops. *J Environ Radioact.* 66, 155-169. doi: 10.1016/s0265-931x(02)00121-2.
39. Gicquel, M., Taconnat, L., Renou, J.P., Esnault, M.A., Cabello-Hurtado, F., 2012. Kinetic Transcriptomic Approach Revealed Metabolic Pathways and Genotoxic-Related Changes Implied in the Arabidopsis Response to Ionising Radiations. *Plant Sci.* 195, 106-119. doi: 10.1016/j.plantsci.2012.06.015.
40. Gordon, S.A., 1957. The Effects of Ionizing Radiation on Plants: Biochemical and Physiological Aspects. *Q Rev Biol.* 32, 3-14.
41. Gordon, S.A., Buess, E.M., 1973. Correlative Inhibition of Root Emergence in the Gamma-Irradiated *Coleus* Leaf—Iii. Effects of Auxin on the Radiation-Induced Changes in Rna, Rna Metabolism, and Rooting. *Radiat Bot.* 13, 283-286. doi: 10.1016/S0033-7560(73)90368-2.
42. Gordon, S.A., Weber, R.P., 1955. Studies on the mechanism of phytohormone damage by ionizing radiation. I. The radiosensitivity of indoleacetic acid. *Plant Physiol.* 30, 200–210. <https://doi.org/10.1104/pp.30.3.200>.
43. Gudkov, S. V., Grinberg, M. A., Sukhov, V., & Vodeneev, V., 2019. Effect of ionizing radiation on physiological and molecular processes in plants. *Journ. of Env. Radioact.* 202, 8-24.
44. Hadley, E.B., Woodwell, G.M., 1965. Effects of Ionizing Radiation on Rates of Co2 Exchange of Pine Seedlings. *Radiat Res.* 24, 650-656.
45. Hong, M.J., Kim, J.B., Yoon, Y.H., Kim, S.H., Ahn, J.W., Jeong, I.Y., Kang, S.Y., Seo, Y.W., Kim, D.S., 2014. The Effects of Chronic Gamma Irradiation on Oxidative Stress Response and the Expression of Anthocyanin Biosynthesis-Related Genes in Wheat (*Triticum Aestivum*). *Int J Radiat Biol.* 90, 1218-1228. doi: 10.3109/09553002.2014.934930.

46. Hug, O., Miltenburger, H., 1962. Strahlen Induzierte Turgorbewegungen (Radionastien) Bei Mimosa Und Andere Sensitive Pflanzen. *The Science of Nature*. 49, 499-500. doi: 10.1007/BF00637047.
47. Hug, O., Miltenburger, H., Esch, H., 1964. Elektrophysiologische Begleiterscheinungen Strahleninduzierter Bewegungen Bei Mimosen. *Biophysik*. 1, 374-379. doi: 10.1007/BF01191328.
48. Jan, S., Parween, T., Siddiqi, T.O., Mahmooduzzafar, 2012. Anti-Oxidant Modulation in Response to Gamma Radiation Induced Oxidative Stress in Developing Seedlings of *Psoralea Corylifolia* L. *J Environ Radioact*. 113, 142-149. doi: 10.1016/j.jenvrad.2012.05.019.
49. Katicheva, L., Sukhov, V., Akinchits, E., Vodenev, V., 2014. Ionic Nature of Burn-Induced Variation Potential in Wheat Leaves. *Plant Cell Physiol*. 55, 1511-1519. doi: 10.1093/pcp/pcu082.
50. Kebeish, R., Deef, H., El-Bialy, N., 2015. Effects of Gamma Radiation on Growth, Oxidative Stress, Antioxidant System, and Alliin Producing Gene Transcripts in *Allium Sativum*. *IJRSB*. 3.
51. Kim, D.S., Kim, J.B., Goh, E.J., Kim, W.J., Kim, S.H., Seo, Y.W., Jang, C.S., Kang, S.Y., 2011a. Antioxidant Response of Arabidopsis Plants to Gamma Irradiation: Genome-Wide Expression Profiling of the Ros Scavenging and Signal Transduction Pathways. *J Plant Physiol*. 168, 1960-1971. doi: 10.1016/j.jplph.2011.05.008.
52. Kim, J.-H., Baek, M.-H., Yeoup Chung, B., Wi, S.G., Kim, J.-S., 2004. Alterations in the Photosynthetic Pigments and Antioxidant Machineries of Red Pepper (*Capsicum Annuum* L.) Seedlings from Gamma-Irradiated Seeds. *J Plant Biol*. 47, 314-321. doi: 10.1007/BF03030546.
53. Kim, J.-H., Hee Lee, M., Ran Moon, Y., Kim, J.-S., Wi, S.G., Hoon Kim, T., Yeoup Chung, B., 2009. Characterization of Metabolic Disturbances Closely Linked to the Delayed Senescence of Arabidopsis Leaves after Γ Irradiation. *Environ Exp Bot*. 67, 363-371. doi: 10.1016/j.envexpbot.2009.07.001.
54. Kim, J.H., Moon, Y.R., Kim, J.S., Oh, M.H., Lee, J.W., Chung, B.Y., 2007. Transcriptomic Profile of Arabidopsis Rosette Leaves During the Reproductive Stage after Exposure to Ionizing Radiation. *Radiat Res*. 168, 267-280. doi: 10.1667/rr0963.1.
55. Kim, J.H., Moon, Y.R., Lee, M.H., Kim, J.H., Wi, S.G., Park, B.J., Kim, C.S., Chung, B.Y., 2011b. Photosynthetic Capacity of Arabidopsis Plants at the Reproductive Stage Tolerates Gamma Irradiation. *J Radiat Res*. 52, 441-449. doi: 10.1269/jrr.10157.

56. Kim, S.H., Song, M., Lee, K.J., Hwang, S.G., Jang, C.S., Kim, J.B., Kim, S.H., Ha, B.K., Kang, S.Y., Kim, D.S., 2012. Genome-Wide Transcriptome Profiling of Ros Scavenging and Signal Transduction Pathways in Rice (*Oryza Sativa* L.) in Response to Different Types of Ionizing Radiation. *Mol Biol Rep.* 39, 11231-11248. doi: 10.1007/s11033-012-2034-9.
57. Kohli, A., Sreenivasulu, N., Lakshmanan, P., Kumar, P.P., 2013. The phytohormone crosstalk paradigm takes center stage in understanding how plants respond to abiotic stresses. *Plant Cell Rep.* 32, 945–957. <https://doi.org/10.1007/s00299-013-1461-y>.
58. Kohn, H.I., McLeod, G.C., A., W.K., 1967. Inhibition of Chlorophyll a and B Synthesis in *Chlamydomonas Reinhardi* Mutant Strain Y-2 by Ionizing Radiation. *Radiat Bot.* 7, 123-128. doi: 10.1016/s0033-7560(67)80006-1.
59. Kovalchuk, I., Abramov, V., Pogribny, I., Kovalchuk, O., 2004. Molecular Aspects of Plant Adaptation to Life in the Chernobyl Zone. *Plant Physiol.* 135, 357-363. doi: 10.1104/pp.104.040477.
60. Kovalchuk, I., Molinier, J., Yao, Y., Arkhipov, A., Kovalchuk, O., 2007. Transcriptome Analysis Reveals Fundamental Differences in Plant Response to Acute and Chronic Exposure to Ionizing Radiation. *Mutat Res.* 624, 101-113. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2007.04.009.
61. Kreslavskii, V., Los, D., Allakhverdiev, S., Kuznetsov, V., 2012. Signaling Role of Reactive Oxygen Species in Plants under Stress. *Russ J Plant Physl.* 59, 141–154. doi: 10.1134/S1021443712020057.
62. Kumar, P., Sharma, V., Atmaram, C.K., Singh, B., 2017. Regulated Partitioning of Fixed Carbon (¹⁴C), Sodium (Na⁽⁺⁾), Potassium (K⁽⁺⁾) and Glycine Betaine Determined Salinity Stress Tolerance of Gamma Irradiated Pigeonpea [*Cajanus Cajan* (L.) Millsp]. *Environ Sci Pollut Res Int.* 24, 7285-7297. doi: 10.1007/s11356-017-8406-x.
63. Kuzin, A.M., Kopylov, V.A., Vagabova, M.E., 1976. [Molecular Mechanisms Stimulating the Action of Ionizing Radiation on Seeds. 3. Role of Radiotoxins in Stimulating the Development of Irradiated Seeds]. *Radiobiologiya.* 16, 261-264.
64. Ling, A.P.K., Chia, J.Y., Hussein, S., Harun, A.R., 2008. Physiological Responses of Citrus Sinensis to Gamma Irradiation. *World Appl Sci J.* 5, 12–19.
65. Lü, X., de la Peña, L., Barker, C., Camphausen, K., Tofilon, P.J., 2006. Radiation-induced changes in gene expression involve recruitment of existing messenger RNAs to and away from polysomes. *Cancer Res.* 66, 1052–1061. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-05-3459>

66. Macovei, A., Garg, B., Raikwar, S., Balestrazzi, A., Carbonera, D., Buttafava, A., Bremont, J.F., Gill, S.S., Tuteja, N., 2014. Synergistic Exposure of Rice Seeds to Different Doses of Gamma-Ray and Salinity Stress Resulted in Increased Antioxidant Enzyme Activities and Gene-Specific Modulation of Tc-Ner Pathway. *Biomed Res Int.* 2014, 676934. doi: 10.1155/2014/676934.
67. Marcu, D., Cristea, V., Daraban, L., 2013a. Dose-Dependent Effects of Gamma Radiation on Lettuce (*Lactuca Sativa* Var. *Capitata*) Seedlings. *Int J Radiat Biol.* 89, 219-223. doi: 10.3109/09553002.2013.734946.
68. Marcu, D., Damian, G., Cosma, C., Cristea, V., 2013b. Gamma Radiation Effects on Seed Germination, Growth and Pigment Content, and ESR Study of Induced Free Radicals in Maize (*Zea Mays*). *J Biol Phys.* 39, 625-634. doi: 10.1007/s10867-013-9322-z.
69. McCabe, J., Shelp, B., Ursino, D.J., 1979. Photosynthesis and Photophosphorylation in Radiation-Stressed Soybean Plants and the Relation of These Processes to Photoassimilate Export. *Environ Exp Bot.* 19, 253-261. doi: 10.1016/0098-8472(79)90027-3.
70. Mehta, R.A., Fawcett, T.W., Porath, D., Mattoo, A.K., 1992. Oxidative Stress Causes Rapid Membrane Translocation and in Vivo Degradation of Ribulose-1,5-Bisphosphate Carboxylase/Oxygenase. *J Biol Chem.* 267, 2810-2816.
71. Meng, X., Zhang, S., 2013. MAPK cascades in plant disease resistance signaling. *Annu. Rev. Phytopathol.* 51, 245-266.
72. Miller, G., Schlauch, K., Tam, R., Cortes, D., Torres, M.A., Shulaev, V., Dangl, J.L., Mittler, R., 2009. The Plant NADPH Oxidase RbohD Mediates Rapid Systemic Signaling in Response to Diverse Stimuli. *Sci Signal.* 2, ra45. doi: 10.1126/scisignal.2000448.
73. Mittler, R., 2017. Ros Are Good. *Trends Plant Sci.* 22, 11-19. doi: 10.1016/j.tplants.2016.08.002.
74. Mohammed, A.H.M.A., Mohamed, H.I., Zaki, L.M., Mogazy, A., 2012. Pre-Exposure to Gamma Rays Alleviates the Harmful Effect of Salinity on Cowpea Plants. *J Stress Physiol Biochem.* 8, 199-217.
75. Nagata, T., Todoriki, S., Hayashi, T., Shibata, Y., Mori, M., Kanegae, H., Kikuchi, S., 1999. Gamma-Radiation Induces Leaf Trichome Formation in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 120, 113-120.
76. Noctor, G., Reichheld, J.P., Foyer, C.H., 2018. Ros-Related Redox Regulation and Signaling in Plants. *Semin Cell Dev Biol.* 80, 3-12. doi: 10.1016/j.semcdb.2017.07.013.

77. Ozolina, N., V. Kolesnikova, E., Nurminsky, V., S. Nesterkina, I., Dudareva, L., V. Tretyakova, A., K. Salyaev, R., 2011. Redox Dependence of Transport Activity of Tonoplast Proton Pumps: Effects of Nitric Oxide Exposure During Ontogenesis and under Hypoosmotic and Hyperosmotic Stress. *Biochem. Moscow Suppl. Ser. A.* 5, 258-262. doi: 10.1134/S1990747811040088.

78. Parups, E.V., 1969. Involvement of Free Radicals in the Oxidative Degradation of Indole-3-Acetic Acid. *Can J Biochem.* 47, 220-224.

79. Pervan, M., Iwamoto, K.S., McBride, W.H., 2005. Proteasome structures affected by ionizing radiation. *Mol. Canc. Res.* 3, 381-390. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.mcr-05-0032>.

80. Qi, W., Zhang, L., Feng, W., Xu, H., Wang, L., Jiao, Z., 2015. Ros and Aba Signaling Are Involved in the Growth Stimulation Induced by Low-Dose Gamma Irradiation in Arabidopsis Seedling. *Appl Biochem Biotechnol.* 175, 1490-1506. doi: 10.1007/s12010-014-1372-6.

81. Queval, G., Foyer, C.H., 2012. Redox Regulation of Photosynthetic Gene Expression. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 367, 3475-3485. doi: 10.1098/rstb.2012.0068.

82. Ren, J., Liu, L., Jin, X.L., Fu, S.L., Ding, Z.C., 2014. Physiological and Morphological Responses Induced by Alpha-Particle Radiation on Arabidopsis Thaliana Embryos. *Genet Mol Res.* 13, 9569-9577. doi: 10.4238/2014.November.12.5.

83. Russell, E.J., 1915. The Effect of Radium on the Growth of Plants. *Nature.* 96, 147-148.

84. Sahr, T., Voigt, G., Schimmack, W., Paretzke, H.G., Ernst, D., 2005. Low-Level Radiocaesium Exposure Alters Gene Expression in Roots of Arabidopsis. *New Phytol.* 168, 141-148. doi: 10.1111/j.1469-8137.2005.01485.x.

85. Sax, K., 1963. The Stimulation of Plant Growth by Ionizing Radiation. *Radiat Bot.* 3, 179-186.

86. Shabala, S., Baekgaard, L., Shabala, L., Fuglsang, A., Babourina, O., Palmgren, M.G., Cuin, T.A., Rengel, Z., Nemchinov, L.G., 2011. Plasma Membrane Ca(2)+ Transporters Mediate Virus-Induced Acquired Resistance to Oxidative Stress. *Plant Cell Environ.* 34, 406-417. doi: 10.1111/j.1365-3040.2010.02251.x.

87. Shelp, B., McCabe, J., Ursino, D.J., 1979. Radiation-Induced Changes in the Export and Distribution of Photoassimilated Carbon in Soybean Plants. *Environ Exp Bot.* 19, 245-252. doi: 10.1016/0098-8472(79)90026-1.

88. Shirley, B.W., Hanley, S., Goodman, H.M., 1992. Effects of Ionizing Radiation on a Plant Genome: Analysis of Two *Arabidopsis* Transparent Testa Mutations. *Plant Cell*. 4, 333–347. doi: 10.1105/tpc.4.3.333.
89. Simonis, W., 1966. Physiological Problems Related to the Effects of Small Doses of Radiation on Plants, in: (Eds.), *Effects of Low Doses of Radiation on Crop Plants*. INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY (IAEA), Vienna, pp. 39–46.
90. Singh, B., Ahuja, S., Singhal, R., Venu Babu, P., 2013. Effect of Gamma Radiation on Wheat Plant Growth Due to Impact on Gas Exchange Characteristics and Mineral Nutrient Uptake and Utilization. *J Radioanal Nucl Chem*. 298, doi: 10.1007/s10967-012-2342-5.
91. Sparrow, A.H., Miksche, J.P., 1961. Correlation of Nuclear Volume and DNA Content with Higher Plant Tolerance to Chronic Radiation. *Science*. 134, 282–283. doi: 10.1126/science.134.3474.282.
92. Stoeva, N., Bineva, T.Z., 2001. Modifying Effect of Diphenylurea on Gamma-Irradiated Seeds of Beans (*Phaseolus Vulgaris* L.). *J Environ Prot Ecol*. 2, 293–298.
93. Sukhov, V., 2016. Electrical Signals as Mechanism of Photosynthesis Regulation in Plants. *Photosynth Res*. 130, 373–387. doi: 10.1007/s11120-016-0270-x.
94. Taheri, S., Abdullah, T.L., Karimi, E., Oskoueian, E., Ebrahimi, M., 2014. Antioxidant Capacities and Total Phenolic Contents Enhancement with Acute Gamma Irradiation in *Curcuma Alismatifolia* (Zingiberaceae) Leaves. *Int J Mol Sci*. 15, 13077-13090. doi: 10.3390/ijms150713077.
95. Thiede, M.E., Link, S.O., Fellows, R.J., Beedlow, P.A., 1995. Effects of Gamma Radiation on Stem Diameter Growth, Carbon Gain and Biomass Partitioning in *Helianthus Annuus*. *Environ Exp Bot*. 35, 33–41.
96. Timofeev-Resovsky, N.V., Poryadkova, N.A., 1956. On Radiostimulation of Plants. *Botan Zhur*. 41, 1620-1623.
97. Ursino, D.J., 1973. Effects of Chronic Internal Beta-Radiation from Photoassimilated Co(2) on the Retention and Distribution of C in Young White Pine Plants. *Plant Physiol*. 51, 954–959.
98. Ursino, D.J., Moss, A., Stimac, J., 1974. Changes in the Rates of Apparent Photosynthesis in 21% and 1% Oxygen and of Dark Respiration Following a Single Exposure of Three-Year-Old *Pinus Strobus* L. Plants to Gamma Radiation. *Radiat Bot*. 14, 117–125. doi: 10.1016/S0033-7560(74)90317-2.
99. Ursino, D.J., Schefski, H., Latour, P.W., 1977a. Translocation of Photoassimilates in Gamma-Irradiated Soybean Plants. *Environ Exp Bot*. 17, 35–42. doi: 10.1016/0098-8472(77)90018-1.

100. Ursino, D.J., Schefski, H., McCabe, J., 1977b. Radiation-Induced Changes in Rates of Photosynthetic Co₂ Uptake in Soybean Plants. *Environ Exp Bot.* 17, 27–34. doi: 10.1016/0098-8472(77)90017-X.
101. van de Walle, J., Horemans, N., Saenen, E., Van Hees, M., Wannijn, J., Nauts, R., van Gompel, A., Vangronsveld, J., Vandenhove, H., Cuypers, A., 2016. Arabidopsis Plants Exposed to Gamma Radiation in Two Successive Generations Show a Different Oxidative Stress Response. *J Environ Radioact.* 165, 270–279. doi: 10.1016/j.jenvrad.2016.10.014.
102. Van Hoeck, A., Horemans, N., Nauts, R., Van Hees, M., Vandenhove, H., Blust, R., 2017. Lemna Minor Plants Chronically Exposed to Ionising Radiation: Rna-Seq Analysis Indicates a Dose Rate Dependent Shift from Acclimation to Survival Strategies. *Plant Sci.* 257, 84-95. doi: 10.1016/j.plantsci.2017.01.010.
103. Van Hoeck, A., Horemans, N., Van Hees, M., Nauts, R., Knapen, D., Vandenhove, H., Blust, R., 2015. Beta-Radiation Stress Responses on Growth and Antioxidative Defense System in Plants: A Study with Strontium-90 in Lemna Minor. *Int J Mol Sci.* 16, 15309-15327. doi: 10.3390/ijms160715309.
104. Vanhoudt, N., Horemans, N., Wannijn, J., Nauts, R., Van Hees, M., Vandenhove, H., 2014. Primary Stress Responses in Arabidopsis Thaliana Exposed to Gamma Radiation. *J Environ Radioact.* 129, 1–6. doi: 10.1016/j.jenvrad.2013.11.011.
105. Vanhoudt, N., Vandenhove, H., Horemans, N., Wannijn, J., Van Hees, M., Vangronsveld, J., Cuypers, A., 2010. The Combined Effect of Uranium and Gamma Radiation on Biological Responses and Oxidative Stress Induced in Arabidopsis Thaliana. *J Environ Radioact.* 101, 923-930. doi: 10.1016/j.jenvrad.2010.06.008.
106. Vardhan, P.V., Shukla, L.I., 2017. Gamma Irradiation of Medicinally Important Plants and the Enhancement of Secondary Metabolite Production. *Int J Radiat Biol.* 93, 967-979. doi: 10.1080/09553002.2017.1344788.
107. Vasilenko, A., Zhadko, S., Sidorenko, P.G., 1993. Alteration in Lipid Peroxidation in Plant Cells after Accelerated Ion Irradiation, in: Swenberg, C.E., Horneck, G., Stassinopoulos, E.G. (Eds.), *Biological Effects and Physics of Solar and Galactic Cosmic Radiation: Part A.* Springer US, pp. 155-159. doi: 10.1007/978-1-4615-2918-7.
108. Vener, A.V., Ohad, I., Andersson, B., 1998. Protein Phosphorylation and Redox Sensing in Chloroplast Thylakoids. *Curr Opin Plant Biol.* 1, 217-223.
109. Vodeneev, V., Akinchits, E., Sukhov, V., 2015. Variation Potential in Higher Plants: Mechanisms of Generation and Propagation. *Plant Signal Behav.* 10, e1057365. doi: 10.1080/15592324.2015.1057365.

7. Москалев, Ю.И., Журавлев, В.Ф., 1983. Атомная энергия. 55, 306–310.
8. Перцов, Л.А., 1978. Биологические аспекты радиоактивного загрязнения моря. Атомиздат. 160.
9. Пикаев, А.К., 1986. Современная радиационная химия. Наука. 439.
10. Смыслов, А.А., 1974. Уран и торий в земной коре. Недра. 232.
11. Титаева Н.А., 2000. Ядерная геохимия. Изд-во МГУ. 336.
12. Хамидуллина, Л.А., Лотник, С.В., 2013. Кинетика и катализ. 54, 420–424.
13. Хэнсон, У.С., 1985. Трансурановые элементы в окружающей среде. Мир. 344.
14. Черноруков, Н.Г., Нипрук, О.В., 2010. Уран. Прошлое, настоящее и будущее. ННГУ. 52.
15. Asadullina, N.R., Usacheva, A.M., Smirnova, V.S., et al., 2010. Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids. 29, 786–799.
16. Baker, R.J., 2012. Chemistry. 18, 16258–16271.
17. Bleise, A., Danesi, P.R., Burkart, W. J., 2003. Environment. Radioact. 64, 93–112.
18. Bogers, R.P., van Leeuwen, F.E., Grievink, L. et al., 2013. Cancer Epidemiol. 37, 550-555.
19. Borrmann, R., 2010. Med. Confl. Surviv. 26, 268–280.
20. Brugge, D., Buchner, V., 2011. Rev. Environment Health. 26, 231–249.
21. Bruskov, V.I., Malakhova, L.V., Masalimov, Zh.K., et al., 2002. Nucleic Acids Res. 30, 1354–1363.
22. Bruskov, V.I., Karp, O.E., Garmash, S.A., et al., 2012. Free Radic. Res. 46, 1280 – 1290.
23. Bruskov, V.I., Popova, N.R., Ivanov, V.E., et al., 2014. Biochem. Biophys. Res. Commun. 443, 957–961.
24. Darolles, C., Broggio, D., Feugier, A., et al., 2010. Toxicol. Lett. 192, 337–348.
25. Domingo, J.L., 2001. Reprod. Toxicol. 15, 603–609.
26. Fathi, R.A., Matti, L.Y., Al-Salih, H.S., et al., 2013. Med. Confl. Surviv. 29, 7-25.
27. Fox, A.R., Bart, S.C., Meyer, K., et al., 2008. Nature. 455, 341–349.
28. Garmash, S.A., Smirnova, V.S., Karp O.E., et al., 2014. J. Environ. Radioact. 127, 163–170.

29. Gudkov, S.V., Garmash, S.A., Shtarkman, I.N., et al., 2010. Dokl. Biochem. Biophys. 430, 1–4.
30. Hao, Y., Li R., Leng, Y., et al., 2012. J. Radiat. Res. 53, 377–384.
31. Hao, Y., Ren, J., Liu, J., et al., 2012. Clin. Pharmacol. Toxicol. 111, 402–410.
32. Harley, N.H., 2000. Health Phys. 79, 121–128.
33. Hartsock, W.J., Cohen J.D., Segal, D.J., 2007. Chem. Res. Toxicol., 20, 784–789.
34. Hu, Q., Zhu, S., 1990. Mutat. Res. 244, 209–214.
35. LaCerte, C., Xie, H., Aboueissa, A.M., et al., 2010. Mutat. Res. 697, 33–37.
36. Liu, G., Men, P., Kenner, G.H., 2011. Hemoglobin. 35, 291–300.
37. McDiarmid, M.A., Keogh, J.P., Hooper, F.J. et al., Environ. Res. 2000. 82, 168–180.
38. Miller, A.C., Stewart, M., Brooks, K., et al., 2002. J. Inorg. Biochem., 91, 246–252.
39. Miller, A.C., Stewart, M., Rivas, R., 2010. Health Phys. 99, 371–379.
40. Miller, A.C., Xu, J., Stewart, M., et al., 2002. Radiat. Dosimetry. 99, 275–278.
41. Pattison, J.E., 2013. J. Radiol. Prot. 33, 187–198.
42. Pourahmad, J., Shaki, F., Tanbakosazan, F., et al., 2011. Hum. Exp. Toxicol. 30. 173–181.
43. Salbu, B., Janssen, K., Lind, O.C., et al., 2003. J. Environ. Radioact. 64, 167–173.
44. Sather, A.C., Berryman, O.B., Moore, C.E. et al., 2013. Chem. Commun. (Camb). 49, 6379–6381.
45. Slezak, J., 2007. Uranium. Vienna. OECD Publishing. 27.
46. Smirnova, V.S., Gudkov, S.V., Bruskov, V.I., 2011. 8-oxoguanine and products of its oxidation. Saarbrucken, LAMBERT Academic Publishing. 152.
47. Smirnova, V.S., Gudkov, S.V., Shtarkman, I.N., et al., 2005. Biofizika. 50, 456–463.
48. Sudarevic, B., Radoja, I., Simunovic, D., et al., 2014. Med. Glas. (Zenica). 11, 152–158.
49. Sztajnkrzyer, M.D., Otten, E.J., 2004. Mil. Med. 169, 212–216.
50. Tanner, R.J., Eakins, J.S., Jansen, J.T. et al., 2012. Radiat. Prot. Dosimetry. 51, 323–343.
51. Taylor, D.M., Taylor, S.K., 1997. Rev. Environ. Health, 12, 147–157.
52. Ward, J.F., 1988. Progr. Nucl. Acid Res. Mol. Biol. 35, 95–125.
53. Yazzie, M., Gamble, S.L., Civitello, E.R., et al., 2003. Chem. Res. Toxicol. 16, 524–530.

**Раздел 9. Влияние видимого света на биологические объекты:
физиологические и патофизиологические аспекты**

1. Andreev, S.N., Firsov, K.N., Kazantsev, S. Yu., Kononov, I.G., Samokhin, A.A., 2007b. Explosive Boiling of Water Induced by the Pulsed HF-Laser Radiation. *Laser Phys.* 17, 834.

2. Andreev, S.N., Kazantsev, S. Yu., Kononov, I.G., Pashinin, P.P., Firsov, K.N., 2010. Generation of an Electric Signal in the Interaction of HF-Laser Radiation with Bottom Surface of a Water Column. *Quantum Electron.* 40, 716

3. Andreev, S.N., Orlov, S.V., Samokhin, A.A., 2007a. Simulation of Pulsed-Laser-Induced Explosive Boiling. *Phys. Wave Phenom.* 15. 2, 67.

4. Ashkenazi, H., Malik, Z., Harth, Y., Nitzan, Y., 2003. Eradication of *Propionibacterium Acnes* by Its Endogenic Porphyrins after Illumination with High Intensity Blue Light. *FEMS Immunol. Med. Microbial.* 35. 1, 17.

5. Banerjee, S.M., MacRobert, A.J., Mosse, C.A., Periera, B., Bown, S.G., Keshtgar, M.R., 2016. Photodynamic Therapy: Inception to Application in Breast Cancer. *Breast.* 31, 105.

6. Barmina, E.V., Simakin, A.V., Shafeev, G.A., 2016. Hydrogen Emission under Laser Exposure of Colloidal Solutions of Nanoparticles. *Chem. Phys. Lett.* 655, 35

7. Barmina, E.V., Stratakis, E., Fotakis, K., Shafeev, G.A., 2010. Generation of Nanostructures on Metals by Laser Ablation in Liquids: New Results, *Quantum Electron.* 40, 1012.

8. Belenova, I.A., Kobzeva, G.B., 2014. The Possibility of Using Led Technology for the Treatment and Prevention of Chronic Periodontitis in Dentistry. *J. New Med. Tech.* 1, 2

9. Belov, M.L., Bullo, O.A., Gorodnichev, V.A., 2012. Laser Fluorescence Detection Method of Plant Stress Caused by Insufficient Nutrient Levels or the Presence of Contaminants in Soil. *Science and Education: Scientific Publication of BMSTU.* No. 12, 29.

10. Bischof, M., 1995. Biophotons—The Light in Our Cells. *Zweitausendeins, Frankfurt.*

11. Borisova, E.G., 2012. Nonpharmaceutical Treatment of Pain Syndrome Burning Mouth (SIPR) Using Phototherapy. *Inst. Dentistry.* 54, 104.

12. Bornstein, E., Hermans, W., Gridley, S., Manni, J., 2009. Near-Infrared Photoinactivation of Bacteria and Fungi at Physiologic Temperatures. *Photochem. Photobiol.* 85, 1364.

13. Borodin, Y.I., 2008. The Effectiveness of the High Frequency and Laser Therapy in Treatment of Venous Blood Congestion in Pelvic Organs. *Kazan Med. J.* 89. 5, 613.
14. Bradshaw, W.E., Holzapfel, C.M., 2007. Evolution of Animal Photoperiodism. *Ann. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 38, 1.
15. Bruk, T.M., 2010. Assessment of Individual Differences in Adaptive Responses to Hypoxia-Hypercapnia in Conditions of Low-Intensity Laser Radiation. *Laser Med.* 14, 26
16. Chernov, A.S., Reshetnikov, D.A., Fakhranurova, L.I., Manohin, A.A., Davydova, G.A., Selezneva, I.I., Khramov, R.N., 2013. Stimulation of the Development of Early Mouse Embryos under the Influence of Artificial Sunlight with Extra Fluorescent Orange-Red Component. *Medline.ru.* 14, 295.
17. Chernykh, Y.N., 2013. Dynamics Bronchodilatation Indicators and Indicators of Tolerance to Physical Load in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease with Concomitant Coronary Artery Disease. *J. NewMed. Tech.* 1, 1
18. Chukhrai, I.G., Marchenko, E.I., Bobkova, I.L., 2012. The Study of the Effectiveness of Low-Intensity Infrared and Red Laser Radiation on the Growth of Culture Lactic Acid Bacteria. *Sci. Ach. Biol. Chem. Phys.* 4, 12.
19. Diamant, I.I., 2003. New Technologies in Rehabilitation Treatment after Surgery for Fallopian Tubes. *Siberian Sci. Med. J.* 23, 60
20. Dirin, V.N., Naumov, S.A., Udut, V.V., Vovk, S.M., Goldberg, V.E., 2000. Method of Correcting the Functional State of Organs of Immune System and Biological Electrostimulator of Viscera for Its Implementation. RF Patent for the Invention. 2145892.
21. Enwemeka, C.S., Williams, D., Hollosi, S., Yens, D., Enwemeka, S.K., 2008. Visible 405nm SLD Light Photo-Destroys Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus (MRSA) in Vitro. *Lasers Surg. Med.* 40. 10, 734.
22. Ermolaev, V.A., 2015. The Clinical Picture of Skin-Muscular Wounds When Exposed to Led Radiation in the Red Spectral Region. *Act. Prob. Med. Sci.* 1, 149.
23. Filonenko, E.V., Serova, L.G., 2016. Photodynamic Therapy in Clinical Practice. *Biomed. Photon.* 5, 26.
24. Fry, N.I., Mascharak, P.K., 2011. Photoactive Ruthenium Nitrosyls As NO Donors: How to Sensitize Them Toward Visible Light. *Acc. Chem. Res.* 44, 289.
25. Galkin, V.N., Romanko, Y.S., Kaplan, M.A., Molochkov, A.V., Molochkov, V.A., Kuntcevich, Z.S., Sukhova, T.E., Dibirova, S.D., 2016.

The Use of Photodynamic Therapy in the Treatment of Keratoacanthomas. *Biomed. Photon.* 5, 21.

26. Glinushkin, A.P., Beloshapkina, O.O., Solovykh, A.A., Sudarencov, G.V., Molnár, J., 2016. Bacterial Diseases of Wheat in the Southern Ural: Manifestations, Biological Characteristics and Monitoring Features. *Acta Phytopathol. Entomol. Hung.* 51. 1, 57.

27. Glinushkin, A.P., Dushkin, S.A., Khairulinova, A.A., 2010. Phytosanitary Condition of Plants As an Indicator of Ecological Quality. *Izvestiya Orenburg State Agrarian University.* 27. 3, 52.

28. Gold, M.H., Rao, J., Goldman, M.P., Bridges, T.M., Bradshaw, V.L., Boring, M.M., Guider, A.N., 2005. A Multicenter Clinical Evaluation of the Treatment of Mild to Moderate Inflammatory Acne Vulgaris of the Face with Visible Blue Light in Comparison to Topical 1% Clindamycin Antibiotic Solution. *J. Drugs. Dermatol.* 4, 64.

29. Gripenburg, J.C., Sood, N., Vargo, K.B., Williams, D., Rawson, J., Therien, M.J., 2015. Caging Metal Ions with Visible Light-Responsive Nanopolymersomes, *Langmuir.* 31, 799.

30. Gudkov, S.V., Bruskov, V.I., Astashev, M.E., Chernikov, A.V., Yaguzhinsky, L.S., Zakharov, S.D., 2011. Oxygen-Dependent Auto-Oscillations of Water Luminescence Triggered by the 1264nm Radiation. *J. Phys. Chem. B.* 115, 7693.

31. Gudkov, S.V., Karp, O.E., Garmash, S.A., Ivanov, V.E., Chernikov, A.V., Manokhin, A.A., Astashev, M.E., Yaguzhinsky, L.S., Bruskov, V.I., 2012. Generation of Reactive Oxygen Species in Water under Exposure of Visible or Infrared Irradiation at Absorption Bands of Molecular Oxygen. *Biophysics.* 57. 1, 1.

32. Gudkov, S.V., Shilyagina, N.Y., Vodeneev, V.A., Zvyagin, A.V., 2016. Targeted Radionuclide Therapy of Human Tumors. *Int. J. Mol. Sci.* 17, 33.

33. Howerton, B.S., Heidary, D.K., Glazer, E.C., 2012. Strained Ruthenium Complexes are Potent Light-Activated Anticancer Agents. *J. Am. Chem. Soc.* 134, 8324.

34. Isenberg, I., 1964. Free Radicals in Tissue. *Physiol. Rev.* 44, 487.

35. Jekely, G., Colombelli, J., Hausen, H., Guy, K., Stelzer, E., Nedelec, F., Arendt, D., 2008. Mechanism of Phototaxis in Marine Zooplankton. *Nature.* 456, 395

36. Jia, L., Zhou, T., Xu, J., Xu, Z., Zhang, M., Wang, Y., 2015. Visible Light-Induced Lanthanide Polymer Nanocomposites Based on Clays for Bioimaging Applications. *J. Mater. Sci.* 51, 1324.

37. Karandashov, V.I., 2013. Features of the Optical Radiation in the Blue Range of the Spectrum and Perspectives of Its Use in the Practice of Medicine. *Laser Med.* 2, 39.
38. Kirianova, V.V., Korolkova, T.N., Kirillova, A.S., 2012. The Possibility of Application of Led Radiation at a Wavelength of 650nm (Red Light) in Correction of Involutional Changes in the Skin of the Person. *Bull. Avicenna.* 4, 141.
39. Kiseleva, M.V., Kulganov, V.A., 2012. Art Therapy in Psychological Counseling. *Rech. St.Petersburg.*
40. Kotoku, Y., Kato, J., Akashi, G., Hirai, Y., Ishihira K., 2009. Bactericidal Effect of a 405-nm Diode Laser on *Porphyromonas gingivalis*. *Laser Phys. Lett.* 6, 5, 388
41. Loschenov, V.B., Konov, V.I., Prokhorov, A.M., 2000. Photodynamic Therapy and Fluorescence Diagnostics. *Laser Phys.* 10, 1188.
42. Luo, Y.L., Shiao, Y.S., Huang, Y.F., 2011. Release of Photoactivatable Drugs from Plasmonic Nanoparticles for Targeted Cancer Therapy. *ACS Nano.* 5, 7796.
43. McKenzie, T.G., Fu, Q., Wong, E.H.H., Dunstan, D.E., Qiao, G.G., 2015. Visible Light Mediated Controlled Radical Polymerization in the Absence of Exogenous Radical Sources or Catalysts. *Macromolecules.* 48, 3864.
44. Millar, A.J., 2016. The Intracellular Dynamics of Circadian Clocks Reach for the Light of Ecology and Evolution. *Annu. Rev. Plant Biol.* 67, 595.
45. Monich, V., Drugova, O., Lazukin, V., Bavrina, A., 2011. Low-Power Light and Isolated Rat Hearts after Ischemia of Myocardium. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 105, 21
46. Monich, V.A., Malinovskaya, S.L., Makhrova, T.V., Malinovsky, D.S., 2010. Peculiarities of Action of Different Waveband Low-Intensity Electromagnetic Radiation on Microorganisms. *Vestnik of Lobachevsky University of Nizhni Novgorod.* 2, 2, 435.
47. Nakayama, T., Noda, Y., Goto, Y., Mori, T., 1994. Effects of Visible Light and Other Environmental Factors on the Production of Oxygen Radicals by Hamster Embryos. *Theriogenology.* 41, 499.
48. Naumov, S., Dyrin, V., Vovk, S., Petrova, E., Udut, V., Borodulina, E., 2000. Autonomous Device for Photostimulation of the Gastrointestinal Tract Immunity. *Proc. SPIE.* 3907, 433.
49. Ostrovskiy, E.I., Karandashov, V.I., Shatokhina, S.N., Sanina, N.P., Ryzhkova, O. Yu., Katlolina, E.M., Paleev N.R., 2014. Effects of

Photochemotherapy on the Clinical Course of Bronchial Asthma. *Almanac Clin. Med.* 35, 60

50. Pillouer-Prost A., Cartier, H., 2016. Photodynamic Photorejuvenation: A Review. *Dermatol. Surg.* 42, 21.

51. Powles, S.B., 1984. Photoinhibition of photosynthesis induced by visible light. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 35, 15.

52. Reinert, J., 1959. Phototropism and Phototaxis. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 10, 441.

53. Sailer, R., Strauss, W.S.L., Konig, K., Ruck, A., Steiner, R., 1997. Correlation Between Porphyrin Biosynthesis and Photodynamic Inactivation of *Pseudomonas aeruginosa* after Incubation with 5-Aminolevulinic Acid. *J. Photochem. Photobiol. B.* 36, 236.

54. Saper, C.B., Scammell, T.E., Lu, J., 2005. Hypothalamic Regulation of Sleep and Circadian Rhythms. *Nature.* 437, 1257.

55. Semenov, A.M., Glinushkin, A.P., Sokolov, M.S., 2016. Organic Farming and the Health of Soil Ecosystems. *Sci. Tech. APC.* 30, 5.

56. Seraya, L.G., Zvyagintsev, V.B., Glinushkin, A.P., Baranchikov, Yu.N., 2015. Secondary Area of the Far East Invaders—Communication without Borders. *Rus. Agricult. Sci. Rev.* 6, 52.

57. Sgambellone, M.A., David, A., Garner, R.N., Dunbar, K., Turro, C., 2013. Cellular Toxicity Induced by the Photorelease of a Caged Bioactive Molecule: Design of a Potential Dual-Action Ru(II) Complex. *J. Am. Chem. Soc.* 135, 11274.

58. Shell, T.A., Lawrence, D.S., 2015. Vitamin B12: A Tunable, Long Wavelength, Light-Responsive Platform for Launching Therapeutic Agents. *Acc. Chem. Res.* 48, 2866.

59. Tuchina, E.S., Tuchin, V.V., 2009. Low-Intensity LED (625 and 405 nm) and Laser (805 nm) Killing *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus epidermidis*. *Proc. SPIE.* 7165, 716501.

60. Walter L., 2003. Physiological plant ecology (Ecophysiology and stress physiology of functional groups). Springer.

61. Weiss, M.C., Sousa, F.L., Mrnjavac, N., Neukirchen, S., Roettger, M., Nelson-Sathi, S., Martin, W.F., 2016. The physiology and habitat of the last universal common ancestor. *Nature Microbiol.* 1, 16116.

62. Wilson, T., Hastings, J.W., 1998. Bioluminescence. *Ann. Rev. Cell Develop. Biol.* 14, 197.

63. Zhou, Z., Song, J., Nie, L., Chen, X., 2016. Reactive Oxygen Species Generating Systems Meeting Challenges of Photodynamic Cancer Therapy. *Chem. Soc. Rev.* 45, 6597.

Сергей Владимирович Гудков

ЧАСТНЫЕ ВОПРОСЫ РАДИАЦИОННОЙ БИОФИЗИКИ

Учебное пособие

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования «Национальный исследовательский
Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского».
603022, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23.

Подписано в печать 30.05.2022 г. Формат 60×84 1/16.
Бумага офсетная. Печать цифровая. Гарнитура Таймс.
Усл. печ. л. 13,75. Уч.-изд. л. 15,9.
Заказ № 809. Тираж 500 экз.

Отпечатано в типографии
Нижегородского госуниверситета им. Н.И. Лобачевского
603000, г. Нижний Новгород, ул. Большая Покровская, 37