Активные формы кислорода, антиоксиданты и действие лечебных физических факторов

В.С. УЛАЩИК

Институт физиологии НАН Беларуси, Минск

Active oxygen species, antioxidants, and the action of therapeutic physical factors

V.S. ULASHCHIK

Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk

В статье дана характеристика активных форм кислорода, антиоксидантной системы и их биологической роли. Обобщены известные сведения о влиянии физических факторов на свободнорадикальные процессы в организме. Рассмотрены перспективные направления исследований по свободнорадикальной концепции действия физиотерапевтических факторов.

Ключевые слова: активные формы кислорода, антиоксидантная система, свободнорадикальное окисление, лечебные физические факторы.

Characteristics of active oxygen species, the antioxidative system and their biological role are considered. The known data concerning the influence of physical factors on the processes proceeding with the participation of free oxygen radicals are summarized. The most promising directions of further research on the action of physiotherapeutic factors mediated through free radicals are discussed.

Key words: active oxygen species, antioxidative system, free radical oxidation, therapeutic physical factors.

Лечебные физические факторы широко и успешно используются в лечении самых различных заболеваний. Несмотря на это, механизм их действия во многом остается неясным. Наличие у различных физических факторов схожих терапевтических эффектов, проявляющихся при различной патологии, дает основание предполагать существование у них некоторых общих механизмов действия. Имеются достаточно веские основания думать, что в основе таких механизмов лежит взаимодействие физических факторов с соединениями (метаболитами), которые играют важную роль в регуляции процессов жизнедеятельности и в то же время могут быть причастными к патогенезу многих заболеваний. На такую роль, по нашему мнению, вполне могут претендовать активные формы кислорода (АФК), которые в зависимости от концентрации проявляют либо регуляторное, либо токсическое действие [1—3]. Поскольку уровень АФК в клетках находится под контролем антиоксидантной системы, то действие физиологических факторов может реализоваться и через влияние на компоненты последней. Данный метаболический механизм, по-видимому, отобран эволюцией не только как средство поражения, но и как способ регуляции внутриклеточного обмена веществ, что и привлекает к изучению его в медицине, в том числе и в физиотерапии. В настоящей статье делается попытка обобщить имеющиеся сведения о действии лечебных физических факторов на эту систему на фоне рассмотрения биологической роли ее основных представителей.

Характеристика АФК и их биологической роли

В клетках аэробных организмов кислород используется главным образом в митохондриях, где при сопряжении окисления с фосфорилированием происходит синтез АТФ и образование тепла. Наряду с окислительным фосфорилированием в организме постоянно протекают реакции неполного (одно-, двух и трехэлектронного) восстановления кислорода, в ходе которых и образуются его активные (радикальные) формы. На образование этих форм расходуется небольшая часть (2—4%) поглощаемого клеткой кислорода, однако эта величина, в том числе и при действии некоторых физических факторов, может существенно возрастать.

© В.С. Улащик, 2013

Сведения об авторе:

Улащик Владимир Сергеевич — д.м.н., проф., акад. Национальной академии наук, засл. деят. науки Республики Беларусь, лауреат государственных премий, e-mail: ilifia@list.ru

К числу основных активных форм кислорода относят супероксиданион-радикал ($O_2^{-\cdot}$), гидроксильный радикал ($OH^{\cdot}$), перекись водорода (H_2O_2), синглетный кислород ($^1O_2$) и др. [4—6]. Как в патологических, так и в физиологических условиях образование АФК происходит в нескольких биологических системах, таких как дыхательная цепь митохондрий, электронно-транспортная цепь микросом, при переходе оксигемоглобина в метгемоглобин, в процессах метаболизма арахидоновой кислоты, в реакции гипоксантин-ксантиноксидаза, при биосинтезе и окислении катехоламинов и др. [7]. Важно подчеркнуть, что образование АФК возможно также при действии ионизирующего излучения, озона, ультрафиолетовых лучей и других физических факторов. В общем, можно заключить, что множество процессов, связанных с окислением биологических молекул, сопровождаются генерацией АФК [8]. Говоря об образовании АФК, следует отметить два важных момента. Во-первых, в организме существует постоянный источник АФК, даже в условиях сниженного уровня кислорода. Во-вторых, многочисленные системы индукции АФК дублируют друг друга, вплоть до образования их нестандартными прооксидантами, что лишний раз подчеркивает необходимость существования свободнорадикальных процессов для жизнедеятельности клетки.

Образующиеся АФК участвуют в двух разнонаправленных, но постоянно протекающих биохимических процессах — катаболизме старых и синтезе новых молекул. С помощью АФК в клетке происходит окисление тех липидов и белков, которые должны быть подвержены деструкции. Это облегчает дальнейшее действие ферментов деградации, поскольку они имеют на несколько порядков большее сродство именно к окисленному субстрату [8—10]. Благодаря этому АФК включены в постоянно протекающие в клетке катаболические процессы.

С другой стороны, АФК участвуют также в постоянно протекающем синтезе новых молекул. Так, с помощью свободнорадикального окисления полиненасыщенных жирно-кислотных остатков фосфолипидов, составляющих биологические мембраны, происходит синтез таких физиологически активных веществ липидной природы, как лейкотриены, тромбоксаны, простагландины [8, 9, 11]. Следовательно, участвуя в катаболизме и синтезе, АФК способствуют адаптации клетки к новым условиям среды, изменяя состав мембранных фосфолипидов и обновляя белковый спектр.

Значительную роль АФК играют и в других физиологических процессах и метаболических реакциях. Важным свойством активных метаболитов кислорода является регуляция метаболизма соединительной ткани. АФК стимулируют пролиферацию фибробластов, синтез и распад коллагена, участвуют в метаболизме железа. Некоторые из оксигеназ используют кислород и АФК для детоксикации липофильных ксенобиотиков. АФК участвуют в регуляции сосудистого тонуса путем ингибирования эндогенного оксида азота. Метаболиты кислорода принимают участие в реакциях клеточного и гуморального иммунитета как регуляторы и эффекторы этих процессов. В частности, радикалы кислорода, генерируемые оксидазами нейтрофильных гранулоцитов и мононуклеарных фагоцитов, играют одну из активных ролей в реализации бактерицидного, цитотоксического и иммунорегуляторного действия этих клеток. АФК стимулируют пролиферацию иммунокомпетентных клеток. Доказано прямое участие супероксиданион-радикала в образовании хемотаксических факторов, вызывающих активацию и миграцию лейкоцитов в очаг воспаления [12]. Работы последних лет свидетельствуют о том, что процессы генерации АФК лежат в основе большинства реакций фагоцитоза. Имеющее место резкое усиление феномена хемолюминесценции в ходе фагоцитоза позволяет сделать вывод о существовании в клетках физиологических механизмов усиления ферментативного инициирования свободнорадикальных процессов [6].

Таким образом, радикалы кислорода, несмотря на свою реакционность и потенциальную токсичность, в малых концентрациях являются нормальными участниками множества метаболических реакций в клетках. В физиологических условиях свободнорадикальные реакции протекают с невысокой активностью. Приведенный нами далеко не полный перечень процессов с участием радикалов кислорода свидетельствует о важной роли этих соединений в поддержании гомеостаза, формировании резистентности организма к инфекции, обеспечении регенерации органов и тканей. Если процесс генерации АФК усиливается, то это может явиться и, как будет показано ниже, является пусковым фактором патологических процессов.

В концентрациях, превышающих физиологические, радикальные соединения являются высокотоксичными для биологических систем всех уровней, от молекулярного до организменного. Являясь химически активными соединениями, свободные радикалы вступают в реакции с молекулами различной химической природы и вызывают деградацию структурных белков и липидов клеточных мембран и нуклеиновых кислот, ингибирование ферментов, изменение структуры и функциональных свойств гормонов и их рецепторов [6].

Наряду с прямым повреждающим действием АФК на клеточные структуры и эндогенные макромолекулы не менее значимыми являются последующие процессы, индуцируемые радикалами кислорода. К их числу прежде всего относятся АФК-индуцированное увеличение уровня свободного кальция и изменение кальцийзависимых процессов

[8, 9, 13]. Чрезмерное накопление АФК сопровождается разрушением многих компонентов антирадикальной защиты, особенно белковой природы, что ведет к дальнейшему повышению уровня свободнорадикальной реакции. АФК, генерируемые внутриклеточно, а также проникающие внутрь через мембрану, являются пусковым фактором индукции апоптоза [8, 14].

Одним из важнейших следствий повышенного образования АФК является избыточная и неконтролируемая в этих условиях активация процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ). Чрезмерная, патологически усиленная активация ПОЛ под действием АФК приводит к изменению или даже повреждению клеточных мембран, опасность которого для организма трудно переоценить. При чрезмерной активации ПОЛ, когда значительная часть мембранных фосфолипидов подвергается окислительной деградации, липидная фаза мембран становится более ригидной. Это ограничивает конформационную подвижность полипептидной цепи, вследствие чего снижается функциональная активность ферментов, рецепторов и каналообразующих белков, встроенных в мембраны, что в свою очередь препятствует удалению ионов кальция из саркоплазмы и обеспечивает повреждающее действие кальция на клеточные органеллы.

АФК и продукты ПОЛ способствуют избыточной выработке и высвобождению ряда провоспалительных цитокинов (фактора некроза опухолей, интерлейкина-1, интерлейкина-6) и медиаторов воспаления (гистамина, брадикинина, серотонина), производных арахидоновой кислоты (лейкотриенов, простагландинов и тромбоксанов).

Свободнорадикальный механизм повреждения плазматических, митохондриальных и ядерных мембран, ядерного и митохондриального генома, липопротеинов крови приводит к повреждению сосудов и гистогематических барьеров, что играет важную роль в патогенезе наиболее распространенных заболеваний воспалительной, токсической и аутоиммунной природы. Патогенетическая роль АФК выявлена к настоящему времени приблизительно для более чем сотни заболеваний человека [6]. Это имеет место при сердечно-сосудистой патологии — ишемической болезни сердца, инфаркте миокарда, ишемических и перфузионных поражениях головного мозга и почек, атеросклерозе. АФК играет важную роль при бронхолегочной патологии — эмфиземе, бронхиальной астме, хроническом бронхите, респираторном дистресс-синдроме и др.

Многочисленные исследования свидетельствуют, что процессы свободнорадикального окисления лежат в основе патогенеза многих хронических заболеваний печени, причем избыточное образование АФК и продуктов ПОЛ наблюдается на самых ранних стадиях процесса. Радикалы кислорода повреждают мембранный аппарат гепатоцита, разрушают липидный слой его мембран, а также повреждают белки-ферменты монооксигеназной системы.

Избыточное образование АФК и активация ПОЛ являются причиной возникновения и прогрессирования гипертонической болезни [6]. Под их влиянием происходит накопление в клетке ионизированного кальция, повышается тонус артериальных сосудов, развивается артериокапиллярный фиброз.

Избыточное образование свободных радикалов кислорода является одним из ведущих механизмов в патогенезе гриппа. Генерирование АФК определяет мутагенез и протеолитическую активность вируса гриппа, цитолитический эффект вирусной инфекции, деструкцию капиллярной сети и стенок капилляров, развитие отека легких. Токсическое повреждение нейронов АФК и продуктами ПОЛ рассматривается в качестве основного механизма при нейродегенеративных заболеваниях мозга (рассеянный склероз, болезнь Паркинсона, хорея Геттингтона, болезнь Альцгеймера и др.). АФК и продукты ПОЛ оказывают прямое деструктивное действие на внутренние органы и приводят к развитию полиорганной недостаточности после тяжелых травм и обширных ожогов [6, 15, 16].

Таким образом, АФК имеют фундаментальное значение как для физиологических процессов, так и для патогенеза различных заболеваний. В связи с этим патогенетически обоснованным является предупреждение выработки, нейтрализация и элиминация избытка радикалов кислорода и продуктов свободнорадикального окисления.

Система антиоксидантной защиты организма

Несмотря на то что свободнорадикальное окисление непрерывно протекает во всех тканях организма, оно не приводит к развитию патологии, поскольку находится на определенном стационарном уровне благодаря наличию в организме многокомпонентной системы антиоксидантной защиты [7, 17, 18]. Сбалансированная система антиоксидантной защиты позволяет поддерживать интенсивность свободнорадикальных процессов на оптимальном уровне, противостоять накоплению избыточного количества АФК без угрозы их резкой активации и участия в развитии различных патологических состояний [8].

Условно антиоксидантную систему (АОС) можно разделить на специфическую и неспецифическую. К специфической обычно относят ферменты и неферментативные компоненты, которые направлены на снижение уровня оксидантов, что приводит к обрыву цепей свободнорадикальных реакций. Действие неспецифических компонентов связано со снижением возможности дополнительной генерации свободных радикалов. Схема антиоксидант-

ной системы предложена Е.Е. Дубининой [16]. Согласованная работа этих компонентов антирадикальной защиты поддерживает на постоянном уровне как образование, так и превращение свободных радикалов и других потенциально опасных соединений [7, 19—21]. Следует отметить, что ферменты АОС, уровень которых клетка поддерживает за счет постоянного синтеза, многократно превышают по удельной антирадикальной активности небелковые компоненты, в том числе и витамины, и выполняют основную антиоксидантную функцию в клетке. Речь прежде всего идет о супероксиддисмутазе (СОД), катализирующей реакцию дисмутации супероксидного анион-радикала в H_2O_2, каталазе, разлагающей перекись водорода, глутатионзависимых пероксидазах и трансферазах, удаляющих органические перекиси. СОД и каталаза не нуждаются в кофакторах, что делает их работу автономной, не зависящей от функционирования других клеточных структур. В то же время для работы пероксидаз и трансфераз необходим восстановленный глутатион, который синтезируется глутатионсинтазой или восстанавливается в реакции с глутатионредуктазой [22].

Антиоксидантные ферменты могут находиться в связанном с мембранами состоянии или в свободном виде в цитозоле, а кроме того, содержаться в клеточных органеллах, например в митохондриях, и даже иметь своеобразное депо в клетке, находясь в большом количестве в пероксисомах. Наряду с указанными компонентами к числу низкомолекулярных антиоксидантов относят и ряд других химических соединений, в числе которых называют каротиноиды, мелатонин, карнозин, липоевую кислоту, N-ацетилцистеин.

Сведения о взаимодействии различных антиоксидантных систем разноречивы. Известно, что активность ферментов АОС может изменяться очень специфично, например — только активность каталазы или СОД, или же одновременно сразу несколько ферментов. Интересно, что изменение активности ключевых антиоксидантных ферментов, к которым относят СОД и каталазу и которые на начальных этапах эффективно защищают клетку от наиболее реакционноспособного гидроксильного радикала, трудно зарегистрировать на этапах длительного окислительного стресса или при адаптации к нему [8, 23]. Показано, что повышенный уровень АФК, сопровождающий различные повреждающие воздействия, характеризуется в каждом случае и особенным спектром индуцированной антиоксидантной защиты, даже если воздействие проводилось на один и тот же орган или культуру клеток [8, 24]. Появляются отдельные работы, в которых представлены данные о том, что введение какого-либо из антиоксидантов может компенсаторно уменьшать активность других, не снижая антиоксидантного эффекта в целом [8]. В общем, многокомпонентная система антиоксидантной защиты клетки в норме обладает высокой синхронизацией и тесным взаимодействием всех компонентов, что обеспечивает ее высокую эффективность для поддержания физиологического уровня свободнорадикальных процессов [6, 8].

Резюмируя вышеизложенное, можно отметить, что в клетке существует как разветвленная система образования АФК и других свободных радикалов, так и многокомпонентная антиоксидантная защитная система. Функционирование последней поддерживает определенный сбалансированный уровень свободных радикалов, прежде всего АФК, обеспечивая гомеостаз между прооксидантами и антиоксидантами — равнозначными участниками метаболизма в организме. Необходимость участия свободнорадикальных реакций в различных внутриклеточных процессах исключает чрезмерное развитие АОС, а необходимость защиты клетки от бесконтрольной активации АФК предполагает невозможность полного отсутствия антиоксидантов. В здоровом организме существует определенное физиологическое, сбалансированное соотношение прооксидантов и антиоксидантов, колебания уровня которых не выходят за рамки свойственного данному организму физиологического коридора [8].

Благодаря таким колебаниям в клетке может ограниченно повышаться интенсивность АФК-процессов при обновлении структурных ресурсов, разборке белков и липидов или синтезе биологически активных веществ и вторичных мессенджеров, а также при решении специфических задач, например индукции АФК в целях иммунной защиты. Необходимость поддержания в клетке определенного сбалансированного уровня прооксидантов и антиоксидантных факторов является отправной точкой для изучения закономерностей изменения антиоксидантного статуса организма. В связи с этим важно, чтобы уровень АФК в клетке не рассматривался изолированно от активности антиоксидантной системы и наоборот. К сожалению, во многих исследованиях, включая и исследования действия физических факторов на устойчивость тканей к свободнорадикальным процессам, это требование не соблюдается. Не менее важно и другое: любые терапевтические мероприятия должны проводиться с учетом соотношения прооксидантов и антиоксидантов в организме и в зависимости от того, в какую сторону смещено это соотношение.

Многочисленные экспериментальные и клинические исследования, посвященные изучению редокс-баланса, свидетельствуют о том, что различные воздействия и патологические процессы сопровождаются своеобразными вариантами изменения соотношения прооксидант/антиоксидант. Не детализируя их, в обобщенном виде можно отметить

следующее. Высокий уровень антиоксидантов может сопровождать низкий уровень свободнорадикальных процессов, и в этом случае клетка будет иметь дополнительную антирадикальную защиту, или высокий уровень антиоксидантов может иметь место при высоком уровне АФК — в этом случае может наблюдаться как компенсация свободнорадикальных процессов, так и отсутствие таковой.

С другой стороны, низкий уровень антиоксидантов может сопровождаться как высоким уровнем АФК, так и низкой активностью свободнорадикальных реакций.

Как уже отмечалось, в повышенных количествах АФК образуются при самых разных воздействиях на организм и клетку. Стресс, гипоксия, воспаление, высокая и низкая температуры, физическая нагрузка, практически все патологические состояния сопровождаются наряду со специфическим ответом повышением уровня АФК. Поэтому одним из универсальных механизмов защиты организма является синтез неспецифических защитных факторов — антиоксидантов и других протекторных систем. Следовательно, АФК-сигнал, как явствует из современных представлений, является индуктором синтеза компонентов защитных систем клетки. В результате каскада редокс-сигнализации клетка насыщается молекулами, которые повышают ее защиту от самых разных повреждений, экзогенных и эндогенных воздействий, сопровождающихся индукцией свободнорадикального окисления [8].

Для большого количества действующих на организм агентов как внешнего, так и внутреннего происхождения специфических рецепторов пока не обнаружено. Тем не менее клеточный ответ на эти воздействия, в число которых можно включить и многие физические факторы, развивается и без таких специфических рецепторов благодаря сигнальной цепи, именуемой редокс-сигнализацией. В недавних исследованиях установлена ключевая роль АФК в перекрестной активации рецепторов и в так называемом перекрестном разговоре (cross-talk) сигнальных путей, поскольку АФК образуется при активации самых разных рецепторов — гормональных, цитокиновых и др. [8]. При реализации редокс-сигнализации АФК прежде всего действует на чувствительные к окислению белки. Роль такого сенсора АФК могут выполнять несколько белков: тиоредоксин, цитозольная тиоредоксинредуктаза, гемоксигеназа, NADPH-редуктаза, NADPH- и NADH-оксидазы [11, 25, 26]. Основу сигнализации составляет переход из восстановленного в окислительное состояние сульфгидрильных групп белков под действием АФК. Далее сигнал передается по известным регуляторным каскадам, работающим и при активации специфических рецепторов [8].

В заключение этой части статьи хотелось бы подчеркнуть одну особенность защитного антиоксидантного механизма, которая исключительно важна для рассматриваемой темы. Как показывают исследования, наиболее действенным защитным барьером клетки является не внешний, создаваемый с помощью назначения экзогенных антиоксидантов, а именно эндогенный уровень защиты, т.е. сформировавшийся в самой клетке [8, 27]. С этих позиций и представляют интерес многие лечебные физические факторы, способные, как будет продемонстрировано ниже, стимулировать эндогенный синтез антиоксидантов в различных тканях организма.

Свободнорадикальные аспекты действия лечебных физических факторов

В 1973 г. известным биофизиком А.И. Журавлевым выдвинута свободнорадикальная теория действия лечебных физических факторов [28]. Она базировалась в основном на результатах изучения хемилюминесценции тканей, подвергнутых *in vitro* или *in vivo* действию различных физических факторов. Обзор известных к моменту опубликования свободнорадикальной теории данных о влиянии физиотерапевтических факторов на свободнорадикальные процессы дан А.И. Журавлевым в 1969 г. [29], а позже они критически проанализированы нами [30]. Согласно свободнорадикальной теории, первичное действие физических факторов связано с их влиянием на свободнорадикальные процессы. По способу генерировать свободные радикалы все физиотерапевтические факторы делились автором на три основные группы: 1) инициирующие свободные радикалы — ионизирующая радиация (радоновые ванны), ультрафиолетовые лучи, ультразвук, повышенное парциальное давление кислорода (оксигенотерапия); 2) ингибирующие свободнорадикальное окисление — пелоиды, сероводородные ванны, пониженное парциальное давление кислорода; 3) косвенно действующие на радикальные процессы — различные токи, видимое и инфракрасное излучение, микроволны и др. [1, 28, 30].

Как нами уже ранее подчеркивалось с аргументацией, при всем своем положительном значении свободнорадикальная теория, по-видимому, не может быть принята в качестве универсальной теории первичного действия лечебных физических факторов [30]. Вместе с тем одновременно констатировалось, что генерацию свободных радикалов вполне можно считать одним из первичных механизмов их биологического действия. Сегодня, когда имеется возможность дифференцированного определения уровня свободных радикалов, в том числе АФК, а также различных представителей антиоксидантной системы, необходимо несколько более конкретно взглянуть на роль свободнорадикальных процессов в действии физических факторов в норме и при патологии.

Как уже отмечалось, в организме имеет место сбалансированное соотношение прооксидантов и антиоксидантов, колебание которого в различных органах и тканях неодинаково, но не выходит за рамки свойственного им физиологического коридора. Поэтому важно, чтобы при оценке изменений свободнорадикальных процессов под действием лечебных физических факторов на организм не ограничивались определением АФК, а учитывали и спектр активности антиоксидантной системы. К сожалению, приходится констатировать, что и в физиотерапевтических исследованиях, как будет показано ниже, часто изолированно рассматриваются компоненты окислительного гомеостаза.

Наиболее широко изучено влияние лазерного излучения на свободнорадикальные процессы и антиоксидантную защиту *in vitro* и *in vivo*, а также при некоторых заболеваниях. Эти исследования инициированы работами Ю.А. Владимирова и соавт. [31, 32], в которых показана важная роль свободнорадикальных процессов и ферментативной антиоксидантной системы в механизмах действия гелий-неонового лазера. Авторами, в частности, действие красного лазерного излучения связывается с реактивацией металлсодержащих ферментов, участвующих в антиокислительных реакциях. Это вполне вероятно, так как данные ферменты (каталаза, супероксиддисмутаза, церуллоплазмин) хорошо поглощают свет в красной области спектра.

Т.В. Чичук и соавт. [33] изучали действие излучения гелий-неонового лазера (632,8 нм) на люминолзависимую хемилюминесценцию лейкоцитов. Согласно полученным данным, лазерное облучение вызывает увеличение хемилюминесценции полиморфно-ядерных лейкоцитов, зависящее от концентрации фотосенсибилизатора в пробе.

Изучению влияния инфракрасного лазерного излучения (0,89 мкм) на антиоксидантно-прооксидантный статус клеток крови у больных посвящены исследования Е.А. Остраховича и соавт. [34]. Этими авторами показано, что спонтанная продукция супероксидного анион-радикала у больных ревматоидным артритом существенно выше (более чем в 2 раза) контрольных значений. Повышение активной формы кислорода коррелировало с уровнем фактора некроза опухоли в плазме крови этих больных. Применение низкочастотного импульсного ИК-лазера приводило к снижению как спонтанной продукции супероксида, так и уровня фактора некроза опухоли практически до контрольных значений. Кроме того, на фоне лазерной терапии существенно снижалось стимулированное ацетатом форболмиристата образование супероксидного анион-радикала. Применение ИК-лазерной терапии снижало также скорость образования пероксинитрита нейтрофилами больных ревматоидным артритом.

В качестве параметров, отражающих антиоксидантную защиту клеток, авторами выбрана активность СОД (в нейтрофилах периферической крови) и концентрация восстановленного глутатиона (в эритроцитах). Активность СОД нейтрофилов у больных ревматоидным артритом была достоверно ниже нормы, а уровень восстановленного глутатиона у них не изменялся. После проведения курса лазерной терапии наблюдалось восстановление активности фермента практически до нормы. Следовательно, можно заключить, что у больных ревматоидным артритом под влиянием ИК-лазерного излучения уменьшается генерация АФК и усиливается антиоксидантная защита клеток крови за счет восстановления активности СОД. Восстановление активности СОД может происходить как за счет прямого воздействия на каталитический центр фермента, так и вследствие уменьшения образования пероксинитрата.

Антиоксидантный эффект при лазерном облучении клеток крови продемонстрирован и в работе А.В. Волотовской и соавт. [35]. В исследованиях *in vitro* установлено, что фотоактивация СОД и угнетение процессов ПОЛ зависят от продолжительности воздействия и спектральной характеристики лазерного излучения.

В.Г. Артюхов и соавт. [36] изучали влияние лазерного облучения крови (540 нм) в диапазоне доз 0,3—1,2 Дж/см^2 на активность СОД и каталазы полиморфно-ядерных лейкоцитов. Ими выявлено корригирующее действие луча лазера мощностью 0,6 и 1,2 Дж/см^2 на каталитическую активность исследуемых ферментов. Обнаружена средняя степень корреляции (r=0,6) между уровнями активности СОД и каталазы нейтрофилов облученной крови, а также тесная взаимосвязь функционирования антиоксидантной системы с процессами генерации АФК. Заслуживает внимание предложенная авторами схема свободнорадикального механизма действия лазерного излучения на отдельные звенья ферментативной антиоксидантной системы при облучении крови. Однако по-прежнему остается неясным, сохраняются ли установленные авторами механизмы действия лазерного излучения на свободнорадикальные процессы в организме при лазерогемотерапии и других видах лазерных воздействий.

Считается, что в механизме действия озонотерапии имеет значение ее опосредованная антиоксидантная активность [37], что предопределяет интерес к исследованию этого вопроса. Влияние озонотерапии на свободнорадикальные процессы у больных ишемической болезнью сердца (ИБС) изучали Л.С. Ковальчук и Д.Р. Петренев [38]. Как свидетельствуют полученные авторами данные, у больных ИБС отмечается повышение уровня малонового диальдегида — конечного продукта ПОЛ и сниже-

ние антиоксидантной активности крови по сравнению со здоровыми лицами. После курса (6—8 процедур) озонотерапии у больных отмечено достоверное снижение содержания малонового диальдегида в сыворотке крови и увеличение антиоксидантной активности крови, в частности активности СОД. Важно отметить, что достигнутые под влиянием озонотерапии сдвиги в системе прооксиданты/антиоксиданты у 85% больных сохранялись в течение трех месяцев. Авторами отмечается корреляционная связь между уменьшением процессов ПОЛ, увеличением антиоксидантной активности крови и улучшением состояния пациентов с ИБС, что указывает на важную роль свободнорадикальных процессов в патогенезе этого заболевания.

Изменению свободнорадикальных процессов придается определенное значение и в механизмах биологического действия миллиметровых волн (КВЧ-терапия). Так, А.С. Корягин и соавт. [39] установили, что ЭМИ КВЧ с шумовым спектром излучения (аппарат АМФИТ-02/10-01) существенно уменьшает содержание малонового диальдегида в облученной *in vitro* крови животных, свидетельствуя о снижении свободнорадикальных процессов. Более убедительные данные по этому вопросу приведены в работе Р.В. Мазуренко и соавт. [40]. Ими установлено частотно-зависимое изменение показателей ПОЛ и антиоксидантной системы крови *in vitro* при действии ЭМИ КВЧ-диапазона (48—67 ГГц). В частности, небольшое повышение активности каталазы при облучении на частоте 48 ГГц сменяется снижением ее активности в частотном диапазоне 49—62 ГГц, которая вновь повышается на частотах облучения 64—66 ГГц. Минимальное значение активности каталазы эритроцитов отмечено при облучении в области частоты 60 ГГц. Увеличение активности каталазы на частотах 48, 64, 66 и 64,5 ГГц сопровождалось уменьшением содержания малонового диальдегида, увеличением перекисной резистентности эритроцитов и общей антиоксидантной активности плазмы крови. Резкое изменение направленности процессов в области частоты 64,5 ГГц можно объяснить изменением структуры клеточной поверхности за счет конформационных изменений мембраны при облучении.

Крайне противоречивый характер носят сведения о действии низкочастотных магнитных полей на свободнорадикальное окисление и антиоксидантную защиту организма [41—44].

В ряду физических методов, действие которых в значительной степени связано с генерацией АФК, особо стоят фотодинамическая терапия (ФДТ) и синглетно-кислородная терапия.

ФДТ — метод сочетанной терапии, основанный на избирательном накоплении фотосенсибилизатора в клетках-мишенях или патологически измененных тканях и последующем облучении их светом (обычно лазерным излучением) определенной длины волны и интенсивности.

Под влиянием лазерного излучения, избирательно поглощаемого фотосенсибилизатором (фотофрин, фотосан, фотогем, фотолон, хлорин, радахлорин, бактериохлорин и др.) начинается фотохимическая реакция, сопровождающаяся образованием свободных радикалов и АФК, которые оказывают повреждающее действие на опухолевые или другие патологически измененные клетки и их компартменты [45—47]. Гибель клеток происходит путем как апоптоза, так и некроза [48]. Основное значение в действии ФДТ отводят синглетному кислороду, являющемуся мощнейшим окислителем для различных структур клетки, в особенности для мембранных белков и липидных комплексов. Синглетный кислород при ФДТ образуется в результате переноса энергии электронного возбуждения с молекулы фотосенсибилизатора на молекулярный кислород среды. Имеют значение и другие механизмы действия ФДТ [45, 47, 48]. Сегодня метод используется не только при злокачественных новообразованиях, но и в лечении многих неопухолевых заболеваний [47, 49, 50].

Синглетно-кислородная терапия — метод, в основе которого лежит вдыхание или прием синглетно-кислородной смеси, состоящей из синглетного кислорода, оксида азота и водяного пара. Основную роль в ее действии на организм, по мнению многих авторов, играет синглетный кислород, что и предопределило название метода [51—53]. Он рассматривается как альтернативный метод стимуляции антиоксидантной защиты, основанный на синглетно-триплетном дипольном переходе [51].

Применение синглетно-кислородной терапии сопровождается разнообразными физиологическими и лечебными эффектами:

— повышением биоэнергетического потенциала клеток;

— стабилизацией аэробного обмена, нормализацией кислородного гомеостаза;

— восстановлением антиоксидантного статуса организма;

— улучшением тканевого дыхания, снижением гипоксии тканей;

— стимуляцией микроциркуляции, коронарного, мозгового и периферического кровообращения;

— повышением клеточного и гуморального иммунитета;

— подавлением активности воспаления;

— стимуляцией регенераторных процессов;

— улучшением микро- и макрореологии крови и др. [52, 54].

Из вышеприведенных сведений следует, что синглетно-кислородная терапия активно влияет на различные уровни жизнедеятельности организма. Это предопределяет использование метода синглет-

но-кислородной терапии, основанной на высокой реакционной способности АФК, при различных патологических состояниях [52, 54—56].

Таким образом, немногочисленные исследования, выполненные в последние годы, указывают на важную роль изменений свободнорадикальных процессов в механизмах как физиологического, так и терапевтического действия физических факторов. В подавляющем большинстве работ лечебные физические факторы в терапевтических дозировках стимулируют ферментативную АОС и тем самым ослабляют действие АФК на различные структуры и функции организма. Более детальное изучение влияния физических факторов на генерацию АФК и компоненты АОС должно явиться предметом дальнейших исследований.

Заключение

За последние годы взгляд на свободнорадикальное окисление и образование АФК существенно изменился. Сегодня принято выделять по крайней мере три основные роли их в организме. Во-первых, образование АФК — естественный физиологический процесс, постоянно протекающий в организме. Во-вторых, образующиеся в повышенных количествах АФК выступают уже как повреждающий фактор. Наконец, в-третьих, АФК рассматривается как сигнальная система, участвующая в ключевых регуляторных механизмах живой клетки. Являясь многокомпонентной системой, она обеспечивает передачу внешнего сигнала к клеточному ядру с последующей активацией трансляции и синтезом белков. Отсюда вытекает интерес к изучению роли АФК и свободнорадикального окисления в механизмах действия лечебных физических факторов с использованием их для коррекции свободнорадикальных процессов и нарушенных АФК-опосредованных метаболических путей, а также для стимуляции апоптоза и некроза патологически измененных тканей.

Приходится констатировать, что все эти процессы, несмотря на давнишний к ним интерес, в свете современных взглядов на свободнорадикальное окисление в физиотерапии изучены крайне мало и весьма поверхностно. В большинстве из немногочисленных выполненных работ убедительно показано, что некоторые физические факторы (лазерное излучение, электромагнитные поля, ультразвук и др.) *in vitro* и *in vivo* вызывают антиоксидантный эффект за счет реактивации ферментов естественной антиоксидантной защиты. Этих данных явно недостаточно для углубленной оценки роли свободных радикалов в механизмах действия физических факторов различной природы, но их вполне хватает для вывода о необходимости продолжения дальнейших исследований в данной области. Совершенно очевидно, что такие исследования должны носить системный характер, а не ограничиваться определением одного — двух показателей (обычно в крови) этой многокомпонентной системы. Это тем более важно, что различные ткани на один и тот же сигнал, на одно и то же воздействие могут реагировать поразному.

Хотелось бы в заключение назвать некоторые направления, которые должны разрабатываться в физиотерапии по обсуждаемой проблеме.

1. Известные радикальные формы кислорода имеют различное происхождение, различаются продолжительностью существования и активностью, взаимодействием с различными метаболитами и компонентами АОС, а поэтому исключительно важный интерес представляет изучение изменений всего спектра АФК и антиоксидантов при действии физических факторов различной природы. Это не только расширит представления о свободнорадикальных процессах в организме, но и позволит уточнить роль генерации различных АФК в механизмах первичного действия физических факторов. Учитывая наличие магнитного момента у АФК, такие исследования прежде всего важны в изучении действия магнитных и электромагнитных полей.

2. Проблема дозы—эффекта, считающаяся одной из важнейших в физиотерапии, в отношении свободнорадикальных процессов практически не изучена. Между тем без этого нельзя целенаправленно использовать физические факторы для коррекции нарушений в этой системе при различных заболеваниях. Кроме того, определение уровня АФК, а также соотношения прооксидант/антиоксидант, думается, могло бы быть использовано для определения терапевтических дозировок физических факторов, их объективной градации на малые, средние и большие терапевтические дозировки.

3. Принципиальное значение имеет выяснение корреляции свободнорадикальных процессов, происходящих при действии лечебных факторов, с их терапевтическими и важнейшими физиологическими эффектами. Прежде всего надо изучить вклад баланса прооксидантов и антиоксидантов в реализацию или модуляцию бактерицидного (бактериостатического), противовоспалительного, метаболического, сосудорегулирующего, иммунотропного и других лечебных эффектов физиотерапевтических методов. Возможно такие исследования приблизят нас к пониманию и уточнению механизмов общего и специфического действия физиотерапевтических факторов.

4. Свободнорадикальные процессы, как отмечалось, играют в организме важную сигнальную роль, а поэтому изучение возможности коррекции их с помощью физиотерапевтических методов имеет огромное практическое значение. Такие исследования, кроме того, могут быть полезными и для уточ-

нения принципов дифференцированного использования физических факторов при патологических процессах, сопровождающихся различными нарушениями свободнорадикальных процессов и антиоксидантной защиты.

5. Как известно, лечебные физические факторы существенно влияют на фармакокинетику и фармакодинамику лекарств из различных фармакотерапевтических групп. Это влияние носит довольно сложный характер и трудно поддается прогнозированию. В связи с тем, что при лечении многих заболеваний прибегают к назначению различных антиоксидантов (убихинон, унитиол, витамины А, С и Е, эмоксипин, селен, силимарин, СОД, ионол и др.), необходимо выяснить влияние на их терапевтическую эффективность физических факторов в различных дозировках, применяемых в комплексе и, особенно, в сочетании с антиоксидантами.

Названным далеко не исчерпывается круг вопросов, подлежащих исследованию в физиотерапии по данной проблеме в ближайшее время. Нами названы важнейшие из них, которые имеют наибольшее практическое значение и над которыми работают автор с сотрудниками. Решение обозначенных в статье вопросов и высказанных предположений, думается, будет содействовать не только уточнению механизмов действия лечебных физических факторов, но и расширению их использования, а также повышению эффективности физиотерапии при заболеваниях, в патогенезе которых прослеживаются нарушения свободнорадикального окисления и генерации АФК.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Журавлев А.И.* Квантовая биофизика животных и человека. М.: БИНОМ; 2011. 398 с.
2. *Луценко В.К.* Молекулярная патофизиология. М.: Наука/Интерпериодика; 2004. 270 с.
3. *Мартинович Г.Г., Черенкевич С.Н.* Окислительно-восстановительные процессы в клетках. Минск: БГУ; 2006. 159 с.
4. *Зенков Н.К., Ланкин В.З., Меньшикова Е.Б.* Окислительный стресс. (Биохимический и патофизиологический аспекты). М.: Слово; 2011.
5. *Зенков Н.К., Меньшикова Е.Б.* Антиоксиданты и ингибиторы радикальных окислительных процессов. Успехи современной биологии. 1993; 113 (3): 286—96.
6. *Шанин Ю.Н., Шанин В.Ю., Зиновьев Е.В.* Антиоксидантная терапия в клинической практике. СПб.: ЭЛБИ-СПб; 2003. 128 с.
7. *Трегубова И.А., Косолапов В.А., Спасов А.А.* Антиоксиданты: современное состояние и перспективы. Успехи физиологических наук. 2012; 43 (1): 75—94.
8. *Сазонтова Т.Г., Архипенко Ю.В.* Значение баланса прооксидантов и антиоксидантов — равнозначных участников метаболизма. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2007; 3: 2—18.
9. *Сазонтова Т.Г.* Стрессиндуцированные изменения функционирования Са-транспортирующей системы саркоплазматического ретикулума сердца и ее устойчивость к эндогенным повреждающим факторам. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1989; 108 (9): 271—4.
10. *Zolotarjova N., Ho C., Mellgren R.L., Askari A., Huang W.H.* Different sensitivities of native and oxidized forms of Na+/K(+)-ATPase to intracellular proteinases. Biochim. Biophys. Acta. 1994; 1192 (1): 125—31.
11. *Roberts A., Messina E., Kaley G.* Prostacyclin (PGI2) mediates hypoxic relaxation of bovine coronary arterial strips. Prostaglandins. 1981; 21 (4): 555—69.
12. *Маянский А.Н., Маянский Д.Н.* Очерки о нейтрофиле и макрофаге. Новосибирск: Наука; 1983. 344 с.
13. *Palmeira C., Santos M., Carvalho A., Oliveira C.* Membrane lipid peroxidation induces changes in gamma-[3H]aminobutyric acid transport and calcium uptake by synaptosomes. Brain Res. 1993; 609 (1—2): 117—23.
14. *Рязанцева Н.В., Новицкий В.В., Часовских Н.Ю., Кайгородова Е.В., Старикова Е.Г., Стариков Ю.В.* Редокс-зависимая регуляция апоптоза: адаптивная роль активных форм кислорода при окислительном стрессе. Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2008; 94 (6): 710—8.
15. *Донцов В.И., Крутько В.Н., Мрикаев Б.М., Уханов С.В.* Активные формы кислорода как система: значение в физиологии, патологии и естественном старении. В кн.: Крутько В.Н., ред. Информатика здоровья и долголетия: Сборник трудов ИСА РАН. М.: УРСС; 2006; т. 19: 85—96.
16. *Дубинина Е.Е.* Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток (жизнь и смерть, созидание и разрушение). Физиологические и клинико-биохимические аспекты. СПб.: Мед. пресса; 2006. 400 с.
17. *Горожанская Э.Г.* Свободнорадикальное окисление и механизмы антиоксидантной защиты в нормальной клетке и при опухолевых заболеваниях. Клиническая лабораторная диагностика. 2010; 6: 28—44.
18. *Benzie J.* Evolution of antioxidant defense mechanisms. Eur. J. Nutr. 2000; 39 (2): 53—61.
19. *Владимиров Ю.А.* Свободные радикалы и антиоксиданты. Вестник РАМН. 1998; 7: 43—51.
20. *Владимиров Ю.А., Арчаков А.И.* Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М.: Наука; 1972.
21. *Bonnefoy M., Drai J., Kostka T.* Antioxidants to slow aging, facts and perspectives. Presse Med. 2002; 31: 1174—84.
22. *Кулинский В.И., Колесниченко Л.С.* Структура, свойства, биологическая роль и регуляция глутатионпероксидазы. Успехи современной биологии. 1993; 113 (1): 107—22.
23. *Nakamura T., Yamamoto I., Kanno Y., Shiba Y., Goshima K.* Metabolic coupling of glutathione between mouse and quail cardiac myocytes and its protective role against oxidative stress. Circ. Res. 1994; 74 (5): 806—16.
24. *Le C., Hollaar L., van der Valk E.J., Franken N.A., van Ravels F.J., Wondergem J., van der Laarse A.* Protection of myocytes against free radical-induced damage by accelerated turnover of the glutathione redox cycle. Eur. Heart J. 1995; 16 (4): 553—62.
25. *Hanselmann C., Mauch C., Werner S.* Heme oxygenase-1: a novel player in cutaneous wound repair and psoriasis? Biochem. J. 2001; 353: 459—66.
26. *Ryter S., Tyrrell R.* The heme synthesis and degradation pathways: role in oxidant sensitivity. Heme oxygenase has both pro- and antioxidant properties. Free Radic. Biol. Med. 2000; 28 (2): 298—309.

27. *Jaeschke H.* Mechanisms of oxidant stress-induced acute tissue injury. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1995; 209 (2): 104—11.

28. *Журавлев А.И.* Свободнорадикальная теория в приложении к действию физических факторов. В кн.: Вопросы экспериментальной и клинической курортологии и физиотерапии. М.; 1973: 20—9.

29. *Журавлев А.И.* Биофизические исследования в советской курортологии и физиотерапии. Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. 1969; 1: 9—17.

30. *Улащик В.С.* Введение в теоретические основы физической терапии. Минск: Наука и техника; 1981.

31. *Горбатенкова Е.А., Азизова О.А., Владимиров Ю.А.* Реактивация супероксиддисмутазы излучением гелий-неонового лазера. Биофизика. 1988; 33 (4): 717—9.

32. *Горбатенкова Е.А., Владимиров Ю.А., Парамонов Н.В., Азизова О.А.* Красный свет гелий-неонового лазера реактивирует супероксиддисмутазу. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1989; 107 (3): 302—5.

33. *Чичук Т.В., Страшкевич И.А., Клебанов Г.И.* Свободнорадикальные механизмы стимулирующего действия низкоинтенсивного лазерного излучения. Вестник РАМН. 1999; 2: 27—32.

34. *Острахович Е.А., Илич-Стоянович О., Афанасьев И.Б.* Активные формы кислорода и азота в клетках крови у больных ревматоидным артритом: эффект лазерной терапии. Вестник РАМН. 2001; 5: 23—7.

35. *Волотовская А.В., Слобожанина Е.И., Улащик В.С.* Мембрано-клеточные эффекты лазерного облучения крови. Лазерная медицина. 2005; 9 (1): 4—9.

36. *Артюхов В.Г., Башарина О.В., Рязанцев Л.Т., Болотова А.Ю.* Изучение влияния лазерного излучения (540 нм) на отдельные звенья ферментативной антиоксидантной системы крови. Радиационная биология и радиоэкология. 2002; 42 (2): 181—5.

37. *Змызгова А.В., Максимов В.А.* Клинические аспекты озонотерапии. М.: Медицина; 2003. 287 с.

38. *Ковальчук Л.С., Петренев Д.Р.* Влияние озонотерапии на свободнорадикальные процессы у больных ишемической болезнью сердца. Медицинские новости. 2008; 8: 97—100.

39. *Корягин А.С., Ястребова А.А., Крылов В.Н., Корнаухов А.В.* Влияние миллиметровых волн на устойчивость мембран эритроцитов, перекисное окисление липидов и активность ферментов сыворотки крови. Миллиметровые волны в биологии и медицине. 2000; 2: 8—10.

40. *Мазуренко Р.В., Махно С.Н., Горбик П.П., Дмитренко А.Б., Макарова Т.А., Сутковой Д.А.* Влияние низкоинтенсивного электромагнитного излучения на активность процессов перекисного окисления и антиоксидантной активности крови in vitro. Биомедицинская радиоэлектроника. 2009; 2: 11—5.

41. *Ciejka E., Kleniewska P., Skibska B., Goraca A.* Effects of extremely low frequency magnetic field on oxidative balance in brain of rats. J. Physiol. Pharmacol. 2011; 62 (6): 657—61.

42. *Falone S., Mirabilio A., Carbone M., Zimmitti V., Di Loreto S., Mariggiò M.A., Mancinelli R., Di Ilio C., Amicarelli F.* Chronic exposure to 50 Hz magnetic fields causes a significant weakening of antioxidant defense systems in aged rat brain. Int. J. Biochem. Cell Biol. 2008; 40 (12): 2762—70.

43. *Lee B., Johng H., Lim J.* Effects of extremely low frequency magnetic field on the antioxidant defense system in mouse brain: a chemiluminescence study. J. Photochem. Photobiol. B. 2004; 73 (1—2): 43—8.

44. *Zwirska-Korczala K., Jochem J., Adamczyk-Sowa M., Sowa P., Polaniak R., Birkner E., Latocha M., Pilc K., Suchanek R.* Effect of extremely low frequency of electromagnetic fields on cell proliferation, antioxidative enzyme activities and lipid peroxidation in 3T3-L1 preadipocytes-an in vitro study. J. Physiol. Pharmacol. 2005; 56 (Suppl. 6): 101—8.

45. *Гельфонд М.Л.* Фотодинамическая терапия в онкологии. Практическая онкология. 2007; 8 (4): 204—10.

46. *Улащик В.С.* Фотодинамическая терапия и ее применение в клинической медицине. Здравоохранение. 2006; 6: 24—8.

47. *Zheng Huang.* A review of progress in clinical photodynamic therapy. Technol. Cancer Res. 2005; 4 (3): 283—93.

48. *Узденский А.Б.* Клеточно-молекулярные механизмы фотодинамической терапии. М.: Наука; 2010.

49. *Странадко Е.Ф., Иванов А.В.* Современное состояние проблемы фотодинамической терапии рака и неопухолевых заболеваний. Биофизика. 2004; 49 (2): 380—3.

50. *Улащик В.С., Войченко Н.В.* Фотосенсибилизаторы: механизм действия, характеристика и клиническое применение. Новости медико-биологических наук. 2012; 5 (2): 214—24.

51. *Мартусевич А.А., Перетягин С.П., Мартусевич А.К.* Молекулярные и клеточные механизмы действия синглетного кислорода. Современные технологии в медицине. 2012; 2: 128—34.

52. *Самосюк И.З., Чухраев Н.В., Писанко О.И.* Синглетно-кислородная терапия: Научно-методическое пособие. Киев; М.; 2004. 85 с.

53. *Van der Valk T.* Singlet oxygen therapy. A manual. Göteborg; 1996.

54. *Самосюк И.З., Чухраев Н.В., Писанко О.И., Диденко А.А., Бондаренко Л.Н., Курик Л.М.* Синглетно-кислородная терапия. Аппараты «МИТ-С». Биомедицинская радиоэлектроника. Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. 2007; 1: 67—75.

55. *Улащик В.С.* Синглетно-кислородная терапия — новый модифицированный метод лечения кислородом. Здравоохранение. 2007; 10: 21—3.

56. *Bhattacharyya D., Sen P.C.* Purification and functional characterization of a low-molecular-mass Ca^{2+},Mg^{2+}- and Ca^{2+}-ATPase modulator protein from rat brain cytosol. Biochem. J. 1998; 330: 95—102.

Поступила 31.10.2012