

ЯВЛЕНИЯ ЗАПРОГРАММИРОВАННОЙ СМЕРТИ

Митохондрии, клетки и органы: роль активных форм кислорода

В. П. СКУЛАЧЕВ

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

THE PROGRAMMED DEATH PHENOMENA Mitochondria, cells and organs: role of reactive oxygen species

V. P. SKULACHEV

Living cells incorporate suicidal mechanisms (apoptosis). Recent studies suggest that such mechanisms are the feature of life phenomena, both at the subcellular level (suicide of mitochondria, or mitoptosis) and at the supracellular level (self-elimination of organs during embryo development, or organoptosis, occurring at embryogenesis). In all these cases, reactive oxygen species play an important role.

Живые клетки располагают механизмами самоубийства (явление апоптоза). Новейшие исследования позволяют полагать, что такие механизмы присущи также явлениям жизни как на субклеточном уровне (самоликвидация митохондрий, или митоптоз), так и на надклеточном уровне (самоликвидация органов при эмбриональном развитии, или органоптоз). Во всех этих случаях большую роль играют активные формы кислорода.

www.issep.rssi.ru

ВВЕДЕНИЕ

Общепринято, что дыхание клеток, то есть окисление пищевых продуктов кислородом, служит основным механизмом энергообеспечения человека, животных, аэробных бактерий, а также растений в темновой период суток. Однако, как и большинство других биохимических процессов, дыхание полифункционально, выполняя также и некоторые другие биологические функции [1–4]. Пожалуй, самой поразительной среди них является одноэлектронное или двухэлектронное восстановление кислорода соответственно до супероксида ($O_2^{\cdot -}$) или перекиси водорода. По существу такое дыхание есть механизм образования весьма токсичных активных форм кислорода (АФК). $O_2^{\cdot -}$ и H_2O_2 — предшественники радикала гидроксила (OH^{\cdot}), сильнейшего окислителя, разрушающего любое вещество живой клетки, включая самое ценное — ДНК [5]. Образование АФК, как выяснилось, тонко регулируемый организмом процесс. Это обстоятельство практически исключает возможность того, что АФК есть просто неизбежное зло, расплата за аэробный тип энергетики [5].

МИТОПТОЗ — ЗАПРОГРАММИРОВАННАЯ СМЕРТЬ МИТОХОНДРИЙ

Митохондрия, главная дышащая органелла клетки, содержит большое количество активных ферментов и коферментов — переносчиков электронов в дыхательной цепи [1–4]. Окислительно-восстановительный потенциал тех из них, что образуют начальные и средние участки цепи, часто оказывается отрицательнее, чем $-0,3\text{ В}$ (потенциал пары $O_2/O_2^{\cdot -}$). Это значит, что случайное взаимодействие данных переносчиков электронов с O_2 может привести к одноэлектронному восстановлению O_2 до супероксида $O_2^{\cdot -}$. Живая клетка принимает меры, чтобы поставить под свой контроль это событие, а если оно все же произошло, то не допустить образования OH^{\cdot} , наиболее токсической формы АФК.

Первые линии обороны митохондрий от АФК

Митохондрии располагают глубоко эшелонированной системой защиты от АФК, включающей следующие линии обороны.

1. Поглощение O_2 очень активной цитохромоксидазой, ферментом, обладающим удивительной способностью с высокой скоростью переносить четыре электрона на O_2 с образованием безобидного продукта – H_2O даже при очень низкой концентрации O_2 . Тем самым концентрация O_2 в митохондриях может поддерживаться на безопасно низком уровне, когда паразитные процессы одноэлектронного восстановления O_2 дыхательными переносчиками лимитируются уровнем O_2 [1–4].

2. Реокисление $O_2^{\cdot -}$ в O_2 под действием окисленного цитохрома *c*, десорбированного в межмембранное пространство митохондрий с внешней поверхности внутренней митохондриальной мембраны.

3. Превращение $O_2^{\cdot -}$, не проникающего через мембрану, в проникающую перекись водорода под дей-

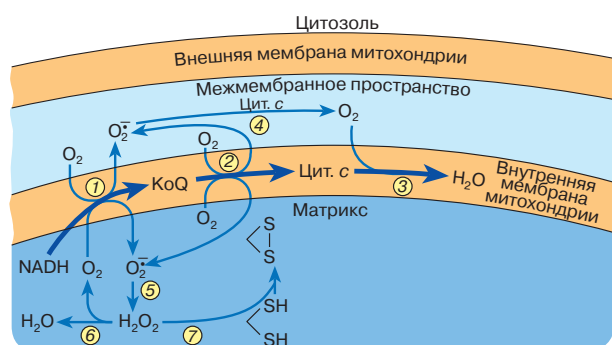


Рис. 1. Дыхательная цепь (толстые стрелки) и антиоксидантные системы митохондрий: 1 – окисление NADH посредством КоQ под действием фермента NADH-КоQ-редуктазы и сопутствующее образование супероксида ($O_2^{\cdot -}$) из O_2 ; 2 – окисление восстановленного КоQ цитохромом *c*, катализируемое КоQH₂-цитохром *c*-редуктазой, и сопутствующее образование $O_2^{\cdot -}$ из O_2 ; 3 – окисление восстановленного цитохрома *c* кислородом под действием цитохромоксидазы; 4 – реокисление $O_2^{\cdot -}$ в O_2 посредством цитохрома *c*, десорбированного в межмембранное пространство митохондрий; 5 – превращение $O_2^{\cdot -}$ в H_2O_2 , катализируемое супероксиддисмутазой; 6 – расщепление H_2O_2 на H_2O и O_2 под действием каталазы; 7 – превращение восстановленного глутатиона ($\begin{smallmatrix} \text{SH} \\ \text{SH} \end{smallmatrix}$) в окисленный глутатион ($\begin{smallmatrix} \text{S} \\ \text{S} \end{smallmatrix}$) с использованием H_2O_2 под действием глутатионпероксидазы

ствием супероксиддисмутазы, локализованной внутри митохондрий, то есть в митохондриальном матриксе.

4. Утилизация H_2O_2 в матриксе митохондриальными глутатионпероксидазой (окисляет глутатион перекисью водорода) и каталазой (превращает H_2O_2 в H_2O и O_2).

5. Удаление АФК посредством токоферола, КоQH₂, аскорбата и других низкомолекулярных антиоксидантов, непосредственно реагирующих с АФК. Благодаря (4) и (5) митохондрии избавляются от АФК, выделившихся в матрикс (рис. 1).

Следующие оборонительные рубежи

Если концентрация АФК в митохондриях продолжает нарастать несмотря на действие перечисленных выше механизмов, то клетка предпринимает более радикальные меры.

1. Под действием АФК в АТФ/АДФ-антипортере, белке внутренней мембраны митохондрий, происходит окисление SH-группы Cys-56, что приводит к превращению этого переносчика адениннуклеотидов в неспецифический канал, проницаемый для любых низкомолекулярных веществ. По-английски данный канал получил название “permeability transition pore” (РТР), что в переводе означает “пора, вызывающая переход (мембраны митохондрий) в состояние высокой проницаемости” (ППП). Возникновение таких пор ведет к нарушению осмотического баланса между матриксом и межмембранным пространством митохондрий. В обычных условиях этот баланс поддерживается в основном ионами K^+ и Cl^- . С открытием пор во внутренней мембране она становится проницаемой для этих ионов. Теперь уже только высокомолекулярные соединения (прежде всего белки), для которых мембрана по-прежнему непроницаема, обуславливают осмотическое давление. Поскольку в матриксе белков гораздо больше, чем в межмембранном пространстве, вода начинает поступать в матрикс, стремясь разбавить находящийся там белковый раствор. В результате матрикс набухает, гребни (складки) внутренней мембраны расправляются, а внешняя мембрана, площадь которой меньше площади внутренней мембраны, разрывается. При этом все белки, растворенные в межмембранном пространстве, и среди них цитохром *c*, выплескиваются в цитозоль (рис. 2).

Выход из митохондрий цитохрома *c* приводит к мобилизации следующих рубежей антиоксидантной защиты клетки.

2. Оказавшись вне митохондрий, цитохром *c* получает возможность удалять $O_2^{\cdot -}$ из цитозоля, превращая его в O_2 .

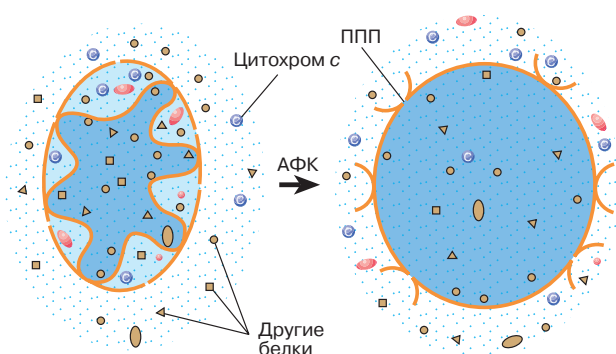
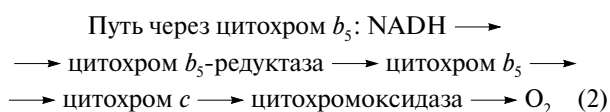
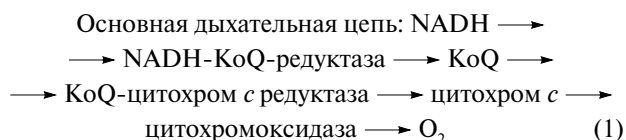


Рис. 2. Открытие поры (ППП) во внутренней мембране митохондрий под действием АФК приводит к набуханию митохондриального матрикса, разрыву внешней митохондриальной мембраны и выходу цитохрома с, а также других проапоптотических белков (красные эллипсы и кружки), из межмембранного пространства митохондрий в цитозоль. Синие точки – низкомолекулярные вещества, обуславливающие осмотический баланс между матриксом и межмембранным пространством при закрытых порах

3. Кроме того, цитохром с может окислить цитохром b_5 , локализованный на внешней поверхности внешней мембраны митохондрий и мембраны эндоплазматического ретикулума в таких тканях, как печень, почки, и некоторых других. В результате происходит перенос электронов в обход начальных и средних участков дыхательной цепи, то есть как раз тех мест, где возможно образование супероксида (уравнения (1), (2)):



4. По нашим данным, немитохондриальный цитохром с может каким-то способом выключить генерацию $\text{O}_2^{\cdot -}$ при обратном переносе электронов в начальном участке дыхательной цепи ($\text{KoQH}_2 \longrightarrow \text{NAD}^+$), то есть там, где образуется дыхательной цепью главная масса супероксида. Предполагается, что на внешней поверхности внешней митохондриальной мембраны существует некий рецептор цитохрома с, который посылает сигнал на NADH-KoQ-редуктазу внутренней мембраны, запрещающий этому ферменту восстанавливать кислород в условиях обратного переноса электронов.

Самоубийство митохондрий (митоптоз): последний рубеж антиоксидантной защиты митохондриальной популяции

Если не сработали также и дополнительные защитные меры, перечисленные в предыдущем разделе, и митохондрия продолжает образовывать большие количества АФК, то она обречена на гибель путем самоликвидации. Дело в том, что митохондрия с открытыми порами, подобно кораблю, где открыты кингстоны, не может существовать сколько-нибудь длительное время. В таких условиях полностью исчезает $\Delta\Psi$ (трансмембранная разность электрических потенциалов), что делает невозможным импорт митохондрией белков-предшественников, синтезируемых в цитозоле, поскольку один из этапов этого процесса представляет собой электрофоретическое перемещение положительно заряженной лидерной последовательности белка из цитозоля в матрикс, заряженный отрицательно.

Примечательно, что гибель митохондрии, образующей избыток АФК, не требует никаких белков, кроме тех, что уже есть в самих митохондриях. Создается впечатление, что митохондрия, не справившаяся с проблемой детоксикации собственных АФК, кончает с собой, чтобы избавить клетку от возможных неприятностей. Иными словами, длительное открытие ППП не что иное, как самоубийство митохондрии, ставшей опасной для клетки. Таким образом, может поддерживаться чистота популяции митохондрий в клетке.

По аналогии с апоптозом, то есть запрограммированной смертью клетки, я назвал это явление митоптозом.

Митоптоз как частный случай “самурайского” закона биологии

Правомерен вопрос, не слишком ли дорого обходится клетке защитный механизм, требующий самоликвидации ее важнейших органелл. По-видимому, здесь мы должны учитывать два обстоятельства. Во-первых, митоптоз есть последний эшелон обороны митохондрий от АФК, включающийся только в тех случаях, когда все предшествующие линии антиоксидантной защиты оказались недостаточными. Во-вторых, есть все основания считать, что клетка может идти на самые серьезные жертвы в тех случаях, когда под угрозой оказывается ее геном. Известно, что именно атака ДНК активными формами кислорода служит главной причиной повреждения генетического аппарата. Нет сомнений, что защита ДНК представляет собой важнейший приоритет для любого организма. Ведь нарушение генетической программы, создание которой потребовало миллиарды лет, может привести к абсолютно необратимым и

трагическим последствиям не только для клетки, но и для организма, популяции и даже вида.

Вот почему, когда возникает серьезный риск потери интактности ДНК, вступает в действие жестокий принцип, который я определил как “самурайский закон биологии”: “Лучше умереть, чем ошибиться”. Закон этот означает, что любая достаточно сложная биологическая система (от органеллы и выше) всегда готова к самоликвидации. Она кончает с собой, если становится опасной для самого существования живой системы, занимающей более высокую ступень в иерархии организации жизни.

Есть основания полагать, что данный принцип используется живыми системами в целях защиты не только ДНК, но и других программ высокой степени сложности, как, например, тех, что определяют поведение высших организмов.

АПОПТОЗ – ЗАПРОГРАММИРОВАННАЯ СМЕРТЬ КЛЕТКИ

Массовый митоптоз ведет к апоптозу

Как уже отмечалось выше, АФК вызывают открытие пор во внутренней митохондриальной мембране, набухание матрикса и разрыв внешней мембраны митохондрий с освобождением белков межмембранного пространства в цитозоль. Среди этих белков помимо цитохрома *c* обнаружены: 1) фактор, индуцирующий апоптоз (apoptosis – inducing factor, AIF), 2) второй митохондриальный фактор, активирующий апоптоз (second mitochondrial apoptosis – activating factor, Smac) и 3) прокаспазы 9 (см. ниже). Все эти белки так или иначе участвуют в реализации сигнала запрограммированной смерти клетки (апоптоза).

Механизм включения апоптоза посредством AIF состоит в активации нуклеазы, расщепляющей ядерную ДНК. Самоубийство клетки, опосредованное цитохромом *c*, происходит иным, более сложным образом. Цитохром *c*, вышедший из митохондрии в цитозоль, связывается с цитозольным белком, названным “первый фактор, активирующий апоптоз” (Araf-1). С Araf-1 связываются также дезоксиАТР (dАТР) и несколько молекул прокаспазы 9 (неактивного предшественника каспазы 9, особого фермента-протеазы). После образования комплекса прокаспазы 9 расщепляется на каспазу 9 и более короткий пептид, не обладающий какой-либо активностью. Каспаза 9 атакует прокаспазу 3, расщепляя ее с образованием активной каспазы 3. Каспаза 3 – это протеаза, которая осуществляет протеолиз ферментов, занимающих ключевые позиции на метаболической карте клетки, а также белки-предшественники нуклеаз и структурные белки. Все это в конечном счете

ведет к смерти клетки и гидролизу ее белков и нуклеиновых кислот до аминокислот и нуклеотидов. Smac, еще один проапоптотический белок межмембранного пространства, связывается с ингибиторами белков, активирующих апоптоз (IAP). Белки типа IAP тормозят каспазы 3, 9 и некоторые другие.

Приняв во внимание изложенное выше, можно представить себе следующий сценарий событий, призванных защитить организм от АФК, генерируемых митохондриями. Образовавшись в митохондриях, АФК вызывают открытие ППП и как следствие – выход цитохрома *c* в цитозоль, что немедленно включает дополнительные антиоксидантные механизмы, а затем митоптоз. Если в митоптоз уходит лишь небольшая часть внутриклеточной популяции митохондрий, концентрации цитохрома *c* и других митохондриальных проапоптотических белков в цитозоле не достигают значений, необходимых, чтобы активировать апоптоз. Если же все больше и больше митохондрий становятся суперпродукентами АФК и “открывают кингстоны”, эти концентрации возрастают и начинается апоптоз клетки, содержащей много дефектных митохондрий. В результате происходит очистка ткани от клеток, митохондрии которых образуют слишком много АФК.

Следует подчеркнуть, что дисфункция митохондрий уже сама по себе может вызвать гибель клетки, если эта клетка поддерживает свою энергетику за счет АТР, образуемого при дыхании. Однако апоптоз, вызываемый смертоносными белками межмембранного пространства, активируется гораздо раньше, чем происходит истощение внутриклеточного АТР. Более того, dАТР, находящийся в равновесии с АТР, необходим для включения апоптоза.

Создается впечатление, что появление больших количеств цитохрома *c* и других митохондриальных белков в цитозоле служит для клетки сигналом глубокого неблагополучия ее митохондрий. Такая клетка кончает с собой, следуя жестокому самурайскому закону.

Зловещая роль фосфатидилсерина

Показано, что клетку можно послать в апоптоз посредством как тех АФК, которые генерируются ее митохондриями, так и АФК, поступающих извне. В последнем случае важную роль играет фосфолипид фосфатидилсерин внешней (плазматической) мембраны клетки.

В этой мембране фосфатидилсерин обычно присутствует только во внутреннем липидном слое. Такое асимметричное распределение данного фосфолипида обусловлено действием особой транспортной АТРАЗы, переносившей фосфатидилсерин из внешнего липидного слоя плазматической мембраны во внутренний. Эта

АТРаза либо инактивируется окисленной формой фосфатидилсерина, либо просто не узнает окисленный фосфолипид. Вот почему окисление фосфатидилсерина посредством АФК ведет к его появлению во внешнем слое плазматической мембраны. По-видимому, существует специальный рецептор, обнаруживающий фосфатидилсерин в наружном липидном слое. Предполагается, что этот рецептор, связав фосфатидилсерин, шлет внутрь клетки сигнал апоптоза.

“Принудительное самоубийство” клетки. Роль лейкоцитов и TNF

Фосфатидилсерин играет ключевую роль в так называемом принудительном апоптозе, вызываемом определенным типом лейкоцитов. Клетка с фосфатидилсерином во внешнем слое клеточной мембраны узнается этими лейкоцитами, которые посылают ее в апоптоз. Один из апоптогенных механизмов, используемых лейкоцитами, состоит в том, что лейкоциты начинают выделять в межклеточное пространство вблизи клетки-мишени белки перфорин и гранзимы. Перфорин проделывает отверстия во внешней мембране клетки-мишени. Гранзимы входят в клетку и запускают в ней апоптоз.

Иной способ, используемый лейкоцитом для принуждения клетки-мишени войти в апоптоз, состоит в ее бомбардировке супероксидом, образующимся снаружи лейкоцита посредством специальной трансмембранной дыхательной цепи плазматической мембраны. Эта цепь окисляет внутриклеточный NADPH, с которого электроны переносятся на флаavin и далее на особый цитохром *b*, способный окисляться кислородом с выделением супероксида снаружи лейкоцита. Супероксид и другие образующиеся из него АФК окисляют фосфатидилсерин плазматической мембраны клетки-мишени, тем самым усиливая апоптозный сигнал, посылаемый клетке этим фосфолипидом.

Другой апоптогенный механизм включает секрецию лейкоцитами фактора некроза опухолей (tumor necrosis factor, TNF). TNF связывается с его рецептором на внешней стороне плазматической мембраны клетки-мишени, что активирует сразу несколько параллельных путей запуска апоптоза. В одном из них происходит образование активной каспазы 8 из прокаспазы 8. Каспаза 8 — протеаза, расщепляющая цитозольный белок Bid с образованием его активной формы, tBid (truncated Bid). tBid меняет конформацию другого белка, Вах, вызывая образование проницаемого для белков канала во внешней мембране митохондрий, что приводит к их выходу из межмембранного пространства в цитозоль.

Разнообразие путей АФК-зависимого апоптоза иллюстрирует рис. 3. Истинная картина, по всей вероят-

ности, еще более сложна, так как помимо TNF есть и другие внеклеточные индукторы апоптоза (цитокины), действующие каждый через свой собственный рецептор. Кроме того, существуют антиапоптозные системы, противостоящие проапоптозным системам. Среди них белки типа Bcl-2, тормозящие проапоптотическую активность Вах; уже упоминавшиеся ингибиторы каспаз (IAP); белок NFkB (nuclear factor kB), индуцируемый посредством TNF. NFkB включает группу генов, среди которых есть те, которые кодируют супероксиддисмутазу и другие антиоксидантные и антиапоптозные белки.

Все эти сложности отражают то очевидное обстоятельство, что для клетки решение покончить с собой есть крайняя мера, когда исчерпаны все другие возможности предотвращения ее ошибочных действий.

Биологические функции апоптоза

Перепроизводство АФК лишь одна из многочисленных причин клеточного самоубийства. То же явление организм использует в процессе онтогенеза, чтобы избавиться от клеток, подлежащих ликвидации из-за того, что они уже сделали свое дело. Также и во взрослом организме бездомные клетки, случайно оказавшиеся вне своей ткани и потому ненужные, кончают с собой, будучи лишены особых внеклеточных антиапоптотических белков, специфических для каждой ткани. На поверхности клетки имеются антиапоптозные рецепторы, активирующиеся при связывании этих белков. По существу белки, о которых идет речь, непрерывно посылают клетке сигнал: “Живи дальше!” Исчезновение такого сигнала дает преимущества проапоптозным системам клетки над антиапоптозными, и клетка кончает с собой в полном соответствии с самурайским законом.

Среди сигналов к самоубийству клетки есть и такие, что возникают при клеточных патологиях. Как уже отмечалось, появление митохондриальных белков в цитозоле сигнализирует клетке о сильном повреждении ее митохондрий. Недавно было показано, что активация каспазы 12 специфична для дисфункции эндоплазматического ретикулаума. Снижение уровня АТР в клетке также воспринимается ею как повод уйти в апоптоз.

Апоптозом уничтожаются клетки иммунной системы, образующие антитела к собственным белкам организма. Апоптоз участвует в антивирусной защите и борьбе со злокачественным перерождением. Появление поврежденной ДНК или денатурация белков также могут стать причиной клеточного самоубийства.

Повреждение ядерной ДНК — наиболее трагичное событие для любой эукариотической клетки. У эукариот существует специальный белок p53, названный стражем генома. Он отслеживает появление разрывов в

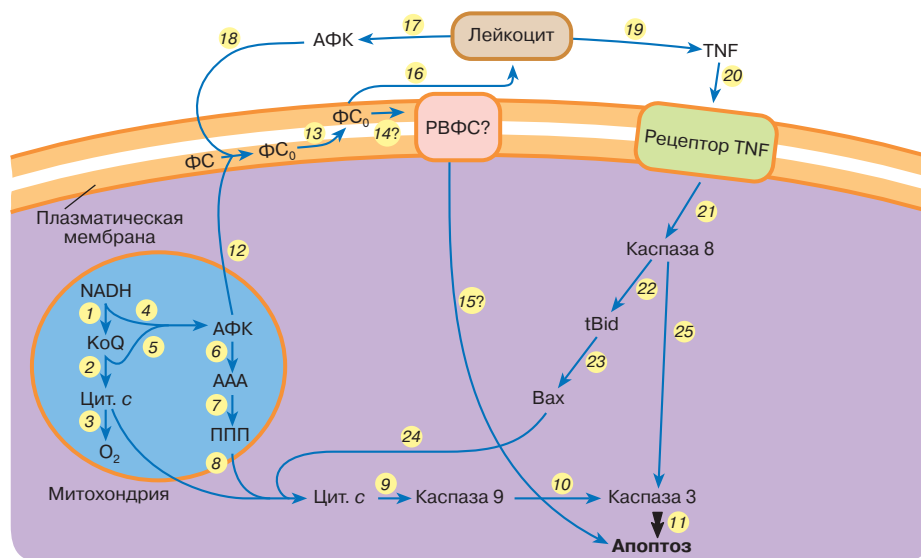


Рис. 3. Некоторые пути передачи апоптотических сигналов: 1–3 – митохондриальная дыхательная цепь; 4, 5 – образование АФК дыхательной цепью; 6, 7 – превращение АТФ/АДФ-антипортера (ААА) в пору (ППП) во внутренней митохондриальной мембране под действием АФК; 8 – выход цитохрома с, АИФ и других проапоптотических белков (не показаны) из-за разрыва внешней мембраны митохондрий, произошедшего вследствие открытия ППП; 9–10 – активация каспазы 9 и далее каспазы 3 вследствие выхода цитохрома с; 11 – апоптоз под действием каспазы 3; 12 – окисление фосфатидилсерина (ФС) внутреннего фосфолипидного слоя плазматической мембраны клетки активными формами кислорода, продуцируемыми митохондриями; 13 – появление ФС и окисленного ФС (ФС₀) во внешнем фосфолипидном слое плазматической мембраны; 14 – связывание ФС₀ или ФС с рецептором внешнего фосфатидилсерина (РВФС?), отслеживающим их появление во внешнем фосфолипидном слое; 15 – индукция апоптоза, включаемая комплексом РВФС • ФС; 16 – стимуляция проапоптотической активности лейкоцитов, отслеживающих появление ФС снаружи клетки-мишени. Эта стимуляция состоит: а) в продукции АФК дыхательной цепью плазматической мембраны лейкоцита (17), что приводит к дальнейшему окислению ФС в клетке-мишени (18), и б) в выделении TNF (19), активирующего соответствующий рецептор клетки-мишени (20); 21–24 – цепь событий, ведущих к выходу митохондриальных белков без участия АФК; 25 – прямая активация каспазы 3 посредством каспазы 8

ДНК и в ответ на это: 1) активирует гены, кодирующие те белки, которые обеспечивают репарацию ДНК, 2) блокирует (если первое не помогает) синтез белков клеточного деления и 3) включает программу апоптоза, если количество повреждений ДНК превышает некий критический уровень. Именно эта стратегия обуславливает высокую степень консерватизма генома, абсолютно необходимую для сохранения достижений биологической эволюции. “Лучше умереть, чем жить с неправильной ДНК” – вот важнейшее проявление самурайского принципа биологии.

Другой причиной апоптоза может быть денатурация клеточных белков. Известно, что белок теплового шока hsp70 (heat shock protein 70) участвует в ренатурации таких белков. При этом образуется комплекс “денатурированный белок · hsp70”, что с неизбежностью

ведет к снижению концентрации свободного hsp70 в цитозоле. Снижение [hsp70] активирует апоптоз двумя независимыми способами. Один из них обусловлен тем обстоятельством, что связывание hsp70 с Araf-1 (стадия 3) блокирует запуск апоптоза цитохромом с. Очевидно, что денатурация белков должна активировать апоптоз из-за уменьшения концентрации свободного hsp70 и как следствие – снятия блокады апоптотического пути, требующего Araf-1.

Заключая этот раздел, можно сказать, что клетка уходит в апоптоз, если что-то случается с: а) ее ДНК (активируется проапоптотический белок p53), б) белками (связывается антиапоптотический белок hsp70) или в) липидами (фосфатидилсерин появляется на внешней поверхности плазматической мембраны). В любом из этих случаев реализуется один из механизмов апоптоза,

указанных на рис. 3, причем главный из них, по-видимому, описывается следующей цепью событий:

сигнал самоубийства \rightarrow митоптоз \rightarrow апоптоз (3)¹

ОРГАНОПТОЗ: ЗАПРОГРАММИРОВАННАЯ САМОЛИКВИДАЦИЯ ОРГАНОВ

Очевидно, что массовый апоптоз клеток, образующих тот или иной орган, должен вести к самоликвидации этого органа. Подобный процесс можно было бы назвать органоптозом. Рассмотрим для примера исчезновение хвоста головастика, превращающегося в лягушку. Механизм этого явления был недавно изучен японскими авторами. Исследовалось действие тироксина, гормона, который у головастика вызывает регрессию хвоста. К отрезанным хвостам, переживающим в специальной среде, добавляли тироксин и наблюдали в часовой шкале времени укорочение хвостов. Как оказалось, тироксин включает следующую цепь событий:

тироксин \rightarrow индукция NO-синтазы \rightarrow [NO] \uparrow \rightarrow \rightarrow инактивация каталазы и глутатионпероксидазы посредством NO \rightarrow [H₂O₂] \uparrow \rightarrow апоптоз (3)

Помимо процессов, указанных в уравнении (3), NO, по-видимому, может вызывать апоптоз, реагируя с O₂⁻ с образованием пероксинитрита (ONOO⁻), весьма агрессивной формы АФК.

Есть основания полагать, что в случаях такого рода H₂O₂ и NO действуют в качестве медиаторов апоптоза не только внутри той клетки, где они образовались, но

также и клеток-соседей. Это должно быть особенно важно для явлений запрограммированной смерти на надклеточных уровнях. Используя H₂O₂ и NO, небольшие молекулы, легко проникающие через мембраны, можно осуществить элиминацию участков, зараженных вирусом. Показано, что по крайней мере в некоторых случаях вирусных инфекций инфицированная клетка выделяет такие количества H₂O₂ и NO, которых хватает, чтобы послать в апоптоз как ее саму, так и ближайших соседей — вероятных кандидатов на заражение. В результате вокруг зараженной клетки возникает мертвая зона, что препятствует распространению инфекции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Скулачев В.П. Кислород в живой клетке: Добро и зло // Соросовский Образовательный Журнал. 1996. № 3. С. 4–16.
2. Скулачев В.П. Законы биоэнергетики // Там же. 1997. № 1. С. 9–14.
3. Скулачев В.П. Альтернативные функции клеточного дыхания // Там же. 1998. № 8. С. 2–7.
4. Скулачев В.П. Эволюция, митохондрии и кислород // Там же. 1999. № 9. С. 1–7.
5. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы в биологических системах // Там же. 2000. Т. 6, № 12. С. 13–19.
6. Агол В.И. Генетически запрограммированная смерть клетки // Там же. 1996. № 6. С. 20–24.

Рецензент статьи Ю.А. Владимиров

* * *

Владимир Петрович Скулачев, директор Института физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ, доктор биологических наук, профессор, действительный член Российской академии наук, лауреат Государственной премии СССР, премии им. А.Н. Баха Президиума АН СССР, почетный профессор МГУ. Основатель отечественной школы энергетики биологических мембран. Автор фундаментальных работ по энергетике клетки, более 350 статей в российских и международных журналах, шести монографий и одного учебника.

¹ Этот гипотетический механизм был предложен нами в 1998 году, а в марте 2001 года появилась публикация А.М. Толковски и сотрудников из Кембриджа. Авторы затормозили переход митоптоза в апоптоз посредством вещества — ингибитора каспаз. В результате оказался выключенным главный апоптозный каскад, так что клетка некоторое время оставалась жива несмотря на смертоносный сигнал (в этом случае сигналом служило исключение из среды роста белка — ростового фактора). Спустя три дня в клетках не осталось ни одной митохондрии, причем исчезли как митохондриальные белки, так и ДНК. При этом клеточное ядро, эндоплазматическая сеть и другие внутриклеточные структуры не изменились. Спустя еще несколько дней клетки все же погибли, вероятно из-за действия других механизмов самоубийства, не требующих участия каспаз.