

УДК 546.172.6:577.12

ПЕРОКСИНИТРИТ: ТОКСИЧЕСКИЙ АГЕНТ И СИГНАЛЬНАЯ МОЛЕКУЛА (ОБЗОР)

© 2020 г. Ю. В. Абаленихина¹, О. В. Космачевская², А. Ф. Топунов², *

¹Рязанский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова, Рязань, 390026 Россия

²Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр
“Фундаментальные основы биотехнологии” Российской академии наук, Москва, 119071 Россия

*e-mail: aftopunov@yandex.ru

Поступила в редакцию 25.05.2020 г.

После доработки 10.06.2020 г.

Принята к публикации 02.07.2020 г.

Активная форма азота – пероксинитрит, является одним из самых сильных окислителей в организме. В зависимости от условий он либо подвергается биотрансформации и детоксикации, либо взаимодействует с различными соединениями (белки, в том числе ферменты, липиды, нуклеиновые кислоты, углеводы), модифицируя их. Наиболее активно подвергаются воздействию тиолы, включая остатки цистеина в белках. Ингибирующее действие пероксинитрита на ферменты в наибольшей степени было описано для оксидоредуктаз, в которых он также чаще всего действовал на цистеин. Модифицированные биомолекулы могут быть токсичны, однако в физиологических концентрациях они способны функционировать как участники сигнальных путей. Описанные данные показывают, что пероксинитрит является не только токсическим агентом, но и компонентом системы мессенджеров и сигнальной молекулой, ответственной за окислительно-восстановительную регуляцию клеточного метаболизма. Важными аспектами его изучения являются пути детоксикации, что может способствовать поиску лекарственных препаратов против заболеваний, сопровождаемых нитрозативным стрессом.

Ключевые слова: пероксинитрит, пероксинитрозная кислота, оксид азота, цистеин, токсическое действие, сигнальная функция

DOI: 10.31857/S0555109920060021

В живых организмах функционирует большое количество химических соединений, которые в процессе обмена могут выполнять многообразную, а иногда и прямо противоположную роль. Так, при повышении концентрации многие антиоксиданты переходят в статус прооксидантов, что необходимо учитывать при описании их свойств. Известно также, что многие соединения в организме при определенных условиях могут выполнять и сигнальную функцию. К таким соединениям можно отнести и пероксинитрит, у которого обычно описывают лишь его свойства как сильного окислителя.

Пероксинитритный анион (ONOO^-) образуется *in vivo* в результате реакции между оксидом азота (NO) и супероксидным анион-радикалом ($\text{O}_2^{\cdot-}$). Несмотря на короткий период полураспада (10 мс при физиологическом значении pH), ONOO^- способен проникать через биологические мембраны, как путем пассивной диффузии, так и через анионные каналы. Пероксинитрит является анионом пероксинитрозной кислоты (ONOOH), поэтому обмен этих двух соединений обычно рассматривают в комплексе.

После синтеза ONOO^- может удаляться веществами-ловушками или подвергаться биотрансформации с образованием нетоксичных продуктов, а также выступать в качестве сигнальной молекулы и токсического агента.

Дальнейшие превращения пероксинитрита: биотрансформация, детоксикация или взаимодействие с мишенями зависят от доступности субстратов и условий окружающей среды клетки. С одной стороны, его обмен приводит к образованию токсичных продуктов, а с другой – эти же продукты могут быть звеньями сигнальных цепей. Так, например, повреждение аминокислотных остатков в молекулах белка способствует изменению их функциональной активности, а повреждение ферментов – снижению каталитической активности и, в результате, отключает или ослабляет отдельные реакции, что приводит к нарушению метаболических путей и каскадов регуляции. Продукты модификации липидов – окисленные липиды и нитролипиды, также могут быть не только маркерами окислительного стресса, но и сигнальными молекулами.

Для понимания роли ONOO^- в организме необходимо знать, при каких условиях он выступает в роли токсического агента, а когда – в роли сиг-

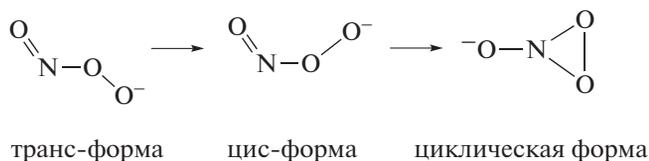


Рис. 1. Конформационные изомеры пероксинитрита.

нальной молекулы, изменяющей метаболические пути с целью повышения адаптации к патофизиологическому состоянию. В данном обзоре обобщается имеющаяся на сегодняшний день информация о путях обмена пероксинитрита в организме и процессах, в которых он может принимать участие как реакционно-активная и как сигнальная молекула.

СИНТЕЗ И ДЕТОКСИКАЦИЯ ПЕРОКСИНИТРИТА

Роль оксида азота в синтезе пероксинитрита. Пероксинитрит является одним из метаболитов оксида азота (NO), и его образование и распад напрямую связаны с обменом самого NO. Более трех десятилетий назад стало известно, что NO участвует во многих процессах в организме [1, 2] и было доказано, что он является важнейшим внутри- и межклеточным вторичным мессенджером [3]. NO влияет на многие функции клеток через циклические GMP-зависимые и независимые механизмы, являясь универсальным регулятором клеточного метаболизма. Он участвует во многих жизненно важных процессах: ингибирует агрегацию тромбоцитов и их адгезию на стенках кровеносных сосудов [4]; регулирует тонус кровеносных сосудов [5], деятельность органов дыхания [6], желудочно-кишечного тракта [7], мочеполовой [8] и нервной систем [9], иммунный ответ [10, 11] и многое другое. Выявление регуляторной роли NO способствовало открытию его двойственной роли в живых системах, как про-, так и антиоксидантной.

Пути синтеза NO могут быть NOS-зависимыми (катализируемыми NO-синтазами) и NOS-независимыми. В первом случае NO синтезируется при ферментативной трансформации гуанидинового фрагмента L-аргинина с участием ферментов семейства цитохром-P-450-подобных гемопротенидов — NO-синтаз [12]. Во втором — можно выделить генерацию NO при взаимодействии аргинина и H_2O_2 , а также восстановление нитрит-ионов до NO в ферментативных и неферментативных реакциях.

Оксид азота отличается высокой реакционной способностью благодаря наличию неспаренного электрона на внешней π -орбитали. Основными продуктами его окисления являются химически инертные нитратные ионы, способные вновь превращаться в NO при восстановлении. NO относительно медленно реагирует с большинством биологических молекул, но активно взаимодействует со свободными радикалами: гидроксильным (OH^\bullet),

супероксид-анионом ($\text{O}_2^{\bullet-}$), пероксильным (ROO^\bullet), тиильным (RS^\bullet) и радикалом тирозина (Tyr^\bullet).

Синтез пероксинитрита обычно происходит в результате взаимодействия $\text{O}_2^{\bullet-}$ и NO : $\text{N}=\text{O} + \text{O}^-\text{O}^\bullet \rightarrow \text{O}=\text{N}-\text{O}-\text{O}^-$.

Избыточный синтез NO и токсические эффекты, связанные с образованием пероксинитрита, могут вызвать различные патологические последствия [13].

В образовании пероксинитрита участвует не только свободный супероксид-анион-радикал, но и связанный с железом гемовой группы. В результате такой реакции образуется связанный с гемом пероксинитрит — пероксинитритный комплекс [14, 15].

Пероксинитрит не является свободным радикалом, так как неспаренные электроны супероксидного анион-радикала и оксида азота участвуют в образовании новой связи ($\text{ON}-\text{OO}^-$). Содержание ONOO^- в клетке незначительно, поскольку при физиологическом значении pH он существует в равновесии с протонированной формой — пероксинитрозной кислотой (ONOOH , pK_a 6.6–6.8) [16, 17].

Пероксинитрит и пероксинитрозная кислота могут существовать в виде конформационных цис- и транс-изомеров, которые также являются ротамерами [18]. При нейтральных и щелочных значениях pH преобладает цис-изомер. Из-за локализации отрицательного заряда по всей цис-молекуле пероксинитрита между концевыми атомами кислорода существует слабое взаимодействие, что способствует образованию его циклической формы [16]. Взаимопревращения изомеров ONOO^- показаны на рис. 1.

Детоксикация пероксинитрита: ловушки и биотрансформация. Важным аспектом в изучении метаболизма пероксинитрита являются пути его детоксикации, которые можно разделить на удаление ловушками (“уборщиками”) и трансформацию до нитритов/нитратов (рис. 2).

Пероксинитрозная кислота неустойчива и разлагается по гомолитическому пути, что приводит к продукции OH^\bullet и NO_2 (с выходом ~30%), причем оба эти соединения могут инициировать радикальные цепные реакции, усиливая окислительное повреждение. Протон-катализируемое разложение ONOO^- может протекать более активно в гидрофобных фазах (например, в клеточных мембранах), что приводит к перекисному окислению липидов. Большая часть ONOO^- (~70%) изомеризуется в нитрат в присутствии гемоглобина (Hb), который выступает в качестве катализатора [19].

Биотрансформация пероксинитрита. Пероксинитрит является нестабильной химической молекулой, его судьба определяется кинетикой доступных реакций, и в биохимических системах их можно обобщить в виде трех возможных путей [20]. Детоксикация пероксинитрита происходит в результате изомеризации в нитрат и восстановления до нит-

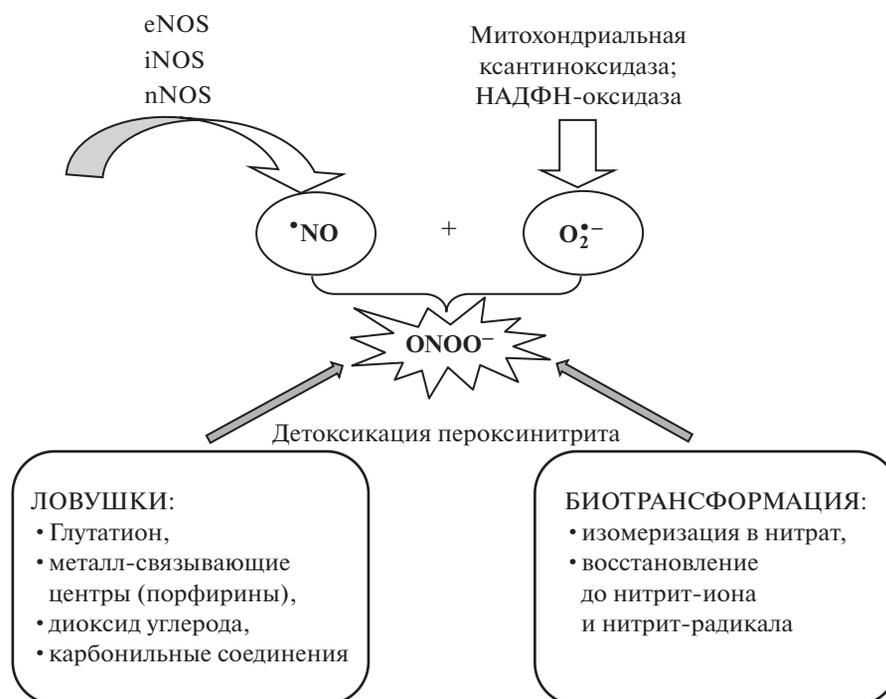
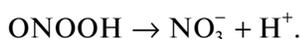


Рис. 2. Синтез и детоксикация пероксинитрита. eNOS, iNOS, nNOS – эндотелиальная, индуцируемая и нейрональная NO-синтазы соответственно.

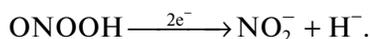
рит-иона и нитрит-радикала в реакциях двух- или одноэлектронного восстановления соответственно.

1. Протон-зависимая изомеризация в нитрат:



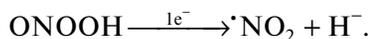
Нетоксичный путь распада до нитрата, поскольку нитрат имеет очень ограниченную биологическую активность. Эту реакцию катализируют гемопротейды, в частности, – оксигемоглобин и метмиоглобин, а также синтетические Fe^{III}-порфирины.

2. Двухэлектронное восстановление до нитрит-иона:



Этот путь является в количественном отношении наиболее значимым путем деградации в биологических системах. Реакция катализируется гемпероксидазами, Mn^{II}-порфиринами и пероксиредоксинами [21].

3. Одноэлектронное восстановление до нитрит-радикала *NO₂:



Реакция катализируется гем-пероксидазами, Mn^{III}-порфиринами и Fe^{III}-порфиринами.

Ловушки пероксинитрита. *Глутатион.* Пероксинитрит реагирует с глутатионом с образованием S-нитрозотиола, который может быть источником NO [22]. Этот механизм также может представлять собой один из путей детоксикации пероксинитрита/пероксинитрозной кислоты (рис. 3).

Ферментом, катализирующим эту реакцию, является тетрамерная селенсодержащая глутатионпероксидаза (**GPx**, КФ 1.11.1.9), которая в восстановленной форме реагирует с пероксинитритом при pH 7.4 и 25°C [22]. Реакция представляет собой каталитическое двухэлектронное восстановление ONOO⁻ до нитрита, а окисленная форма фермента утилизируется за счет глутатиона, который, в свою очередь, восстанавливается под действием глутатионредуктазы (КФ 1.8.1.7) в присутствии NADPH₂.

Fe-; Mn-порфирины. Среди синтетических ловушек пероксинитрита известны порфирины марганца (**MnP**) [23]. При взаимодействии ONOO⁻ с Mn(III)P и Mn(II)P образуются *NO₂ и NO₂⁻ соответственно и Mn(IV)P, который является сильным окислителем. Затем в результате реакции Mn(IV)P с восстановителями (**Rd**) образуются Mn(III)P и производные радикалов Rd^{*} [20]. Таким образом, взаимодействие пероксинитрита с Mn(III)-порфиринами представляет собой каталитический цикл (рис. 4). Следует отметить, что окисленный комплекс марганца способен взаимодействовать практически с любым доступным восстановителем. Чаще всего в качестве восстановителей выступают ураты, аскорбат, глутатион или тирозин.

Представленный механизм утилизации пероксинитрита может быть использован для регуляции биологически нежелательных реакций *in vitro*, например, окисления ДНК или нитрозилирования тирозина. Тем не менее, *in vivo* этот процесс маловероятен из-за доступности других потенциальных восстановителей.

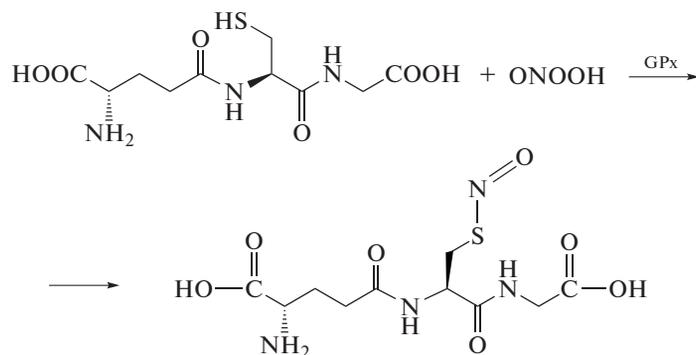


Рис. 3. Взаимодействие пероксинитрозной кислоты с глутатионом в присутствии селенсодержащей глутатионпероксидазы (GPx, КФ 1.11.1.9).

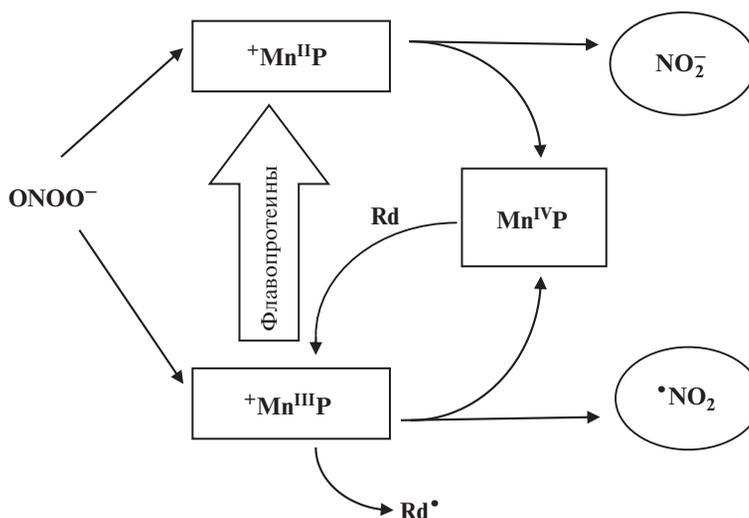
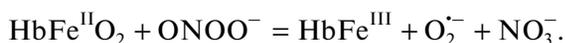


Рис. 4. Взаимодействие пероксинитрита с Mn-порфиринами. Mn(II)P, Mn(III)P, Mn(IV)P – Mn-порфирины с разной степенью окисления марганца; Rd – восстановитель; Rd• – радикал восстановителя.

Железопорфирины катализируют изомеризацию пероксинитрита в нитрат:



Использование в качестве ловушек синтетических железопорфиринов имеет большое практическое значение при пероксинитрит-опосредованных патологиях [24].

Диоксид углерода. Одним из путей распада пероксинитрита является взаимодействие с CO_2 (рис. 5). Углекислый газ связывает пероксинитрит с образованием пероксикарбоната (ONOOCO_2^-), который распадается с образованием радикальных продуктов: нитрит-радикала ($\cdot\text{NO}_2$) и нитрит-анион-радикала ($\cdot\text{NO}_3^-$) [25, 26]. Скорость реакции зависит от наличия в среде пероксидаз, а также от pH среды.

Карбонильные соединения. Механизм взаимодействия пероксинитрита с карбонильными соединениями подобен механизму взаимодействия с CO_2 , однако оно протекает медленнее. На пер-

вом этапе происходит взаимодействие ONOO^- с углеродом карбонила, образующийся промежуточный продукт затем трансформируется в нитрат и исходное карбонильное соединение, которое способно диффундировать из клетки и давать вторичные радикальные продукты или в случае альдегидов распадаться до карбоксилат-иона и азотной кислоты через перенос атомов водорода [20].

Таким образом, чтобы соединение могло выступать в качестве ловушки пероксинитрита, оно должно обладать следующими свойствами:

- высокой реакционной способностью, поскольку соединение должно реагировать с пероксинитритом быстрее, чем он вступит в реакцию с другими естественными мишенями;

- высокой концентрацией и доступностью, поскольку соединение должно присутствовать в клетке в достаточно высоких концентрациях, так как взаимодействие ONOO^- с основными мишенями определяется константой скорости;

- каталитической активностью, поскольку окисленная форма соединения должна быстро

восстанавливаться естественным путем, чтобы не вступать в побочные реакции и не оказывать токсического и повреждающего действия;

– отсутствием токсичности конечных продуктов реакции.

ТОКСИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ПЕРОКСИНИТРИТА: МИШЕНИ И МЕХАНИЗМЫ ПОВРЕЖДАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ

Токсический потенциал пероксинитрита и его радикальных продуктов объясняется его способностью окислять или нитрозировать основные классы биомолекул: белки, липиды, нуклеиновые кислоты и углеводы. Однако в биологических системах, в которых эти мишени сосуществуют, первоочередность процессов будет определяться концентрациями взаимодействующих соединений и константами скоростей реакций.

Мишени токсического действия пероксинитрита.

Белки. Белки являются основными мишенями пероксинитрита из-за высокой концентрации и реакционной способности входящих в их состав аминокислотных остатков. Реактивность пероксинитрита по отношению к аминокислотным остаткам в белке проявляется в таком порядке: цистеин, метионин, триптофан, тирозин. Для протекания некоторых из этих процессов необходим CO_2 (табл. 1).

Напомним, что среди белков важными мишенями для пероксинитрита являются гемопротейды [14, 15]. Прямое и быстрое взаимодействие ONOO^- с оксиHb и оксимиоглобином приводит к образованию окисленных форм гемопротейдов, повреждению порфиринового кольца с последующей деградацией гема.

Нуклеиновые кислоты и нуклеотиды. Пероксинитрит может вызывать повреждение ДНК, включая окисление углеводов и азотистых оснований [35, 36]. Например, под действием окислителей происходит модификация гуанина в 8-оксогуанин [37], который далее взаимодействует с пероксинитритом с образованием 8-нитрогуанина [38].

Большинство исследований пероксинитрит-зависимого повреждения ДНК были проведены *in vitro* с использованием нуклеотидов или изолированной ДНК. Под действием пероксинитрита могут происходить разрывы нитей ДНК, которые были обнаружены, как в изолированной ДНК [39], так и в клетках, подвергнутых воздействию экзогенного ONOO^- . Механические разрывы нитей, по-видимому, возникают как вследствие повреждения углевода, так и модификации азотистого основания. Показано, что углекислый газ увеличивает образование нитрогуанина, но уменьшает разрывы нитей ДНК, и может быть важным модулятором модификаций нуклеиновых кислот пероксинитритом *in vivo*.

Подобные процессы могут происходить и с циклическими нуклеотидами. Так, 8-нитрогуанозин-3',5'-цикломонофосфат (**8-нитро-cGMP**) –

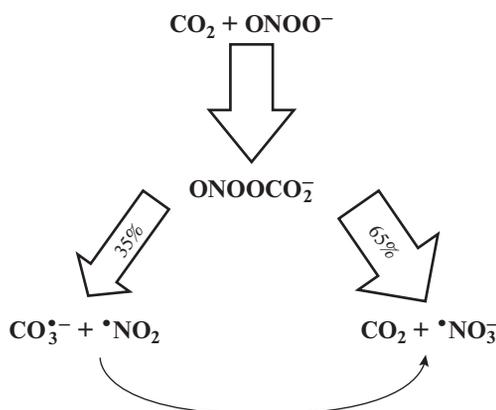


Рис. 5. Взаимодействие пероксинитрита с CO_2 . Доля путей распада пероксикарбоната (ONOOCO_2^-) до нитрит-радикала ($\bullet\text{NO}_2$) и нитрит-анион-радикала ($\bullet\text{NO}_3^-$) показана цифрами на стрелках.

электрофильное соединение, выполняющее сигнальные функции [40], эндогенно образуется при нитровании гуанозин-3',5'-цикломонофосфата (**cGMP**) пероксинитритом или диоксидом азота [28]. 8-нитро-cGMP реагирует с сульфгидрильными группами белков, образуя S-гуанилирование [41]. В частности, так регулируется активность белка Keap1, участвующего в сигнализации редокс-условий и экспрессии белков второй фазы инактивации ксенобиотиков.

Липиды. При воздействии пероксинитрита на клетку первыми мишенями для повреждения являются мембранные биомолекулы, и, естественно, важную роль здесь играют липиды.

Ненасыщенные жирные кислоты мембран могут быть повреждены различными активными формами кислорода (**АФК**) и азота (**АФА**), включая радикалы – производные ONOO^- ($\bullet\text{OH}$ и $\bullet\text{NO}_2$). При одноэлектронном окислении мембранных жирных кислот, вызванном АФК или АФА, образуются высокореактивные алкильные радикалы, которые могут принимать электроны от других жирных кислот, запуская реакции цепного радикального окисления. При этом алкильные производные быстро реагируют с молекулярным кислородом, образуя органический пероксильный радикал ($\text{ROO}\bullet$), который также может инициировать реакции перекисного окисления липидов в биологических мембранах [42].

Липидные радикалы могут реагировать с АФА (ONOO^- , $\bullet\text{NO}$ и $\bullet\text{NO}_2$), что приводит к образованию нитрозилированных и нитрованных липидов. Пероксильные радикалы при взаимодействии с $\bullet\text{NO}$ образуют органический пероксинитрит (ROONO^-) – липидное производное, которое может превращаться в органический нитрат (RONO_2) или разлагаться на алкоксильный радикал ($\text{RO}\bullet$) и нитрит-радикал ($\bullet\text{NO}_2$). Для утилиза-

Таблица 1. Модификации аминокислотных остатков белков пероксинитритом: продукты и особенности химических реакций

Аминокислотный остаток	Продукты реакции	Условия и особенности протекания реакции
Цистеин	Нитрозотиины, тиоловые радикалы, конъюгаты с глутатионом	– Необходима постоянная концентрация реагентов и наличие CO ₂ ; – на протекание реакции влияет природа и доступность вовлеченного тиола (свободный цистеин или внутримолекулярный цистеин) [27, 28].
Триптофан	6-нитротриптофан	– Соотношение триптофан / пероксинитрит в сторону триптофана способствует образованию преобладающего продукта 6-нитротриптофана; – побочные продукты реакции: N-формилкинуренин, дигидрокситриптофан; – для протекания реакции необходимы электроны и протоны; – присутствие гемсодержащих пероксидаз и перекиси водорода способствуют окислению триптофана до нитротриптофана [29, 30].
Метионин	Метионин-сульфоксид, метионинсульфон	– Скорость реакции с пероксинитрозной кислотой выше, чем с пероксинитритом; – возможность окисления метионина пероксинитритом и его производными зависит от доступности метионина (свободная аминокислота или часть пептидной цепи); – выход сульфоксида метионина снижается в присутствии CO ₂ [31, 32].
Тирозин	Дитирозин, 3-нитротирозин	– Скорость реакции нитрования тирозина возрастает в присутствии CO ₂ и АФК за счет формирования радикалов тирозина; – тирозильные радикалы могут взаимодействовать между собой, что приводит к формированию 3,3-дитирозина [33, 34].

ции образовавшегося алкоксильного радикала расходуется еще одна молекула $\cdot\text{NO}$ [43]. Пероксинитрит реагирует с ненасыщенными жирными кислотами с образованием алкильного производного пероксинитрита LOONO, который затем превращается в более стабильный LONO₂ или распадается до LO \cdot и $\cdot\text{NO}_2$ [44].

Нитролипиды, образующиеся в результате нитрования ненасыщенных жирных кислот и липидных радикалов пероксинитритом или диоксидом азота, как и описанный выше 8-нитро-cGMP можно отнести к эндогенным электрофильным соединениям, выполняющим сигнальные функции [27, 40]. Как и 8-нитро-cGMP, нитролипиды образуют обратимые аддукты с SH-группами белков по реакции присоединения Михаэля и регулируют ключевые адаптивные сигнальные пути, участвующие в клеточном гомеостазе и воспалительном ответе [45]. Эти соединения особенно важны для регуляции работы сердечно-сосудистой системы [45]. Образование нитро-жирных кислот было обнаружено и количественно определено в плазме крови человека и мембранах эритроцитов [46], а также доказана роль нитролипидов при патологии почек [47].

При нитровании арахидоновой кислоты образуется сложная смесь продуктов, включающая цис- и

транс-изомеры ее производных и нитрогидроксиарахидонат [48]. Нитроарахидоновая кислота является потенциальным ингибитором циклооксигеназы [49], а нитроалкен, также продукт нитрования арахидоновой кислоты, обладает противовоспалительной активностью в макрофагах, осуществленной по двум механизмам: ингибирование экспрессии iNOS и снижение продукции провоспалительных цитокинов [50]. Нитроолеиновая кислота проявляет сигнальную активность, связанную с противовоспалительными эффектами [51].

Потенциальное фармакологическое действие нитролипидов проявляется в ингибировании гипертензии и воспаления сосудов [52, 53], при защите кардиомиоцитов в изолированной модели ишемии/реперфузии сердца [54], а также уменьшении атеросклеротического поражения, показанном в модельных экспериментах на животных [55, 56].

ПЕРОКСИНИТРИТ КАК СИГНАЛЬНАЯ И РЕГУЛЯТОРНАЯ МОЛЕКУЛА

Пероксинитрит обладает не только токсическим действием. В некоторых случаях он способен выступать и как сигнальная молекула. Обсуждается его участие в качестве компонента системы месенджеров и сигнальных молекул, ответственных

за окислительно-восстановительную регуляцию метаболизма, активность ферментов, процессов транскрипции, клеточной дифференцировки и апоптоза [57–59]. Рассмотрим некоторые из сигнальных функций пероксинитрита подробнее.

Регуляция внутриклеточных сигнальных путей. Показано, что пероксинитрит влияет на такие важные для сигнальных путей ферменты, как киназы, и на регулируемые ими пути метаболизма.

Имеются противоречивые данные относительно регуляции пероксинитритом *протеинкиназы В* (семейство РКВ/Акт; серин/треонин-специфическая протеинкиназа), участвующей в регуляции метаболизма глюкозы, апоптоза, пролиферации клеток и интегрирующей клеточные ответы к факторам роста и инсулину. Пероксинитрит и его доноры инициируют фосфорилирование и активацию РКВ/Акт, что сопровождается фосфорилированием киназы гликогенсинтазы-3 в фибробластах кожи человека [60]. Пероксинитрит-зависимое фосфорилирование РКВ/Акт приводит к активации транскрипционного фактора Nrf2, что влияет на экспрессию глутатион-S-трансферазы [61]. Результатом может быть также увеличение активности цитопротекторного фермента гем-оксигеназы-1 в нервных клетках [62]. Были предложены различные механизмы активации пероксинитритом пути РКВ/Акт [63, 64]. При этом получены данные, что он ингибирует сигнальный путь РКВ/Акт в эндотелиальных клетках и макрофагах [65–67]. Ингибирование пути РКВ/Акт пероксинитритом, образующимся при диабете, приводит к эндотелиальной дисфункции и сосудистой патологии [68], а усиленное образование ONOO⁻ при диабете может быть вызвано усиленным образованием O₂⁻ и активацией экспрессии индуцируемой NO-синтазы (iNOS) [69]. Таким образом, пероксинитрит способен как активировать, так и ингибировать путь РКВ/Акт, индуцируя окисление и нитрование тирозина, а знак эффекта зависит от концентрации ONOO⁻, типа клетки и химического окружения.

С протеинкиназами В связано и действие пероксинитрита на *сигнальные пути инсулина*. В дополнение к своему метаболическому гормональному действию инсулин играет важную роль в поддержании физиологической эндотелиальной функции стимуляции синтеза NO через каскад активации фосфоинозитид-3-киназы (PI₃K-Akt) [62, 68]. В свою очередь PI₃K-Akt активирует серин/треонин-протеинкиназу РКВ/Акт, что усиливает дальнейшее фосфорилирование серина эндотелиальной NO-синтазы и приводит к увеличению продукции NO [68]. Воздействие пероксинитрита на эндотелиальные клетки пупочной вены человека (HUVECs) значительно ингибирует инсулин-зависимое фосфорилирование РКВ/Акт по остаткам серина [66].

Пероксинитрит, как и другие прооксиданты, может активировать *митоген-активируемые протеинкиназы (МАРК)*, представляющие наиболее

важное семейство серин-треониновых киназ, вовлеченных в регуляцию многих сигнальных путей. Этот процесс может идти через активацию эпидермального рецептора фактора роста Raf-1 и небольших G-белков, от которой зависят восходящие сигнальные пути, запускающие активацию киназы киназы митоген-активируемой киназы (МККК) [70].

Внеклеточная сигнал-регулируемая киназа (ERK – extracellular signal-regulated kinase). Этот фермент играет центральную роль в сигнальном пути, который активируется факторами роста EGF через активацию EGFR, киназы Raf-1, и MEK1 (компонента киназы МАРК/ЕРК). ERK может быть активирована окислителями и свободными радикалами, в том числе пероксинитритом [71]. В сердце ERK представляет собой кардиопротекторную сигнальную молекулу, которая включена в основной регуляторный путь гипертрофии миокарда при различных формах стресса [72].

Механизмы активации ERK при окислительном стрессе неясны. Данные, полученные на изолированных фибробластах [73], нейтрофилах [74], эндотелиальных [75] и нервных клетках [76], кардиомиоцитах [77] и целой легочной ткани [78], показывают, что пероксинитрит является мощным активатором ERK. Однако в каждом типе клеток этот эффект объясняется различными механизмами. Интересно, что активация ERK в миофибробластах легкого крысы полностью зависит от нитрования тирозина MEK.

c-Jun N-терминальная (концевая) киназа (JNK – c-Jun N-terminal kinases). JNK существует в виде трех изоформ (JNK-1, 2 и 3), активирующихся в ответ на стрессовые факторы внешней среды: УФ-излучение, тепловой удар, механический стресс и окислители, к которым относится и пероксинитрит. JNK активируется небольшими G-белками (ras/rac) через сигнальный путь, который включает несколько киназ МАРККК, МКК1 и МКК4, связанные друг с другом в конкретных сигнальных модулях [79, 80]. Сигнальный путь JNK играет важную роль в развитии воспалительных реакций и апоптоза. По аналогии с ERK и p38 МАРК активация JNK регулирует гибель или выживание клеток разного типа в условиях стресса.

p38 МАР киназа (p38 МАРК или CSBP – цитокинин-специфический связывающий белок). p38 МАРК представлена 5 изоформами (α, β1, β2, γ и δ), которые активируются в стрессовых условиях через МАРККК, МКК3 и МКК6. В сердце p38 защищает сердечные миоциты от гипертрофии и ремоделирования миокарда, а также является регулятором пролиферации в терминально дифференцированных кардиомиоцитах.

Активно изучается роль α- и β-изоформ p38 в регуляции выживаемости клеток при окислительном стрессе. Для многих типов клеток показано, что активация p38 различными видами оксидантов приводит к апоптозу. Доказано, что пероксинитрит

запускает фосфорилирование и активацию p38 в клетках сердца [81, 82], сосудов [83] и нервной системы [84, 85].

Протеинкиназа С (PKC). Фермент относится к семейству фосфолипид-зависимых киназ серина/треонина, которые участвуют во многих сигнальных путях, регулируя рост и дифференцировку клеток, апоптоз, иммунные реакции и реакции стресса, особенно окислительного [86].

Пероксинитрит играет важную роль в процессе активации PKC во время ишемического preconditionирования [87]. Стимуляция первичных кардиомиоцитов крыс происходит за счет активации PKC через нитрование тирозина. Это способствует усилению взаимодействия PKC с ее субстратным белком RACK2. Данный механизм также может быть опосредован ONOO⁻.

В кровеносных сосудах классические изоформы протеинкиназы (α , β и γ) регулируют разнообразные физиологические функции. Повышенная активность PKC (особенно β -изоформы) связана с такими острыми и хроническими сосудистыми стрессами, как гипоксия, ишемия-реперфузия, механический стресс (рестеноз после ангиопластики) и атеросклероз [87]. Все эти формы сосудистых стрессов связаны с усиленным образованием пероксинитрита в стенке сосуда.

Src-киназа. Фермент является нерецепторной тирозинкиназой и гомологом онкогена v-src, входящего в геном вируса саркомы Рауса, что обусловило происхождение ее названия. Доказано активирующее действие пероксинитрита на две src-киназы: lyp и hck. Активация им hck может быть объяснена обратимыми окислительно-восстановительными изменениями SH-групп, в то время как активация lyp происходит по цистеин независимому механизму окисления [88].

Ядерный фактор карра В (NF-kB). Фактор относится к семейству димерных транскрипционных факторов. NF-kB регулирует экспрессию многих генов, участвующих в иммунном ответе, воспалении и защите клеток от стресса окружающей среды. Активация NF-kB зависит от фосфорилирования I-kB (ингибирующих белков) и опознавания убиквитином. Протеасомная деградация белков I-kB индуцирует высвобождение транскрипционных факторов NF-kB, которые запускают экспрессию генов [89, 90].

АФК, в том числе пероксинитрит, способствуют активации NF-kB, но специфическая роль ONOO⁻ в этом процессе до конца не понятна. Известно, что его микромолярные концентрации вызывают активацию NF-kB, наряду с продукцией интерлейкина-6 в моноядерных лейкоцитах. Данный эффект объясняют нитрованием I-kB по Tug42, что может вызывать его протеасомную деградацию [91].

Транспортер дофамина (hDAT). Пероксинитрит вызывает повреждение нейронов, что может вносить существенный вклад в этиологию болезни Паркинсона. ONOO⁻ вызывает дозозави-

симое и необратимое ингибирование активности hDAT [92], окисляя в нем остаток цистеина 342. Таким образом, препараты, понижающие функцию hDAT *in vivo*, могут оказывать свое действие через окислительный стресс, опосредованный ONOO⁻.

α , β -адренорецепторы (GPCR). Показано, что пероксинитрит подавляет β -адренергические реакции путем нитрования остатков тирозина, находящегося в β_1 - и β_2 -адренорецепторах [93].

Основные сигнальные пути, регулируемые пероксинитритом, показаны в табл. 2.

Регуляция активности ферментов. Особый интерес представляет действие пероксинитрита на ферменты, которое, как правило, *in vitro* приводит к их инактивации. При работе с клеточными культурами *in vivo* этого может и не происходить из-за одновременного протекания других реакций с участием пероксинитрита. В табл. 3 приведены результаты таких исследований.

Видно, что большинство ферментов, для которых показано ингибирующее действие пероксинитрита, представляют собой оксидоредуктазы (1 класс ферментов) – 13 из 22, а простациклинсинтаза (КФ 5.3.99.4) относится к внутримолекулярным оксидоредуктазам – 3 подкласс трансфераз. Таким образом, ONOO⁻, являющийся сильным окислителем, в первую очередь действует на ферменты, катализирующие окислительно-восстановительные реакции.

Пероксинитрит чаще всего вызывает необратимое окисление или нитрование аминокислотного остатка, которое изменяет структуру и, как следствие, функциональную активность белка. Иногда это может приводить и к активации фермента. Так, пероксинитрит способствует активации проколлагеназы, поскольку в условиях окислительного/нитрозативного стресса изменяется конформация остатка цистеина в аутоингибиторном домене профермента, что приводит к активации коллагеназы и распаду коллагена [125].

Изменение активности ферментов не всегда связано с прямым воздействием на них пероксинитрита, а может быть результатом развития окислительного или нитрозативного стресса, обусловленного токсичностью ONOO⁻, вследствие чего начинается каскад событий, например, как в случае с каспазой-3. Пероксинитрит инактивирует Mn-супероксиддисмутазу [109], что влечет за собой образование АФК, повреждение наружной мембраны митохондрий и выход в цитоплазму цитохрома с. Цитохром с формирует комплекс с цитозольными белками, Araf-1 и прокаспазой-9, что приводит к образованию активной каспазы-9, которая, в свою очередь, положительно воздействует на прокаспазу-3 [126]. Итогом всех происходящих событий становится апоптоз клеток.

Следует отметить, на какие сайты в молекулах ферментов действует пероксинитрит. В первую очередь, это остатки цистеина (включая селено-

Таблица 2. Сигнальные пути, регулируемые пероксинитритом

Сигнальный белок	Активация (+)/ ингибирование (–)	Биологическая роль
PKB (протеинкиназа В); PKC (протеинкиназа С)	+/-	Регуляция метаболизма глюкозы, апоптоза, пролиферации клеток, транскрипции [60–69, 86, 87]
PI ₃ K фосфоинозитид-3-киназа (сигнальный путь инсулина)	+/-	Регуляция роста, пролиферации, и метаболизма клеток, защита от апоптоза [62, 68]
МАРК (митоген-активируемые протеинкиназы)	+	Регуляция транскрипции генов метаболизма, пролиферации и подвижности клеток, апоптоза [70, 94]
ERK (внеклеточная сигнал-регулируемая киназа)	+	Активация Т-клеток, пролиферации эндотелиальных клеток; регуляция синаптической пластичности и фосфорилирования транскрипционного фактора p53 [71–78]
JNK (с-Jun N-терминальная киназа)	+	Регуляция апоптоза, воспаления, продукции цитокинов и метаболизма [79, 80]
p38 MAPK или CSBP (цитокинин-специфический связывающий белок)	+	Регуляция клеточной реакции на цитокины и стресс (УФ-облучение, температура); регуляция апоптоза и аутофагии [81–85]
Src – семейство киназ	+	Активация NMDA-рецепторов [88, 95]
NFκB (ядерный фактор карра β)	+/-	Регуляция экспрессии генов, участвующих в иммунном ответе, воспалении и защите клеток от экологических стрессов [89–91]
hDAT (транспортер дофамина)	–	Перенос дофамина из синаптической щели в цитозоль [92]
α,β-адренорецепторы (GPCR)	–	Регуляция артериального давления, гликолиза, липолиза, теплопродукции [93]

цистеин) – в 12 случаях, и тирозина – в 9 случаях. Пероксинитрит может действовать и на небелковые участки активного центра фермента, в том числе металлсодержащие: молибдокофактор у ксантиноксидазы [98, 99, 101, 102], марганец у Mn-супероксиддисмутазы [110] и железосерные кластеры у сукцинатдегидрогеназы и аконитазы [101, 102, 121]. Но наиболее часто встречающейся мишенью действия ONOO⁻ на ферменты, как и на белки в целом, является остаток цистеина – тиол-содержащей аминокислоты.

Таким образом, пероксинитрит объединяет в себе свойства АФК и АФА и является очень сильным окислителем. Пероксинитрит и пероксинитрозная кислота участвуют во многих реакциях, включая одно- и двухэлектронное окисление, нитрование и в меньшей степени нитрозилирование различных соединений, при этом скорость взаимодействия пероксинитрита с биомолекулами как правило превышает скорость его биотрансформации. Главными мишенями ONOO⁻ *in vivo* являются CO₂ и тиолы, а также глутатион, который играет ключевую роль в детоксикации этой молекулы.

Действует пероксинитрит и на многие белки, в том числе ферменты, прежде всего оксидоредуктазы, причем наиболее часто встречающейся мишенью его действия являются остатки цистеина. Этот тиол-содержащий аминокислотный остаток

является одним из наиболее реакционноспособных и взаимодействует с различными АФК и АФА, как в свободном состоянии, так и в составе глутатиона и многих белков. Именно противодействие окислению остатков цистеина способствует защите и всей белковой молекулы от окислительного и нитрозативного стресса. Ранее нами было показано антиоксидантное действие на молекулу гемоглобина динитрозильных комплексов железа, которые связываются с остатком цистеина β-субъединицы [127, 128].

Помимо описанного выше токсического действия пероксинитрит может модулировать различные сигнальные пути в клетке, а также сообщать об их гибели. Взаимодействие пероксинитрита со многими биомолекулами приводит к образованию модифицированных продуктов, которые могут выполнять сигнальную функцию. Если количество модифицированных продуктов не превышает допустимой величины, они дают сигнал о включении программы адаптации, а при их избытке – они вызывают повреждение, а иногда и гибель клеток.

Разработка фармакологической стратегии борьбы с токсическим действием пероксинитрита поможет скорректировать метаболические процессы при многих патологиях. Поэтому очень важным является изучение механизмов детоксикации ONOO⁻, так как это будет способ-

Таблица 3. Ферменты, инактивируемые пероксинитритом*

Фермент	Модифицированный аминокислотный остаток или участок активного центра	Инактивация фермента <i>in vitro</i>	Инактивация фермента <i>in vivo</i>	Источник
Алкогольдегидрогеназа дрожжей (КФ 1.1.1.1)	Cys	+	+	[96, 97]
Ксантиноксидаза (КФ 1.1.3.22)	MoCo (молибденовый кофактор)	+	+	[98, 99]
Глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа (КФ 1.2.1.59)	Cys	+	?	[100]
Сукцинатдегидрогеназа (КФ 1.3.5.1)	[4Fe-4S] (железо-серный кластер)	+	+	[101, 102]
Фумаратредуктаза (КФ 1.3.5.4)	Cys	?	+	[102]
Глутаминсинтетаза (КФ 1.4.1.13)	Tyr	+	?	[103]
НАД(Ф)-трансгидрогеназа (КФ 1.6.1.1)	Tyr	+	?	[104]
Тиоредоксинредуктаза (КФ 1.8.1.9)	Se-Cys	?	+	[105]
Глутатионпероксидаза (КФ 1.11.1.12)	Se-Cys	+	+	[105, 106]
Триптофангидроксилаза (КФ 1.13.99.3)	Cys	+	?	[107]
Циклооксигеназа (КФ 1.14.99.1)	Tyr	+	+	[108]
Mn-супероксиддисмутаза (КФ 1.15.1.1)	Tyr/Mn	+	+	[109, 110]
Рибонуклеотидредуктаза (КФ 1.17.4.2)	Tyr	+	?	[111]
Креатинкиназа (КФ 2.7.3.2)	Cys	+	+	[112]
НАДФ ⁺ -зависимая изоцитратдегидрогеназа (КФ 2.7.11.5)	Cys/Tyr	+	?	[113]
Тирозингидроксилаза (КФ 2.7.11.6)	Tyr/Cys	+	+	[114, 115]
Тирозинфосфатаза (КФ 3.1.3.86)	Cys	+	+	[116, 117]
Zn ²⁺ -глицерофосфохолин-фосфодиэстераза (КФ 3.1.4.2)	Tyr	+	?	[118]
Каспаза 3 (КФ 3.4.22.56)	Cys	+	+	[119, 120]
Аконитаза (КФ 4.2.1.3)	[4Fe-4S] (железо-серный кластер)	+	+	[121]
Простациклинсинтаза (КФ 5.3.99.4)	Tyr	+	+	[122, 123]
Ca ²⁺ -АТФаза (КФ 7.2.2.10)	Cys	?	+	[124]

* (+) – ингибирующее действие пероксинитрита на фермент; (?) – нет данных.

ствовать созданию лекарственных препаратов для лечения заболеваний, сопровождаемых нитрозативным стрессом. При этом необходимо учитывать тот факт, что малые дозы пероксинитрита и продуктов его обмена могут играть и позитивную

роль для клетки и организма, активируя сигнальные пути адаптации к условиям стресса.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских

ученых — кандидатов наук (МК № 1856.2020.7) (Ю.В.А.) и Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (О.В.К., А.Ф.Т.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ignarro L.J., Buga G.M., Wood K.S., Byrns R.E., Chaudhuri G. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1987. V. 84. № 24. P. 9265–9269.
2. Radi R. // Nitric Oxide. 2019. V. 87. P. 83–89.
3. Zhang N., Diao Y., Hua R., Wang J., Han S., Li J., Yin Y. // Front. Biosci. (Landmark Ed.) 2017. V. 22. P. 824–834.
4. Borgognone A., Shantsila E., Worrall S.M., Prompunt E., Loka T., Loudon B.L., Chimen M., Ed. Rainger G., Lord J.M., Turner A., Nightingale P., Feelisch M., Kirchhof P., Lip G.Y.H., Watson S.P., Frenneaux M.P., Madhani M. // Cardiovasc. Res. 2018. V. 114. № 10. P. 1313–1323.
5. Gaynullina D.K., Schubert R., Tarasova O.S. // Int. J. Mol. Sci. 2019. V. 20. № 6. e1421. <https://doi.org/10.3390/ijms20061421>
6. Garrido F., Gonzalez-Caballero J.L., Lomax R., Dady I. // Acta Paediatr. 2019. V. 109. № 2. P. 309–313.
7. Yaguchi J., Yaguchi S. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2019. V. 116. № 12. P. 5607–5612.
8. Ahmad A., Dempsey S. K., Daneva Z., Azam M., Li N., Li P.-L., Ritter J. K. // Int. J. Mol. Sci. 2018. V. 9. № 19. e2605. <https://doi.org/10.3390/ijms19092605>
9. Xie C.W., Wang Z.Z., Zhang Y.N., Chen Y.L., Li R.P., Zhang J.D. // Neurotox. Res. 2019. V. 36. № 1. P. 193–203.
10. Peñarando J., Aranda E., Rodríguez-Ariza A. // Transl. Res. 2019. V. 210. P. 99–108.
11. Абаленихина Ю.В., Фомина М.А., Исаков С.А. // Рос. медико-биол. вестн. им. акад. И.П. Павлова. 2013. № 1. С. 44–48.
12. Nagarkoti S., Sadaf S., Awasthi D., Chandra T., Jagavelu K., Kumar S., Dikshit M. // Free Radic. Res. 2019. V. 53. № 3. P. 281–292.
13. Radi R. // Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 2018. V. 115. № 23. P. 5839–5848.
14. Kosmachevskaya O.V., Topunov A.F. // Appl. Biochem. Microbiol. 2009. V. 45. № 6. P. 563–587.
15. Agarwal P., Ahsan H., Ahmad R. // Int. J. Health. Sci. (Qassim). 2018. V. 12. № 6. P. 30–35.
16. Hrabrova E., Gemeiner P., Šolt L. // Chem. Pap. 2007. V. 61. № 6. P. 417–437.
17. Tarabová B., Lukeš P., Hammer M.U., Jablonowski H., von Woedtke T., Reuter S., Machala Z. // Phys. Chem. Chem. Phys. 2019. V. 21. № 17. P. 8883–8896.
18. Berski S., Latajka Z., Gordon A.J. // J. Comput. Chem. 2011. V. 32. № 8. P. 1528–1540.
19. Kosmachevskaya O.V., Topunov A.F. // Biochemistry (Moscow). 2018. V. 83. № 12-13. P. 1575–1593.
20. Ferrer-Sueta G., Campolo N., Trujillo M., Bartsaghi S., Carballal S., Romero N., Alvarez B., Radi R. // Chem. Rev. 2018. V. 118. № 3. P. 1338–1408.
21. De Armas M.I., Esteves R., Viera N., Reyes A.M., Mastrogiovanni M., Alegria T.G.P., Netto L.E.S., Tórtora V., Radi R., Trujillo M. // Free Radic. Biol. Med. 2019. V. 130. P. 369–378.
22. Sun C., Du W., Wang P., Wu Y., Wang B., Wang J., Xie W.A. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2017. V. 494. № 3–4. P. 518–525.
23. Carballal S., Valez V., Alvarez-Paggi D., Tovmasyan A., Batinic-Haberle I., Ferrer-Sueta G., Murgida D.H., Radi R. // Free Radic. Biol. Med. 2018. V. 126. P. 379–392.
24. Sharma S.K., Schaefer A.W., Lim H., Matsumura H., Moënné-Loccoz P., Hedman B., Hodgson K.O., Solomon E.I., Karlin K.D. // J. Am. Chem. Soc. 2017. V. 139. № 48. P. 17421–17430.
25. Augusto O., Goldstein S., Hurst J.K., Lind J., Lyman S.V., Merenyi G., Radi R. // Free Radic. Biol. Med. 2019. V. 135. P. 210–215.
26. Aicardo A. Biochemistry of Oxidative Stress – Physiopathology and Clinical Aspects. Luxembourg: Springer, 2016. P. 49–77.
27. Natarajan K., Abraham P. // Chem. Biol. Interact. 2016. № 251. P. 45–59.
28. Peixoto Á.S., Geyer R.R., Iqbal A., Truzzi D.R., Soares Moretti A.I., Laurindo F.R.M., Augusto O. // J. Biol. Chem. 2018. V. 293. № 4. P. 1450–1465.
29. Iizumi K., Kawasaki H., Shigenaga A., Tominaga M., Otsu A., Kamo A., Kamata Y., Takamori K., Yamakura F. // J. Clin. Biochem. Nutr. 2018. V. 63. № 3. P. 197–204.
30. Абаленихина Ю.В., Фомина М.А. // Наука молодых (Eruditio Juvenium). 2016. № 1. С. 7–11.
31. Chen H.J., Yang Y.F., Lai P.Y., Chen P.F. // Anal. Chem. 2016. V. 88. № 18. P. 9276–9284.
32. Nakao L.S., Iwai L.K., Kalil J., Augusto O. // FEBS Lett. 2003. V. 547. № 1–3. P. 87–91.
33. De Boer T.R., Palomino R.I., Mascharak P.K. // Med Onc. 2019. № 4. e190003. <https://doi.org/10.20900/mo.20190003>
34. Daiber A., Daub S., Bachschmid M., Schildknecht S., Oelze M., Steven S., Schmidt P., Megner A., Wada M., Tanabe T., Münzel T., Bottari S., Ullrich V. // Int. J. Mol. Sci. 2013. V. 14. № 4. P. 7542–7570.
35. Islam B.U., Habib S., Ahmad P., Allarakha S., Moinuddin, Ali A. // Ind. J. Clin. Biochem. 2015. V. 30. № 4. P. 368–385.
36. Yamashiro R., Misawa T., Sakudo A. // Sci. Rep. 2018. V. 8. № 1. e17947. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36779-1>
37. Niles J.C., Wishnok J.S., Tannenbaum S.R. // Nitric Oxide. 2006. V. 14. № 2. P. 109–121.
38. Hu C.W., Chang Y.J., Chen J.L., Hsu Y.W., Chao M.R. // Molecules. 2018. V. 23. №3. e605. <https://doi.org/10.3390/molecules23030605>
39. Tavares C.P., Vernal J., Delena R.A., Lamattina L., Cassia R., Terenzi H. // Biochim. Biophys. Acta. 2014. V. 1844. № 4. P. 810–817.
40. Kosmachevskaya O.V., Shumaev K.B., Topunov A.F. // Biochemistry (Moscow). 2019. V. 84. Suppl. 1. P. 206–224.
41. Kishimoto Y., Kunieda K., Kitamura A., Kakihana Y., Akaike T., Ihara H. // ACS Chem. Neurosci. 2018. V. 9. № 2. P. 217–223.
42. Jaeschke H., Ramachandran A. // React. Oxyg. Species (Apex). 2018. V. 5. № 15. P. 145–158.
43. Rubbo H., Trostchansky A., O'Donnell V.B. // Arch. Biochem. Biophys. 2009. V. 484. № 2. P. 167–172.
44. Mustafa A.G., Alfaqih M.A., Al-Shboul O., Al-Dwairi A. // Biomed. Rep. 2018. V. 9. № 5. P. 421–426.

45. Villacorta L., Gao Z., Schopfer F.J., Freeman B.A., Chen Y.E. // *Front. Biosci.* 2016. V. 21. № 4. P. 873–889.
46. Trostchansky A., Möller M.N., Bartesaghi S., Botti H., Denicola A., Radi R., Rubbo H. // *Nitric Oxide (2nd Edition): Biology and Pathobiology.* N.Y.: Acad. Press, 2010. P. 27–60.
47. Jobbagy S., Tan R.J. // *Nitric Oxide.* 2018. V. 78. P. 121–126.
48. Volker R., Khoo N.K.H., Schopfer F.J., Rudolph T.K. // *J. Biol. Chem.* 2008. V. 284. № 3. P. 1461–1473.
49. Trostchansky A., Bonilla L., Thomas C.P., O'Donnell V.B., Marnett L.J., Radi R., Rubbo H. // *J. Biol. Chem.* 2011. V. 286. № 15. P. 12891–12900.
50. Trostchansky A., Souza J.M., Ferreira A., Ferrari M., Blanco F., Trujillo M., Castro D., Cerecetto H., Baker P.R., O'Donnell V.B., Rubbo H. // *Biochemistry.* 2007. V. 46. № 15. P. 4645–4653.
51. Baker P.R., Schopfer F.J., O'Donnell V.B., Freeman B.A. // *Free Radic. Biol. Med.* 2009. V. 46. № 8. P. 989–1003.
52. Zhang J., Villacorta L., Chang L., Fan Z., Hamblin M., Zhu T., Chen C.S., Cole M.P., Schopfer F.J., Deng C.X., Garcia-Barrio M.T., Feng Y.H., Freeman B.A., Chen Y.E. // *Circ. Res.* 2010. V. 107. № 4. P. 540–548.
53. Villacorta L., Chang L., Salvatore S.R., Ichikawa T., Zhang J., Petrovic-Djergovic D., Jia L., Carlsen H., Schopfer F.J., Freeman B.A., Chen Y.E. // *Cardiovasc. Res.* 2013. V. 98. № 1. P. 116–124.
54. Koenitzer J.R., Bonacci G., Woodcock S.R., Chen C.S., Cantu-Medellin N., Kelley E.E., Schopfer F.J. // *Redox Biol.* 2016. V. 8. P. 1–10.
55. Rudolph T.K., Rudolph V., Edreira M.M., Cole M.P., Bonacci G., Schopfer F.J., Woodcock S.R., Franek A., Pekarova M., Khoo N.K., Hasty A.H., Baldus S., Freeman B.A. // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2010. V. 30. № 5. P. 938–945.
56. Baker P.R., Schopfer F.J., Sweeney S., Freeman B.A. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004. V. 101. № 32. P. 11577–11582.
57. Speckmann B., Steinbrenner H., Grune T., Klotz L.O. // *Arch. Biochem. Biophys.* 2016. V. 595. P. 153–160.
58. Grace P.M., Gaudet A.D., Staikopoulos V., Maier S.F., Hutchinson M.R., Salvemini D., Watkins L.R. // *Trends Neurosci.* 2016. V. 39. № 12. P. 862–879.
59. Chen X., Zhou B., Yan T., Wu H., Feng J., Chen H., Gao C., Peng T., Yang D., Shen J. // *Free Radic. Biol. Med.* 2018. V. 117. P. 158–167.
60. Klotz L.O., Schieke S.M., Sies H., Holbrook N.J. // *J. Biochem.* 2000. V. 352. № 1. P. 219–225.
61. Kang K.W., Choi S.H., Kim S.G. // *Nitric Oxide.* 2002. V. 7. № 4. P. 244–253.
62. Li M.H., Cha Y.N., Surh Y.J. // *Free Radic. Biol. Med.* 2006. V. 41. № 7. P. 1079–1091.
63. Delgado-Esteban M., Martin-Zanca D., Andres-Martin L., Almeida A., Bolaños J.P. // *J. Neurochem.* 2007. V. 102. № 1. P. 194–205.
64. Schroeder P., Klotz L.O., Buchczyk D.P., Sadik C.D., Schewe T., Sies H. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2001. V. 285. № 3. P. 782–787.
65. Shacka J.J., Sahawneh M.A., Gonzalez J.D., Ye Y.Z., D'Alessandro T.L., Estévez A.G. // *Cell Death Differ.* 2006. V. 13. № 9. P. 1506–1514.
66. Song P., Wu Y., Xu J., Xie Z., Dong Y., Zhang M., Zou M.H. // *Circulation.* 2007. V. 116. № 14. P. 1585–1595.
67. Song P., Xie Z., Wu Y., Xu J., Dong Y., Zou M.H. // *J. Biol. Chem.* 2008. V. 283. № 18. P. 12446–12455.
68. Kobayashi T., Taguchi K., Yasuhiro T., Matsumoto T., Kamata K. // *Hypertension.* 2004. V. 44. № 6. P. 956–962.
69. Kosmachevskaya O.V., Shumayev K.B., Topunov A.F. // *Appl. Biochem. Microbiol.* 2017. V. 53. № 3. P. 273–289.
70. Zhang P., Wang Y.-Z., Kagan E., Bonner J.C. // *J. Biol. Chem.* 2000. V. 275. № 29. P. 22479–22486.
71. Martindale J.L., Holbrook N.J. // *J. Cell. Physiol.* 2002. V. 192. № 1. P. 1–15.
72. Xia P., Liu Y., Cheng Z. // *BioMed Research International.* 2016. V. 2016. № 19. e9583268. <https://doi.org/10.1155/2016/9583268>
73. Bapat S., Verkleij A., Post J.A. // *FEBS Lett.* 2001. V. 499. № 1–2. P. 21–26.
74. Zouki C., Zhang S.L., Chan J.S., Filep J.G. // *FASEB J.* 2001. V. 15. № 1. P. 25–27.
75. Upmaces R.K., Deeb R.S., Resnick M.J., Lindenbaum R., Gamss C., Mittar D., Hajjar D.P. // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2004. V. 286. № 6. P. 1271–1280.
76. Zhang Y., Wang H., Li J., Dong L., Xu P., Chen W., Neve R.L., Volpe J.J., Rosenberg P.A. // *J. Biol. Chem.* 2006. V. 281. № 14. P. 9460–9470.
77. Pesse B., Levrant S., Feihl F., Waeber B., Gavillet B., Pacher P., Liaudet L. // *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2005. V. 38. № 5. P. 765–775.
78. Iwagaki A., Choe N., Li Y., Hemenway D.R., Kagan E. // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2003. V. 28. № 1. P. 51–60.
79. Chang L., Mammalian K. M. // *Nature.* 2001. V. 410. № 6824. P. 37–40.
80. Davis R.J. // *Cell.* 2000. V. 103. № 2. P. 239–252.
81. Wang W., Dow K.E., Riopelle R.J., Ross G.M. // *Neurotoxicity research.* 2001. V. 3. № 5. P. 485–499.
82. Wang Y. // *Circulation.* 2007. V. 116. № 12. P. 1413–1423.
83. Eligini S., Arenaz I., Barbieri S.S., Faleri M.L., Crisci M., Tremoli E., Colli S. // *Br. J. Pharmacol.* 2001. V. 133. № 7. P. 1163–1171.
84. Sarker K.P., Nakata M., Kitajima I., Nakajima T., Maruyama I. // *J. Mol. Neurosci.* 2000. V. 15. № 3. P. 243–250.
85. Ali T.K., Matragoon S., Pillai B.A., Liou G.I., El-Remessy A.B. // *Diabetes.* 2008. V. 57. № 4. P. 889–898.
86. Yan S.F., Harja E., Andrassy M., Fujita T., Schmidt A.M. // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2006. V. 48. № 9. Suppl 1. P. A47–A55.
87. Das Evcimen N., King G.L. // *Pharmacol. Res.* 2007. V. 55. № 6. P. 498–510.
88. Mallozzi C., Di Stasi M.A., Minetti M. // *Free Radic. Biol. Med.* 2001. V. 30. № 10. P. 1108–1117.
89. Bonizzi G., Karin M. // *Trends Immunol.* 2004. V. 25. № 6. P. 280–288.
90. Hayden M.S., Ghosh S. // *Cell.* 2008. V. 132. № 2. P. 344–362.
91. Matata B.M., Galinanes M. // *J. Biol. Chem.* 2002. V. 277. № 3. P. 2330–2335.
92. Park S.U., Ferrer J.V., Javitch J.A., Kuhn D.M. // *J. Neurosci.* 2002. V. 22. № 11. P. 4399–4405.
93. Lewis S.J. // *Eur. J. Pharmacol.* 2005. V. 518. № 2–3. P. 187–194.
94. Yang S.H., Sharrocks A.D., Whitmarsh A.J. // *Gene.* 2013. V. 513. № 1. P. 1–13.
95. Ali D.W., Salter M.W. // *Curr. Opin. Neurobiol. J.* 2001. V. 11. № 3. P. 336–342.

96. Men L., Wang Y. // *J. Proteome Res.* 2007. V. 6. № 1. P. 216–225.
97. Crow J.E., Beckman J.S., McCord J.M. // *Biochemistry.* 1995. V. 34. № 11. P. 3544–3552.
98. Millar T.M., Kanczler J.M., Bodamyali T., Blake D.R., Stevens C.R. // *Redox Rep.* 2002. V. 7. № 2. P. 65–70.
99. Lee C.I., Liu X., Zweier J.L. // *J. Biol. Chem.* 2000. V. 275. № 13. P. 9369–9376.
100. Souza J.M., Radi R. // *Arch. Biochem. Biophys.* 1998. V. 360. № 2. P. 187–194.
101. Pearce L.L., Martinez-Bosch S., Manzano E.L., Winnica D.E., Epperly M.W., Peterson J. // *Nitric Oxide.* 2009. V. 20. № 3. P. 135–142.
102. Rubbo H., Denicola A., Radi R. // *Arch. Biochem. Biophys.* 1994. V. 308. № 1. P. 96–102.
103. Melo P.M., Silva L.S., Ribeiro I., Seabra A.R., Carvalho H.G. // *Plant. Physiol.* 2011. V. 157. № 3. P. 1505–1517.
104. Forsmark-Andree R., Persson B., Radi R., Dallner G., Ernster L. // *Arch. Biochem. Biophys.* 1996. V. 336. № 1. P. 113–120.
105. Benhar M. // *Free Radic. Biol. Med.* 2018. V. 127. P. 160–164.
106. Padmaja S., Squadrito G.L., Pryor W.A. // *Arch. Biochem. Biophys.* 1998. V. 349. № 1. P. 1–6.
107. Kuhn D.M., Geddes T.J. // *J. Biol. Chem.* 1999. V. 274. № 42. P. 29726–29732.
108. Sorokin A. // *Curr. Med. Chem.* 2016. V. 23. № 24. P. 2559–2578.
109. Yamakura F., Taka H., Fujimura T., Murayama K. // *J. Biol. Chem.* 1998. V. 273. № 23. P. 14085–14089.
110. Quijano C., Hernandez-Saavedra D., Castro L., McCord J.M., Freeman B.A., Radi R. // *J. Biol. Chem.* 2001. V. 276. № 15. P. 11631–11638.
111. Guittet O., Decottignies P., Serani L., Henry Y., Le Maréchal P., Laprévote O., Lepoivre M. // *Biochemistry.* 2000. V. 39. № 16. P. 4640–4648.
112. Mihm M.J., Coyle C.M., Schanbacher B.L., Weinstein D.M., Bauer J.A. // *Cardiovasc. Res.* 2001. V. 49. № 4. P. 798–807.
113. Lee J.H., Yang E.S., Park J.-W. // *J. Biol. Chem.* 2003. V. 278. № 51. P. 51360–51371.
114. Kuhn D.M., Aretha C.W., Geddes T.J. // *J. Neurosci.* 1999. V. 19. № 23. P. 10289–10294.
115. Blanchard-Fillion B., Souza J.M., Friel T., Jiang G.C., Vrana K., Sharov V., Barrón L., Schöneich C., Quijano C., Alvarez B., Radi R., Przedborski S., Fernando G.S., Horwitz J., Ischiropoulos H. // *J. Biol. Chem.* 2001. V. 276. № 49. P. 46017–46023.
116. Takakura K., Beckman J.S., Mac Millan-Crow L.A., Crow J.P. // *Arch. Biochem. Biophys.* 1999. V. 369. № 2. P. 2197–2207.
117. Bartesaghi S., Radi R. // *Redox Biol.* 2018. V. 14. P. 618–625.
118. Sok D.E. // *Neurochem. Res.* 1998. V. 23. № 8. P. 1061–1067.
119. Larson K.M., Zhang L., Badger G.J., Jay G.D. // *Osteoarthritis Cartilage.* 2017. V. 25. № 9. P. 1488–1495.
120. Lau A., Arundine M., Sun H.S., Jones M., Tymianski M. // *J. Neurosci.* 2006. V. 26. № 45. P. 11540–11553.
121. Tórtora V., Quijano C., Freeman B., Radi R., Castro L. // *Free Radic. Biol. Med.* 2007. V. 42. № 7. P. 1075–1088.
122. Zou M.H. // *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2007. V. 82. № 1–4. P. 119–127.
123. Zou M.H., Ullrich V. // *FEBS Lett.* 1996. V. 382. № 1–2. P. 101–104.
124. Gutiérrez-Martín Y., Martín-Romero F.J., Iñesta-Vaquera F.A., Gutiérrez-Merino C., Henao F. // *Eur. J. Biochem.* 2004. V. 271. № 13. P. 2647–2657.
125. Okamoto T., Akaike T., Nagano T., Miyajima S., Suga M., Ando M., Ichimori K., Maeda H. // *Arch. Biochem. Biophys.* 1997. V. 342. № 2. P. 261–274.
126. Dubey M., Nagarkoti S., Awasthi D., Singh A.K., Chandra T., Kumaravelu J., Barthwal M.K., Dikshit M. // *Cell Death Dis.* 2016. V. 7. № 9. P. 23–48.
127. Shumaev K.B., Kosmachevskaya O.V., Timoshin A.A., Vanin A.F., Topunov A.F. // *Methods Enzymol.* 2008. V. 436. P. 445–461.
128. Shumaev K.B., Gubkin A.A., Serezhenkov V.A., Lobyshcheva I.I., Kosmachevskaya O.V., Ruuge E.K., Lankin V.Z., Topunov A.F., Vanin A.F. // *Nitric Oxide.* 2008. V. 18. № 1. P. 37–46.

Peroxynitrite: Toxic Agent and Signal Molecule

Yu. V. Abalenikhina^a, O. V. Kosmachevskaya^b, and A. F. Topunov^{b, *}

^aRyazan State Medical University named after Academician I.P. Pavlov, Ryazan, 390026 Russia

^bBach Institute of Biochemistry, Research Center of Biotechnology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, 119071 Russia

*e-mail: aftopunov@yandex.ru

Reactive nitrogen specie – peroxynitrite is one of the most powerful oxidizers in the body. Depending on the conditions it either undergoes biotransformation and detoxification, or interacts with various substances (proteins and among them enzymes, lipids, nucleic acids, carbohydrates) with their modification. Thiol compounds are most actively exposed to peroxynitrite, including cysteine residues in proteins. Among enzymes the inhibiting effect of peroxynitrite has been shown to the greatest extent on oxidoreductases, and here it also more often acted on cysteine. Modified biomolecules may be toxic, but in physiological concentrations they can function as participants of signaling pathways. Data show that peroxynitrite is not only a toxic agent, but also a component of the messenger system, and a signal molecule responsible for redox regulation of cellular metabolism. Detoxification pathways are important aspects of studying peroxynitrite. They can contribute to the search for drugs against diseases accompanied by nitrosative stress.

Keywords: peroxynitrite, peroxynitrose acid, nitric oxide, cysteine, toxic action, signal function