

УДК 577.152.1

ЧЕТЫРЕ КОМПОНЕНТА СОПРЯЖЕННОЙ РЕДОКС-СИСТЕМЫ ОРГАНИЗМА: УГЛЕРОД, АЗОТ, СЕРА, КИСЛОРОД*

Обзор

© 2015 Е.В. Терешина**, В.Н. Ласкавый, С.И. Иваненко

Международная медицинская помощь, 6317 Швейцария, Обервилл, Цуг, Фушлох, БА; электронная почта: winterel@mail.ru

Поступила в редакцию 29.06.15

C1 соединения участвуют во многих метаболических процессах и регуляциях, включая метилирование ДНК. Продукт окисления метильной группы, формальдегид (ФА), обладает высокой цитотоксичностью. В клетке существуют два пути его утилизации – ассимиляция и окисление. ФА проявляет цитотоксичность, поэтому его окисление считается детоксикацией. Чувствительность к пороговой концентрации ФА мы рассматриваем как свидетельство его важной роли в жизнедеятельности биосистемы. Предлагается модель трехкомпонентной сопряженной редокс-системы, в которой путь окисления метильной группы является архаичным и консервативным донором протонов и электронов, восстановление O_2 – акцептор, аминогруппа аргинина используется для производства мочевины (акцептор) и оксида азота (донор). Четвертый участник редокс-системы – глутатион, поддерживает редокс-баланс. Трехуровневая система доноров протонов включает окисление метильной группы (первый уровень), окисление ацетата в митохондриях (второй уровень) и катаболизм глюкозы в пентозофосфатном пути (третий уровень). В единое целое всю систему объединяют сульфгидрильные группы цистеинов глутатиона, тиоредоксина и α -липоевой кислоты. Регуляторная роль в этой системе принадлежит глутатион-зависимой формальдегиддегидрогеназе, которая контролирует связывание ФА с тетрагидрофолиевой кислотой, метилирование аргинина и денитрозирование сульфгидрильных групп. Сопряженная редокс-система сформировалась в процессе эволюции как объединение редокс-циклов углерода, азота, кислорода и серы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: редокс-система, формальдегид, аргинин, перекись водорода, сульфгидрильные группы, регуляция.

СОПРЯЖЕННАЯ РЕДОКС-СИСТЕМА

Активные формы кислорода (АФК) – высокореактивные соединения, вызывающие окислительное повреждение биомолекул. В процессе

старения происходит не только аккумуляция окисленных продуктов, но и усиление образования АФК, что получило название «оксидативный стресс» (ОС). ОС развивается, в частности, при системных возраст-ассоциированных патологиях, таких как атеросклероз. Массовое образование АФК свидетельствует о нарушении балансов в распределении электронов и протонов, в которых кислород играет роль основного акцептора. Донорами электронов являются переходные металлы, а протонов – восстановленные соединения углерода, азота, серы. Суть нашей гипотезы состоит в том, что доноры и акцепторы объединены в сопряженную редокс-систему. Она обеспечивает стационарность распределения протонов и электронов в клетке, поддерживает жизнедеятельность биосистемы, влияет на время ее жизни. У *Caenorhabditis elegans*, например, небольшое повышение содержания АФК в митохондриях увеличивает, а в цитоплазме, напротив, снижает продолжительность жизни [1]. Сопряженная редокс-система создавалась эво-

Принятые сокращения: АДГ – алкогольдегидрогеназа, АЛК – α -липоевая кислота, ДГАК – дигидроацетонкиназа, ДГАЛК – дигидроальфа-липоевая кислота, ДГФК – дигидрофолиевая кислота, ММО – метановая монооксигеназа, ПФП – пентозофосфатный путь, СОД – супероксиддисмутаза, ТГФК – тетрагидрофолиевая кислота, ТГМП – тетрагидрометанооптерин, ФА – формальдегид, ФДГ – формилдегидрогеназа, ФЛД – формальдегиддегидрогеназа, ЭТЦ – электрон-транспортная цепь, ADMA – asymmetric dimethylarginine (асимметричный диметиларгинин), GSNOR – GSNO reductase (GSNO редуктаза), BH_2 – 7,8-дигидрооптерин, BH_4 – тетрагидрооптерин, CBR1 – carbonyl reductase (карбонилредуктаза 1), NOHA – N^G -hydroxy-L-arginine (N^G -гидрокси-L-аргинин).

* Первоначально английский вариант рукописи был опубликован на сайте «Biochemistry» (Moscow), Papers in Press, BM 15-193, 02.08.2015.

** Адресат для корреспонденции.

люционно как объединение редокс-циклов четырех атомов — углерода, азота, серы и кислорода. В статье предлагается модель организации такой системы и ее функционирование (рис. 1).

МЕТИЛЬНАЯ ГРУППА — ИСТОЧНИК ФОРМАЛЬДЕГИДА

Метильная группа относится к C1 соединениям (метан, метильная группа, метанол, формальдегид, муравьиная кислота, углекислый газ). Самые разнообразные биосинтезы и множество регуляций метаболических процессов идут с их участием. Среди основных: синтез пуринов и тимидина, пантотеновой кислоты, хлорофилла и гема, метаболизм аминокислот и биогенных аминов, биогенез митохондрий и хлоропластов [2], непрерывное метилирование—деметилирование ДНК [3].

В большинстве биосистем донорами метильных групп являются метионин, серин и глицин, переносчиками — тетрагидрофолиевая кислота (ТГФК) и S-аденозил-L-метионин [4, 5]. В реакциях деметилирования и трансметилирования часто происходит окисление метильных групп и образуется формальдегид (ФА) [6–8]. Источником ФА является также декарбоксилирование глиоксилата [9] и окисление ксенобиотиков оксидазами P-450 [10]. В растениях основной источник ФА — диссоциация 5,10-метилтен ТГФК и окисление метанола, получаемого при деметилировании пектина [11]. Метанол и ФА считаются эндогенными ядами, поэтому их окисление принято относить к системе детоксикации. В то же время продукт окисления ФА (формиат) нетоксичен [12]. У *Corynebacterium glutamicum* формиат вызывает задержку роста, а содержащая молибден формиатдегидрогеназа (ФДГ) снижает этот эффект [1]. Функции формиата хорошо изучены у растений, где он является продуктом распада глиоксилата.

ФА образуется во всех биосистемах: у растений и животных, позвоночных и беспозвоночных, одноклеточных и многоклеточных, бактериях и археях. В большинстве биосистем он находится в связанной форме с эндогенными нуклеофилами, глутатионом и ТГФК [5, 13]. ФА обладает высокой цитотоксичностью, поэтому все организмы продуцируют его в низких концентрациях. Физиологические концентрации ФА в крови человека составляют 0,4–0,6 мкг/моль и моче — 2,8–4,0 мкг/моль [14]. Действие ФА на клетку дозозависимо: в концентрации 10,0 мМ он вызывает некроз опухолевых и эндотелиальных клеток в культуре, в 1,0 мМ — усиление апоптоза и снижение митоза, в дозах 0,5 и 0,1 мМ

увеличивает пролиферацию [15]. Цитотоксичность проявляется при превышении некоего порога концентрации свободного ФА. Высокая цитотоксичность и модулирующее действие ФА на процессы пролиферации и апоптоза — свидетельство того, что он может находиться в центральном узле регуляций основных процессов жизнедеятельности биосистемы.

ДРЕВНЕЙШИЕ ДОНОРЫ ПРОТОНОВ

Метаболизм C1 соединений был освоен метаногенными и метанотрофными археями на заре эволюции. Метанотрофные бактерии используют метан в качестве единственного источника углерода. Метилотрофные бактерии могут окислять метан, метанол, метилированные амины, галометаны, серусодержащие метилированные соединения и даже метильные

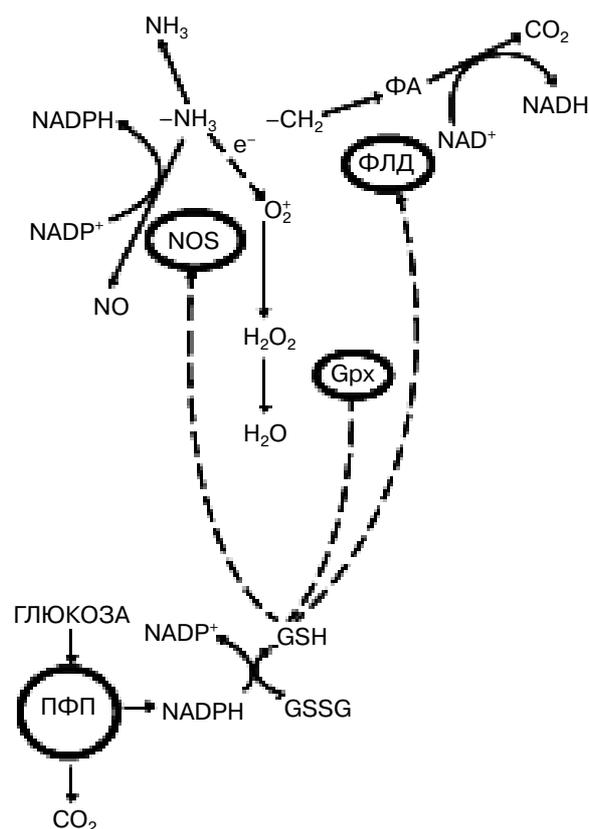


Рис. 1. Трехкомпонентная сопряженная редокс-система: окисление метильной группы — донор протонов, восстановление молекулярного кислорода — акцептор протонов, аминокетон — одновременно донор и акцептор. Перенос протонов контролируется четвертым участником — глутатионом, который получает протоны из пентозофосфатного пути

группы таких субстратов, как холин. Общая черта всех метано- и метилотрофных бактерий — центральная роль ФА в метаболизме [16]. Метаболизм этих бактерий организован и регулируется так, чтобы скорость утилизации ФА не была лимитирующей, так как его накопление приводит к мгновенной гибели биосистемы [17]. В процессе окисления ФА продуцируются протоны и электроны, необходимые для жизнедеятельности этих бактерий.

Окисление метана происходит поэтапно в цепи «метан—метанол—ФА—формиат—углекислый газ», в результате чего все атомы водорода замещаются атомами кислорода. У всех метилотрофов реализуется первая часть пути до ФА, различаются они только по характеру ассимиляции ФА. По этому признаку их объединяют в три группы: в бактериях типа 1 реализуется циклический рибулозо-монофосфатный путь [18, 19], в бактериях типа 2 — линейный сериновый путь [20, 21], в бактериях типа X — оба метаболических пути. У метилотрофных дрожжей *Pichia pastoris* существует ксилулозомонофосфатный путь ассимиляции ФА [22]. При низких концентрациях метана и высоком содержании O_2 успешнее растут бактерии типа 1, при высоких концентрациях метана и низком содержании O_2 — бактерии типа 2 [23]. У метанотрофных бактерий найдены две метановые монооксидазы: растворимая (рММО) и мембраносвязанная (мММО). Они — классические монооксигеназы. рММО обнаруживается у метанотрофов типа 2 и X, она содержит негемовое железо, флавинадениннуклеотид, железо-серные $[Fe_2S_2]$ кластеры и использует NADPH, получаемый при окислении ФА и формиата, в качестве донора электронов [24]. У этих бактерий надо сначала окислить ФА, чтобы началось окисление метана. мММО экспрессируется при наличии в среде достаточного количества меди (0,85–1 ммоль/г), так как медь индуцирует синтез внутриклеточных мембран. Возможно, сам фермент имеет медь в своем составе [25]. Когда активирована мММО, клетки растут быстрее, так как не требуется количество NADPH, лимитированное окислением ФА [26]. Однако рММО обладает большей субстратной специфичностью, чем другие оксигеназы.

У грамтрицательных метанотрофов метанол как продукт ММО или как экзогенный субстрат окисляется до ФА периплазматической метанолдегидрогеназой [27]. Этот фермент — тетрамер, каждая субъединица которого содержит два моля пирролхинолин хинона и 1 моль Ca^{2+} . Специфический акцептор электронов — цитохром *cL* [28]. У грамположительных метанотрофов метанол окисляется метанолдегидрогеназой, использующей NAD^+ в качестве акцеп-

тора электронов [29]. У метилотрофов $NADP^+$ -связанная альдегиддегидрогеназа, которая либо использует, либо нет глутатион, окисляет ФА до формиата, а формиат практически у всех метанотрофов до углекислого газа окисляет NAD^+ -зависимая ФДГ [30]. На восстановительные синтезы расходуются протоны и электроны, высвобождающиеся преимущественно при окислении ФА.

Метилотрофы, не использующие метан, предпочитают рибулозомонофосфатный путь ассимиляции ФА, в процессе которого происходит его одновременное окисление до углекислого газа. В этом цикле ассимилируются три моля ФА. ФА взаимодействует с рибулозо-5-фосфатом с образованием гексулозо-6-фосфата, который изомеризуется во фруктозо-6-фосфат. При дальнейшем окислении образуются трехуглеродные соединения, высвобождается молекула CO_2 и регенерирует рибулозо-6-фосфат. Акцепторы электронов на двух этапах окисления ФА — NAD^+ или $NADP^+$ [31]. Вхождение ФА в цикл катализирует рибулозобифосфат карбоксилаза [19], которая в цикле Кальвина—Бенсона способствует ассимиляции CO_2 . Однако в рибулозомонофосфатном цикле происходит как окисление ФА до CO_2 , так и его ассимиляция, тогда как в цикле Кальвина — только ассимиляция CO_2 . Но итог двух циклов один — производство 3-фосфоглицерата.

У облигатных метанотрофов функционирует сериновый путь ассимиляции ФА. В этом случае окисление ФА идет по параллельному пути. Для образования трехуглеродных соединений необходимы два моля ФА и один моль CO_2 , а также восстановительные эквиваленты. Углекислый газ и NADH могут быть получены только при окислении ФА по пути «ФА—формиат—углекислый газ». В итоге, в данной модели ФА находится на развилке двух направлений: по одному пути происходит его окисление до углекислого газа, по-другому — ассимиляция для синтеза трехуглеродных соединений, поэтому ассимиляция и окисление ФА разъединены.

Первая реакция серинового пути — взаимодействие ФА с глицином и образование серина, которую катализирует фермент гидроксиметилтрансфераза [20]. Обратная реакция, синтез глицина из серина, обнаружена у *Methylobacterium extorquens* AM1 и *Methylobacterium organophilum* XX [21] и существует у всех эукариотов. Серин отдает аминогруппу глиоксилату с образованием глицина и гидроксипирувата. Ресурсы глиоксилата возобновляются за счет малата, так как у факультативных метилотрофов нет изоцитратлиазы, ключевого фермента глиоксилатного цикла. Малил-КоА образуется в реакции, катализи-

руемой малаттиокиназой, а расщепляется лиазой. Эти ферменты присутствуют только у метилотрофов с сериновым путем ассимиляции ФА. Малил-КоА распадается на ацетат и глиоксилат. В связи с регенерацией глиоксилата сериновый путь можно тоже считать циклическим [21]. На первом этапе эволюции образование глиоксилата могло происходить как непосредственное взаимодействие двух одноуглеродных соединений, например, двух молекул формиата [32]. В последующем был зафиксирован распад глиоксилата до формиата и CO_2 . Для эволюции характерны инверсии некоторых ключевых метаболических путей. К таким инверсиям можно отнести обратимость реакции «глицин—серин».

Дигидроацетон синтаза катализирует первую реакцию соединения ФА с D-ксилоулозо-5-фосфатом [33] в ксилоулозомонофосфатном пути ассимиляции ФА. У метилотрофных дрожжей *Hansenula polymorpha* распределение ФА между окислением и ассимиляцией регулируется отношением АТФ/АДФ. Избыток АТФ стимулирует дигидроацетонкиназу (ДГАК) и ингибирует формальдегиддегидрогеназу (ФЛД). Когда накапливается АДФ, он ингибирует ДГАК и активирует ФЛД. Если этот механизм не работает, ФА регулирует свое собственное образование, связываясь с метанолоксидазой и снижая ее активность [34].

Катаболизм и ассимиляция ФА хорошо изучены у аэробной факультативной метилотрофной α -протеобактерии *Methylobacillus flagellates* КТ, которая может расти на метане и метиламине. Метанол окисляется в периплазме, а образовавшийся ФА пересекает цитоплазматическую мембрану и взаимодействует с двумя переносчиками: ТГФК и тетрагидрометаноптерином (ТГМП) [35, 36]. Причем с ТГФК он взаимодействует спонтанно и неферментативно даже *in vitro* [37]. Реакция регулируется концентрациями субстратов. С участием этого переносчика осуществляется окисление ФА до CO_2 , сопряженное с образованием формильных производных, которые участвуют в биосинтезе аденина и тРНК формилметионина. В фолатный цикл входят как ФА, так и формиат. ФА взаимодействует с ТГФК неферментативно, образуя 5,10-метилентГФК. Для взаимодействия формиата с ТГФК с получением 10-формилТГФК требуется АТФ. Образование 5,10-метилентГФК выводит ФА на путь ассимиляции.

Конденсация ФА с ТГМП катализируется белком Fae, экспрессия которого активируется ФА и который является одним из основных цитоплазматических белков у этой бактерии [38]. ТГМП — основной переносчик C1 соединений у метаногенных и сульфатредуцирующих архей и

служит у них как для окисления этих соединений до CO_2 , так и для их восстановления до метана. Он найден также у большинства метилотрофных и метанотрофных бактерий [39]. Путь ТГМП-зависимого окисления ФА был получен *M. extorquens* AM1 от более древнего предшественника в результате горизонтального переноса. Ген, кодирующий Fae, располагается в одном кластере с ферментами, окисляющими метилентТГМП до CO_2 [39]. У метанотрофов ТГМП используется только для окисления ФА, тогда как ТГФК — только для ассимиляции.

У прокариот существуют пути окисления аммиака и сероводорода. У аутотрофных бактерий аминоксидоксидаза, которая окисляет аммиак, имеет много общих черт с мММО. Оба фермента используют медь, а в качестве восстановителя — цитохром. Аммиак может окисляться как рММО, так и мММО, и является основным донором протонов и электронов. Донором протонов может быть также сероводород, электронов — сульфиды. Сульфид окисляется до серы, сера — до сульфата. Было обнаружено микробное сообщество нитратредуцирующих и сульфидокисляющих бактерий, в котором доминировал *Arco-bacter* sp. [40], а также сообщество анаэробных метанотрофов и сульфатредуцирующих бактерий [41]. У растений на свету с участием цитохрома *c* и ферредоксина происходит ассимиляция сульфата, который, восстанавливаясь, преобразуется в сульфгидрильные группы цистеина. Синтез метионина из цистеина идет по пути: «O-ацетил-L-серин—цистатион—гомоцистеин—метионин», общему для бактерий, растений и грибов. Синтез цистеина с использованием сероводорода могут осуществлять даже археи [42].

Таким образом, в качестве доноров протонов и электронов биосистемы используют восстановленные соединения углерода, азота и серы. В путях окисления и ассимиляции C1 соединений у метилотрофов ФА играет центральную роль. Он используется для получения C2 (ацетат и глиоксилат) и C3 (фосфоглицерат) соединений и для производства восстановительных эквивалентов. Путь окисления метильной группы, существующий во всех биосистемах, мы рассматриваем в качестве первичного донора протонов и электронов в глобальном редокс-цикле углерода. В процессе эволюции формируются сопряженные редокс-системы, объединяющие редокс-циклы азота и серы, углерода и азота, а также углерода и серы. Редокс-цикл кислорода объединяет разные биосистемы. Так, у аэробных организмов используется путь восстановления кислорода, у растений — фотолиз воды. Редокс-циклы четырех элементов, углерода, азота, серы и кислорода формируют единую сопряженную

редокс-систему. В работе сопряженной редокс-системы участвует трипептидглутатион (GSH), содержащий глутамат (переносчик аминокрупп), цистеин (носитель сульфгидрильных групп) и глицин (продукция метильных групп).

ВЕТВИСТЫЙ ПУТЬ ФОРМАЛЬДЕГИДА

Формальдегиддегидрогеназа. Существует несколько путей окисления ФА, два пути – прямые: с помощью ФЛД и после конденсации ФА с ТГМП. У некоторых бактерий, например, у *Pseudomonas putida* [43], *Rhodococcus erythropolis* UPV-1 [44] ФЛД не использует кофакторы. У *Escherichia coli* [45], *Bacillus subtilis* [46], *Arabidopsis thaliana* [47] и человека [48] кофактором ФЛД является глутатион, а у *Mycobacterium tuberculosis* и *M. smegmatis* [49] – микотиол (MSH). MSH – функциональный аналог глутатиона. Он представляет собой цистеинилпсевдодисахарид, содержащий *N*-ацетилцистеин, глюкозамин и *myo*-инозитол («AcCys-GlcN-Ins») [50]. MSH-зависимые ФЛД найдены не только у микробактерий, но также у *Amycolatopsis methanolica* [51], *R. erythropolis* [52] и *C. glutamicum* [53]. Молекулярный вес и кинетические свойства ФЛД, выделенных у животных, беспозвоночных, растений и микроорганизмов, практически идентичны. Повсеместная распространенность и консервативность этого фермента – свидетельство востребованности окисления ФА во всех биосистемах.

Глутатион не был обнаружен у грамположительных мезофильных бактерий, он может отсутствовать у анаэробных микроорганизмов, но есть практически у всех аэробов. Глутатион – кофактор алкогольдегидрогеназы 3 (АДГ3). Она же – ФЛД [54]. К настоящему времени идентифицировано семь различных генов, кодирующих изоформы АДГ (АДГ1–АДГ7) у человека. Все АДГ являются димерами, состоящими из двух субъединиц с мол. массой 40 кДа. Каждый димер содержит два иона Zn^{2+} . АДГ3 – филогенетически наиболее древняя форма АДГ. Первая дупликация гена, кодирующего АДГ3, произошла на уровне костных рыб (405–450 млн лет назад), что привело к возникновению АДГ класса I (классической печеночной АДГ) [55]. АДГ2, 4 и 5 – продукты последующих дупликаций. АДГ2 окисляет ацетальдегид в митохондриях и участвует в метаболизме карбонильных соединений [56].

Уникальным свойством ФА является то, что его молекула с равной вероятностью окисляется и восстанавливается. Печеночная АДГ1 окисля-

ет метанол до ФА в присутствии NAD^+ . ФА может быть быстро восстановлен $NADH$ до метанола или окислен до формиата. Из этих трех реакций самая быстрая – восстановление ФА, а скорость окисления ФА выше, чем скорость окисления метанола [57]. ФА взаимодействует с глутатионом спонтанно неферментативно с образованием S-гидроксиметилглутатиона. Эта реакция свободно обратима. Необратимой она становится, когда глутатионзависимая ФЛД (GSH-ФЛД) превращает S-гидроксиметилглутатион в S-формилглутатион. Специфическая гидролаза гидролизует затем S-формилглутатион с образованием формиата, глутатиона и $NADH$ [58]. ФЛД, таким образом, одновременно поставляет формиат для дальнейших синтезов и $NADH$ в качестве восстановительного эквивалента. При высоких pH фермент может использовать $NADP^+$. ФЛД специфична к ФА. Субстратом этого фермента может быть еще только метилглиоксаль, а продуктом S-пирувилглутатион. Кроме окисления ФА, GSH-ФЛД активно восстанавливает S-нитрозоглутатион, получаемый при конденсации глутатиона с оксидом азота [59].

GSH-ФЛД хорошо изучена у *A. thaliana*, а ее ДНК клонирована [47]. Фермент экспрессируется на одном уровне во всех органах растения [47] и у животных [60] и представлен у *A. thaliana* одной копией гена на хромосоме 5 [61]. У *Pichia methanolica* тоже только один ген кодирует GSH-ФЛД, и его экспрессия регулируется источниками углерода и азота и такой концентрацией метанола, чтобы уровень ФА в клетке не превышал «заданного» значения [62]. У пекарских дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* экспрессия GSH-ФЛД увеличивается следом за повышением содержания в среде метилированных соединений [63]. В общем случае экспрессия фермента зависит от количества ФА, образующегося при окислении субстратов, содержащих метильные группы. Транскрипция гена *GSH-ФЛД* активируется не только ФА, но и соединениями, участвующими в метаболических путях ФА, такими как ТГФК, и сигналами от восстановительных эквивалентов, поступающих из области действия глутатионовой системы [64]. В разных биосистемах сопряженное с глутатионом окисление С1 соединений влияет на такие процессы, как фотосинтез, пролиферация и апоптоз [65, 66].

Таким образом, ФА спонтанно неферментативно реагирует как с ТГФК (ассимиляция), так и с глутатионом (окисление). Выбор пути, вероятно, зависит от наличия восстановленных форм ТГФК и глутатиона. Активация GSH-ФЛД происходит при высоких концентрациях метилированных соединений.

Формиатдегидрогеназа. ФДГ катализирует двухэлектронное окисление формиата до CO_2 . Два разных типа этого фермента обнаружены у аэробных и анаэробных организмов. Фермент аэробов содержит две идентичные субъединицы без металлов и протетической группы и имеет более низкий молекулярный вес. У всех дегидрогеназ этого типа последовательность аминокислот в каталитическом центре очень консервативна. Фермент анаэробов содержит много железо-серных кластеров, есть другие металлы (молибден, вольфрам, селен), и он имеет большой молекулярный вес.

У *E. coli* донорами электронов могут быть молекула водорода и формиат. Формиат метаболизируется тремя мембраносвязанными ФДГ: одна участвует в продукции водорода (ФДГ Н), вторая индуцируется в присутствии нитрата, а третья – в условиях анаэробного роста [67]. Все три фермента содержат в активном центре селеноцистеин, два молибдоптерингуанидиннуклеотида в качестве кофакторов и Fe_4S_4 кластеры [68]. ФДГ Н – компонент анаэробного формиат-водородлиазного комплекса *E. coli*. В отсутствие экзогенных акцепторов электронов этот фермент расщепляет формиат на H_2 и CO_2 . Экспрессия гена ФДГ Н индуцируется формиатом и отсутствием акцепторов электронов, а ингибируется нитратами, нитритами, триметиламином, оксидом азота и кислородом [69]. Дрожжи *S. cerevisiae* не имеют алкогольоксидазу и не окисляют метанол [70]. Однако они окисляют ФА до CO_2 и содержат NAD^+ -зависимую ФДГ. С помощью NAD^+ -зависимой ФДГ формиат окисляется также в клетках растений: при $\text{pH} > 6$ – в митохондриях, при более низких значениях pH – в пероксисомах. Чем больше O_2 в среде, тем выше активность фермента [71].

В растениях ФА встраивается в фолатный цикл или окисляется до формиата и CO_2 , который затем ассимилируется в цикле Кальвина–Бенсона. Формиат используется в синтезе глиоксилата, катализируемом глиоксилатсинтазой, обнаруженной только у растений [72]. У *A. thaliana* окисление ФА доминирует над его ассимиляцией в фолатном цикле, что необходимо для производства формиата. Источниками формиата могут быть также метанол, глиоксилат, серин. В клетке растений формиат окисляется ФДГ в митохондриях и пероксидазой в пероксисоме [73]. При стрессовых воздействиях количество ФДГ достигает 9% от всех митохондриальных белков. Детальное изучение этого фермента у *A. thaliana* показало, что он может транспортироваться из цитоплазмы в хлоропласты благодаря наличию сигнального пептида на N-конце [74]. У бактерий и дрожжей сигнальный пептид

у ФДГ отсутствует. У *A. thaliana* наиболее интенсивная экспрессия гена ФДГ наблюдалась при опрыскивании растения метанолом и ФА, наиболее низкая – формиатом и водой [75], т.е. он активируется не наличием субстрата, а концентрацией ФА. Активность фермента регулируется фосфорилированием, которое снижается при повышении концентрации NAD^+ , формиата и пирувата [76]. Экспрессия ФДГ возрастает в условиях стресса, например, при засухе [77]. При этом в трансгенном картофеле, в котором подавлен синтез фермента, засуха приводила к увеличению содержания пролина и глутамата [78]. В культуре одноклеточной зеленой микроводоросли *Chlamydomonas reinhardtii* в условиях освещения под воздействием метанола внутриклеточное содержание NADPH повышалось в четыре раза эффективнее, чем в темноте. Также увеличивалось общее содержание аминокислот, менялось их соотношение. Количество глутамата, глутамин, аланина, серина и тирозина возрастало, а валина и метионина снижалось [79].

Таким образом, окисление ФА связано с метаболизмом C1 соединений, образованием формиата, системой глутатиона и метаболизмом аминокислот. Основную роль в регуляции этих направлений играют, по-видимому, колебания концентраций ФА.

АМИНОГРУППА – ДВУЛИКИЙ ЯНУС

Аминогруппа – второй участник сопряженной редокс-системы: она может восстанавливаться до аммиака и окисляться до оксида азота, нитратов и нитритов. L-аргинин – аминокислота, гуанидиновая группа которой является донором мочевины и NO . Она может связывать одну, две и три молекулы ФА (очень быстрая реакция), при этом образование моно-, ди- и тригидроксиметил аргининов катализируют трансметилазы. Метилированные производные аргинина являются фактически резервной и транспортной формой ФА, передающей его в фолатный цикл [80].

N^G -гидроксиметил аргинин – одно из соединений, участвующих в поддержании “заданной” эндогенной концентрации ФА [81]. В то же время метилирование аргинина – способ контроля содержания свободного аргинина. С L-аргинином конкурирует L-лизин, так как при физиологических значениях pH лизин может быть прометилирован по эpsilon-аминогруппе с образованием моно-, ди- и триметиллизина [82]. Триметиллизин содержится в кальмодулине [83], который входит в состав NO -синтаз. Аргинин – субстрат для действия аргиназы и NO -синтазы (NOS).

При декарбоксилировании глицина в митохондриях выделяются аммиак и углекислый газ. В матриксе митохондрий аммиак связывается с угольным ангидридом и АТФ. Образовавшийся карбамоилфосфат включается в цикл мочевины, связываясь с орнитином. Отщепление гуанидиновой группы аргинина с образованием мочевины и орнитина катализируется аргиназой. Реакция протекает в цитоплазме, а затем орнитин переносится в митохондрию, где декарбоксилируется с получением полиаминов или вновь захватывает карбамоилфосфат. Аргиназа фактически катализирует выведение аммиака. У большинства млекопитающих есть два изомера аргиназы. Аргиназа 1 локализована в цитоплазме, аргиназа 2 — в митохондриях, где участвует в регуляции соотношения аргинин/орнитин. Аргиназа млекопитающих — тример, активируемый Ca^{2+} и Mn^{2+} , у некоторых бактерий — гексамер, содержащий два иона Mn^{2+} . Третий продукт распада глицина — метильная группа. Она связывается с ТГФК, но может участвовать также в метилировании аргинина, снижая доступность этой аминокислоты.

Окисление аминокислот аргинина молекулярным O_2 в присутствии NADPH с образованием оксида азота и цитрулина катализируют три изоформы NOS: нейрональная (тип I; nNOS), эндотелиальная NOS (тип III; eNOS) и индуцибельная (тип II; iNOS) [84]. nNOS и eNOS экспрессируются постоянно, для проявления активности им требуется Ca^{2+} /кальмодулин. iNOS экспрессируется преимущественно в макрофагах в ответ на стимуляцию цитокинами или эндотоксином и независима от Ca^{2+} [85]. iNOS локализуется в цитоплазме, eNOS посредством пальмитиновой или миристиновой кислоты соединена с кавеолой, углублением на цитоплазматической мембране размером 60–80 м, участвующем в процессах эндо- и трансцитоза. Все три изоформы представляют собой гомодимер, в котором с кальмодулином связана гемсодержащая оксигеназа, а редуктаза принадлежит к группе флавиновых цитохромов P-450. Кофактор тетрагидроптерин (BH_4) активирует молекулу O_2 , соединенную с гемом, отдавая ей один электрон. Катализ поддерживается доступностью аргинина и наличием BH_4 в восстановленной форме.

BH_4 — окислительно-восстановительный сенсор фермента. В протонированной среде в анаэробных условиях он превращается в 7,8-дигидроптерин (BH_2), при нейтральных pH на воздухе он дает до 98% BH_2 и небольшое количество супероксиданиона и перекиси водорода [86]. BH_4 окисляется в BH_2 обратимо. BH_2 восстанавливается глутатионом и аскорбатом. При инак-

тивации BH_4 электроны в NOS уходят к O_2 с образованием вместо оксида азота супероксиданиона, который окисляет BH_4 и еще больше снижает активность NOS, так как окисленный птерин не функционирует. Супероксиданион дисмутирует в перекись водорода. Оксид азота — конкурент СОД в связывании супероксиданиона. Он реагирует с ним со скоростью, близкой к скорости диффузии. Поэтому во многих биосистемах основная генерация пероксида идет при недостаточности NO. При высоких концентрациях H_2O_2 реагирует с BH_4 с формированием стабильного конечного продукта 7,8-дигидроптерина. Ингибирование eNOS перекисью водорода обусловлено, скорее всего, прямым взаимодействием с BH_4 , так как в культуре эндотелиальных клеток H_2O_2 не снижает содержание ни iNOS, ни белка фермента. В присутствии H_2O_2 в клетках сосудистого эндотелия повышается экспрессия гена аргиназы 1 и ее синтез [87], т.е. ингибирование NOS активирует аргиназу. При взаимодействии NO с H_2O_2 образуются пероксинитриты (ONOO^-), которые также могут окислить BH_4 , но в данном случае глутатион и аскорбат выигрывают конкуренцию за субстрат. Активность NO-синтазы обратимо ингибируется молекулой оксида азота. При этом происходит нитрозирование фермента. К снижению продукции NO и повышению производства супероксиданиона приводит также S-глутатионизация NO-синтазы. Одновременно снижается уровень BH_4 и отношение BH_4 : 7,8-дигидроптерин [88].

K_m и V_{\max} аргиназы в ~1000 раз выше, чем NOS [89], поэтому она обладает преимуществом в связывании субстрата. Доступность аргинина — лимитирующая стадия в продукции NO. Когда количество аргинина ограничено, iNOS переносит электроны на O_2 , генерируя супероксиданион, или на молекулу NO, что приводит к образованию пероксинитритов. Производство пероксинитритов было обнаружено при совместной активности аргиназы 1 и iNOS [90]. В то же время, прямое взаимодействие аргиназы 1 с iNOS или eNOS приводит к ее S-нитрозированию. Промежуточный продукт окисления аминокислоты в реакции, катализируемой NOS, N^G-гидрокси-L-аргинин (NOHA), ингибирует активность аргиназы, коэкспрессирующейся в макрофагах. Это позволяет увеличить производство NO [91]. NOHA имеет самостоятельное значение как ингибитор декарбоксилазы орнитина и продукции полиаминов [92]. Таким образом, NOS и, в частности, eNOS является неким «переключателем», контролирующим производство NO и H_2O_2 , а также выведение аммиака. Взаимоотношения аргиназы и NOS следует рас-

смаивать как регуляцию равновесия редокс-цикла азота в колебательном контуре «аммиак–аминогруппа–оксид азота».

Асимметричный диметиларгинин (ADMA) – ингибитор NO-синтазы [93]. ADMA содержится в крови в очень низких концентрациях, ~0,5 μM [94]. Фермент диметиларгинин диметиламиногидролаза метаболизирует его до L-цитруллина и диметиламина [95]. На этом уровне регуляцию осуществляет метильная группа и ФА как ее производное. Доступность аргинина, которая определяется равновесием между связыванием метильной группы, высвобождающейся при декарбоксилировании глицина, с ТГФК и ее окислением до ФА, можно считать первым и основным уровнем регуляции. Содержание свободного аргинина определяется, в конечном счете, скоростью декарбоксилирования глицина и наличием ТГФК, так как от этого зависит количество метилированного аргинина. В свою очередь, активность ФЛД, препятствующая метилированию аргинина, связана с наличием восстановленного глутатиона. Регуляции по типу обратной связи осуществляются, когда оксид азота блокирует ФДГ, ADMA ингибирует NOS, а NOHA – аргиназу. Второй уровень регуляции также зависит от восстановленного глутатиона, который поддерживает восстановленное состояние редокс-сенсора VH_4 и определяет соотношение NO/ H_2O_2 . В результате таких сложных регуляций поддерживается баланс концентраций ФА, NO и H_2O_2 . Глутатион связывает оксид азота, восстанавливает VH_4 и является кофактором ФЛД. Кроме того, он восстанавливает α -липоевую кислоту (АЛК), которая входит в каталитический центр глициндекарбоксилазного и пируватдегидрогеназного комплексов в митохондрии, тем самым обеспечивая окисление как метильной группы, так и ацетата, т.е. производство NADH. Преинкубация эндотелиальных клеток с АЛК увеличивала их способность генерировать оксид азота [96]. Таким образом, глутатион связывает между собой пути окисления метильной группы, восстановления перекиси водорода и производство аммиака и оксида азота (рис. 1).

Оксид азота участвует в регуляции потребления O_2 в митохондрии, так как может ингибировать цитохром c. При высоких концентрациях O_2 электроны электронтранспортной цепи (ЭТЦ) окисляют NO до нитритов, при низких концентрациях кислорода или в его отсутствие – восстанавливают нитриты до NO. Таким образом, митохондрия вовлечена не только в производство метильной группы и перекиси водорода, но также и в ту составляющую сопряженной редокс-системы, где участвует азот. NO вызывает

очень быстрые нарушения функционирования митохондрии. Он также влияет на экспрессию пероксиредоксинов и сульфуредоксинов и на чувствительность пероксиредоксинов к гипероксидации [97]. Непосредственное участие молекулярного кислорода в окислении аминокислоты и производстве перекиси водорода – причина того, что оксид азота – активный регулятор ангиогенеза. Разветвленная капиллярная сеть способствует лучшему снабжению клеток кислородом. Оксид азота участвует также в транспорте инсулина через стенку капилляров в скелетной мышце, что улучшает потребление глюкозы и энергообеспечение миоцитов [98].

Таким образом, в сопряженной редокс-системе аминокислота конкурирует с метильной группой в качестве донора протонов. Исход конкуренции зависит от ФЛД, активность которой определяет наличие свободного аргинина, субстрата для производства мочевины и оксида азота. Соотношение NO/ H_2O_2 следует, вероятно, рассматривать как отражение конкурентных отношений между аргиназой и NOS. В конечном итоге, окисление метильной группы регулирует поддержание равновесия в колебательном контуре «аммиак–аминогруппа–оксид азота». Нарушения в этой сложной системе регуляции – причина накопления пероксинитритов и развития окислительного стресса.

ТРЕТИЙ УЧАСТНИК – КИСЛОРОД

Метаболизм C1 соединений существует во всех организмах от архей до человека. Внутри клетки его отдельные стадии компартиментализованы. У дрожжей *Candida hoidinii*, растущих на метаноле, в большом количестве появляются пероксисомы, которые содержат только два фермента – алкогольоксидазу и каталазу. Каталаза нейтрализует H_2O_2 , которая образуется при окислении метанола до ФА. Дальнейшее окисление ФА у *C. hoidinii* происходит в цитоплазме [99]. Метанол окисляют также пероксисомы в ретине крыс [100]. В то же время, с помощью H_2O_2 каталаза способна окислять ФА и формиат. Можно предположить, что в пероксисоме с участием перекиси водорода происходит полное окисление до CO_2 метильных групп, высвобождающихся на последних стадиях синтеза холестерина. Между тем, к алиментарным факторам, понижающим каталазную активность, относят недостаточность фолиевой кислоты, биотина, пантотеновой кислоты, рибофлавина, витамина А. Снижение активности каталазы наблюдается при избытке метионина, тирозина, цистина, меди, цинка. Набор факторов указывает на то, что

каталаза — участник таких процессов, как метаболизм С1 соединений, жирных кислот, катехоламинов, глутатиона, функционирования компонентов редокс-системы в цитоплазме, где содержится Cu/Zn СОД.

В пероксисомах клеток печени каталаза составляет до 40% от общего количества белка и восстанавливает до воды H_2O_2 , которая образуется в реакциях, катализируемых оксидазами: уратоксидазой, оксидазой D-аминокислот, оксидазой α -оксикислот и при β -окислении жирных кислот. Флавопротеидглицинооксидаза катализирует в пероксисомах окислительное деаминарование глицина с образованием глиоксилата и H_2O_2 . Глиоксилат затем окисляется в митохондриях карболигазой глиоксильной кислоты до оксалата или формиата и CO_2 [101]. Кофактор реакции — тиамин [102]. Формиат восстанавливается при участии NADPH и ТГФК в формильное производное ТГФК. У растений в пероксисомах из глиоксилата образуется глицин, который переносится в митохондрию. Другой источник глицина и 5,10-метилентГФК — серин. Активность серингидроксиметилтрансферазы равным образом распределена между цитоплазмой и митохондрией [103]. Существует независимая от ТГФК реакция превращения серина в глицин, в которой возможна продукция ФА [104]. Основное производство 5,10-метилентГФК осуществляется в митохондриях глициндекарбоксилазной системой, каталитический центр которой локализуется в Р-пептиде, содержащем АЛК. Глициндекарбоксилазная система присутствует исключительно в митохондриях. Серин и глицин — предшественники в синтезе хлорофилла, гема, глутатиона, триптофана. У *E. coli* 15% от всех атомов углерода, ассимилированных при окислении глюкозы, проходят через серин-глициновый путь [105].

Пероксисома и митохондрия метаболически связаны [106]. В пероксисомах вода производится путем ферментативного 4-электронного восстановления кислорода через стадию образования H_2O_2 , а в митохондриях — через 4-электронное восстановление O_2 в ЭТЦ, минуя образование H_2O_2 . Перекись водорода в митохондриях — продукт дисмутации супероксиданиона, образующегося в комплексах 1 и 3 ЭТЦ. Дисмутация супероксиданиона — основной источник H_2O_2 в клетке. В митохондриях дисмутацию катализирует Mn^{2+} СОД, в цитоплазме — $Cu^{2+}Zn^{2+}$ СОД. У аэробных организмов O_2 получает электроны от железа цитохромов, флавиновых коферментов, семихинонов. Любая реакция супероксиданиона в водном растворе конкурирует с СОД. В отсутствие СОД происходит спонтанная дисмутация [107]. В водных растворах O_2 протониру-

ется спонтанно с образованием H_2O_2 при низких рН. Эта реакция протекает очень медленно. В присутствии СОД реакция ускоряется почти в 10^4 раза [107]. Перекись водорода — стабильное соединение. В отличие от супероксиданиона, она может диффундировать сквозь цитоплазматическую мембрану. СОД относят к ферментам антиоксидантной защиты, нивелирующим токсическое действие супероксиданиона. Между тем, перекись водорода необходима для осуществления самых разнообразных процессов, включая пролиферацию и апоптоз. Она участвует в окислительно-восстановительном балансе сульфгидрильных групп. Поэтому ферментативную дисмутацию можно рассматривать как генератора H_2O_2 .

В мембранах цитоплазматического ретикулума H_2O_2 производят цитохромы *P-450*, которые проявляют свойства монооксигеназ и участвуют в деградации ксенобиотиков. Связанные с цитоплазматической мембраной NADPH-зависимые оксидазы генерируют H_2O_2 в ответ на стимуляцию факторами роста или цитокинами. Несмотря на то, что отсутствует связь между микросомальными ферментами и сигналами, поступающими от факторов роста, редокс-система регулирует фолдинг и секрецию белков в эндоплазматическом ретикулуме [108].

Таким образом, 4-электронное восстановление кислорода с образованием воды осуществляется двумя способами: первый — без участия NADH через стадию образования перекиси водорода и второй — с участием NADH в ЭТЦ. Первый способ реализуется при окислении метильной группы в пероксисоме и, возможно, в митохондриях (окисление метильной группы, образующейся при декарбоксилировании глицина), второй — при окислении ацетата в митохондриях. Метильная группа и ацетат — источники протонов, тогда как вода и мочевины — две формы выведения протонов из биосистемы. Углерод метильной группы и ацетата выводится в форме углекислого газа. В итоге кислород выводит из биосистемы электроны, протоны и углерод, которые не участвуют в восстановительных синтезах.

СУЛЬФИДРИЛЬНЫЕ ГРУППЫ И РЕДОКС СЕРЫ

Неферментативное одноэлектронное восстановление H_2O_2 в присутствии ионов переходных металлов приводит к образованию гидроксиланиона (реакция Фентона), который обладает разрушительными свойствами. Антиоксидантная защита состоит в удалении продуктов пе-

роксидации, тогда как нейтрализация ионов переходных металлов является одним из параметров регуляции образования супероксиданиона, которую осуществляет, в том числе, АЛК, способная хелатировать ионы Cu^{2+} и Fe^{2+} . Регулируется содержание и других переходных металлов: цинка, магния, никеля [109, 110].

Токсические свойства H_2O_2 проявляются при превышении некоего порога концентрации. При одних концентрациях перекись водорода выполняет регуляторные функции, при других вызывает оксидативный стресс или проявляет цитотоксичность. Необходимая концентрация H_2O_2 в клетке поддерживается благодаря равновесию между ее образованием и восстановлением. В условиях «мягкого» стресса H_2O_2 восстанавливается до воды глутатионпероксидазой (GPx), «жесткого» – каталазой. Тем не менее в эритроцитах при высокой скорости образования H_2O_2 (10^{10} – 10^9 моль H_2O_2 на 1 мг гемоглобина в 1 мин) преобладает активность GPx, а при низкой (менее 10^9 моль) – каталазы [111]. Свойства пероксидазы проявляет также глутатионтрансфераза: как и у каталазы, ее субстратом является только перекись водорода. В клетке GPx локализована в основном в цитоплазме, каталаза – исключительно в пероксисомах. Аффинность GPx к H_2O_2 на один–два порядка выше, чем каталазы. Тем не менее, каталаза относится к числу ферментов с наиболее высоким числом оборотов и может разложить 44 000 молекул H_2O_2 в секунду, т.е. для расщепления большого количества перекиси водорода требуется малое количество фермента. Как и в случае с СОД, скорость реакции определяется диффузией и не требует энергии для активации. GPx содержит в активном центре селеноцистеин и специфично окисляет восстановленный глутатион. Высокий уровень восстановленного глутатиона поддерживается NADPH-зависимым ферментом глутатионредуктазой. Активность ферментов, обеспечивающих функционирование глутатионовой системы, регулируется преимущественно в ответ на мягкий стресс на транскрипционном уровне [112]. Фактор транскрипции Nrf2 связывается с антиоксидант-отвечающим элементом ARE в промоторе генов, кодирующих, в частности L-глутамат: L-цистеинлигазу и глутатион S-трансферазы [113]. Nrf2 может активироваться гомоцистеином, компонентом системы переноса метильной группы [114].

В состав глутатиона и белков входит цистеин, сульфгидрильные группы которого участвуют в редокс-цикле серы, отдавая протоны или окисляясь до сульфониловой кислоты. Сульфгидрильные группы содержат также дигидролипоевая кислота (ДГАЛК). АЛК восстанавливают

до ДГАЛК три фермента, связанные с окислением NADH или NADPH: митохондриальная NADH-зависимая дигидролипоеамиддегидрогеназа, NADPH-зависимый тиоредоксин цитоплазмы и глутатионредуктаза. Восстановление АЛК с помощью NADPH идет в два раза быстрее благодаря участию тиоредоксинредуктазы. Тиоредоксинредуктаза – это селенопротеин с большим молекулярным весом. Она контролирует редокс-статус клеток млекопитающих совместно с глутатион-глутаредоксиновой системой (NADPH, глутатионредуктаза, глутатион, глутаредоксин), с которой обменивается электронами. От содержания селена в организме зависит функционирование цитохрома P-450, а также транспорт электронов в митохондриях. Благодаря сильному отрицательному редокс-потенциалу ДГАЛК может восстановить глутатион и убихинон [115]. Восстановление убихинона может привести к блокированию передачи ему электронов от NADH-дегидрогеназного комплекса ЭТЦ. Тиоредоксиновая система регулирует активность многих редокс-чувствительных факторов транскрипции [116], снабжает электронами тиол-зависимые пероксидазы (пероксиредоксины), чтобы ускорить нейтрализацию активных форм кислорода и азота, и восстанавливает рибонуклеотидредуктазу и метионинсульфоксидредуктазу [117, 118]. В бактериях отсутствует глутатион-глутаредоксиновая система, а тиоредоксинредуктаза у них – белок с низким молекулярным весом и диапазон ее действия другой [119].

АЛК связана с глутатионовой системой. В низких концентрациях (25 и 100 μM) АЛК повышает содержание глутатиона в клетках, в высоких (2 мМ) может вызвать апоптоз. ДГАЛК стимулирует синтез глутатиона, так как способствует утилизации цистеина: она восстанавливает цистин до цистеина [120]. Во многих клетках доступность экстрацеллюлярного цистеина – лимитирующая стадия в синтезе глутатиона [121]. АЛК и окисленный глутатион восстанавливаются NADPH, который генерируется в пентозофосфатном цикле. Глюкоза, отдающая протоны и электроны в пентозофосфатном цикле, через АЛК и глутатион обеспечивает сопряжение между окислением метильных групп и ацетата: глутатион является кофактором ФЛД, а АЛК – пируватдегидрогеназного и глициндекарбоксилазного комплексов (рис. 2).

Редокс-система регулирует сигнальную передачу и метаболические пути. Оксид азота осуществляет регуляцию двумя способами – через S-нитрозирование внутриклеточных белков и непосредственным действием, так как NO обратимо связывается с металлами в активных цент-

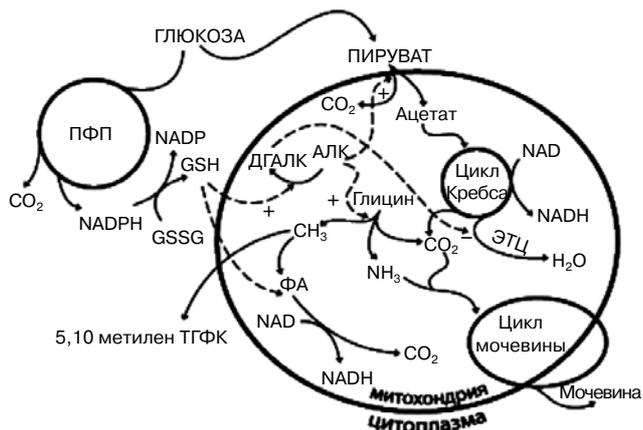


Рис. 2. Трехуровневая система доноров протонов: 1 уровень — окисление метильной группы; 2 уровень — окисление ацетата; 3 уровень — окисление глюкозы в пентозофосфатном пути

рах ферментов, в том числе с железом гема и железо-серных кластеров [122]. В белках нитрозируются тирозины [123]. *S*-нитрозирование цистеиновых остатков регулирует структуру белков и их функции [124]. Для *S*-нитрозирования требуется одноэлектронное окисление первичного комплекса между NO и тиолом. При этом необходимо, чтобы в среде присутствовали окислители: кислород или переходные металлы. *S*-нитрозирование может происходить и в анаэробных условиях [125]. В присутствии кислорода эндогенный оксид азота вызывает *S*-нитрозирование тиолов в белках (SNO) и глутатионе (GSNO) через образование активных форм, таких как N_2O_3 , NO_2 , тиоловые радикалы [126]. GSNO — наиболее богатый источник NO в клетке [127]. Он вызывает прямое образование *S*-нитрозотиолов в белках и осуществляет транснаитрозирование. *S*-нитрозотиолы — стабильные соединения при 37° и pH 7,4. Присутствие переходных металлов разрушает их до NO и дисульфидов, а гидролизуются они с образованием высокореактивной сульфоновой кислоты, которая, в свою очередь, либо связывается со свободным глутатионом, либо образует дисульфидные связи с ближайшим цистеином [128]. Среди белков, подвергающихся нитрозированию, есть ферменты, участвующие в гликолизе и окислительном фосфорилировании.

Дегградация нитрозотиолов катализируется НАДН-зависимой GSNO редуктазой (GSNOR), которая денитрирует GSNO, карбонилредуктазой 1 (CBR1) и тиоредоксинредуктазой. GSNOR — основной фермент, контролирующий метаболизм NO и *S*-нитрозирование. Повышение его экспрессии приводит к денитрозира-

нию многих белков. GSNOR — это ФЛД [129, 130]. ФА способствует восстановлению GSNO в условиях низкого отношения $NADH/NAD^+$ в цитоплазме. GSNOR и NADPH-зависимая CBR1 катализируют перенос водорода от NADPH к GSNO с образованием GSNHON, который спонтанно преобразуется в GSONH₂ [131]. Восстановление GSNO может привести к образованию сульфинамида и продукта его гидролиза — глутатионсульфониловой кислоты, которые являются ингибиторами глутатионтрансферазы.

Три фермента, участвующие в метаболизме цистеина: цистатион-синтаза, цистатион- γ -лиаза и 3-меркаптопируватсерутрансфераза совместно с цистеинаминотрансферазой, способны генерировать сероводород, который является еще одной сигнальной молекулой [132]. Он модулирует активность нейронов, сокращение гладкой мускулатуры, секрецию инсулина [133]. Избыток NO ингибирует активность цистатион-синтазы, а ФА — экспрессию этого фермента, что снижает продукцию сероводорода [134]. Совместность действий ФА и NO подтверждается тем, что ADMA существенно влияет на эффект, вызываемый ФА. Экспозиция клеток линии PC12 ФА вызывает продукцию оксида азота, ингибирует экспрессию цистатионсинтазы, снижает жизнеспособность и эндогенное производство сероводорода [135].

Таким образом, сульфгидрильные группы участвуют в регуляции содержания в клетке перекиси водорода и производства воды в ЭТЦ, осуществляют связь между тремя уровнями генерации протонов — окислением метильной группы, окислением ацетата, дегградацией глюкозы в пентозофосфатном цикле, совместно с оксидом азота регулируют сигнальное взаимодействие в клетке.

ОДИН ЗА ВСЕХ И ВСЕ ЗА ОДНОГО

Окислительно-восстановительный цикл углерода «метан—углекислый газ—метан», который осуществляется метанотрофными бактериями и метаногенными археями, лежит в основе метаболических путей C1 соединений. В этом цикле высвобождаются и утилизируются 4 электрона и 4 протона. В его центре находится молекула ФА, способная с равной вероятностью окисляться и восстанавливаться, она используется как источник восстановительных эквивалентов и для ассимиляции. Путь последовательного окисления метана — древнейший донор протонов и электронов в биосистемах. Метан и кислород составляют сбалансированную донорно-акцепторную пару, так как метан в качестве донора отдает, а O₂

в качестве акцептора принимает 4 протона и 4 электрона. Продукты этого взаимодействия — углекислый газ и вода. На следующем этапе вода становится донором протонов. Она восстанавливает CO_2 с образованием глюкозы и высвобождением O_2 . Так замыкается круговорот кислорода. Глюкоза отдает протоны в пентозофосфатном пути и окисляется до ацетата, более емкого источника протонов, чем метильная группа. В конечном счете, метильная группа, ацетат и глюкоза образуют трехуровневую систему доноров протонов (рис. 2).

Помимо метана, другие древнейшие доноры протонов — аммиак, сероводород, вода. Метан образует с ними единую систему: $\text{CH}_4\text{—NH}_3\text{—SH}_2\text{—H}_2\text{O}$. Азот и сера имеют собственные редокс-циклы. У аэробных организмов редокс-циклы азота и серы входят как компоненты в редокс-систему, соединившую углерод и кислород. Базовая сопряженная редокс-система строится из трех основных элементов: донора протонов и электронов — окисления метильной группы, акцептора — молекулярного кислорода, а аминогруппа является одновременно и донором, и акцептором. Благодаря редокс-балансу сульфгидрильных групп цистеина, содержащегося в белках, глутатионе, тиоредоксине и АЛК, осуществляется функционирование редокс-системы и общая регуляция основных физиологических функций клетки: сигнальной передачи, преобразования энергии, пролиферации и апоптоза. Базовую регуляцию в редокс-системе обеспечивает GSH-ФЛД, она же GSNOR. Другой важный узел регуляции находится в NOS. Экспрессия GSH-ФЛД и активность NOS зависят от концентрации ФА. В сопряженной редокс-системе строго поддерживается сбалансированность концентраций ФА, H_2O_2 , NO и ре-

докс-равновесие серы. В этом участвуют также редокс-сенсоры — факторы транскрипции [136].

Глутатионовая система соединяет в единое целое не только трехкомпонентную сопряженную редокс-систему, но и трехуровневую систему доноров протонов. Глутатион восстанавливает в митохондриях АЛК, которая участвует в производстве метильных групп (глицин декарбоксилазный комплекс) и ацетата (пируватдегидрогеназный комплекс). Ацетат так же как ФА окисляется или ассимилируется. Ацетат окисляется O_2 в митохондриях, либо используется для синтеза жирных кислот (углеводородов). Окисление метильной группы и аминогруппы сопряжено с восстановлением O_2 до воды через стадию образования перекиси водорода, окисление ацетата — с восстановлением O_2 до воды в ЭТЦ митохондрий. Энергия, высвобождаемая в ЭТЦ и запасаемая в АТФ, затрачивается, в том числе, на синтез из ацетата жирных кислот. Жирные кислоты являются конечными акцепторами протонов. Аккумуляция жирных кислот в биосистеме приводит к затуханию функций сопряженной редокс-системы и развитию окислительного стресса.

В настоящее время глутатионовая система рассматривается как компонент антиоксидантной защиты. По нашему мнению, глутатион связывает в единый комплекс функционирование сопряженной редокс-системы, окисление ацетата в цикле Кребса и окисление глюкозы в ПФП. В модели сопряженной редокс-системы раскрывается новая, не описанная ранее, роль метильной группы как донора протонов помимо ТГФК-зависимого пути окисления. Этот путь не связан с образованием энергии в виде АТФ и существует для поддержания стационарности pH.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Witthoff, S., Muhloth, A., Marienhagen, J., and Bott, M. (2013) C1 metabolism in *Corynebacterium glutamicum*: an endogenous pathway for oxidation of methanol to carbon dioxide, *Appl. Environ. Microbiol.*, **79**, 6974–6983.
2. Van Wilder, V., De Brouwer, V., Loizeau, K., Gambonnet, B., Albrieux, C., Van Der Straeten, D., Lambert, W.E., Douce, R., Block, M.A., Rebeille, F., and Ravel, S. (2009) C1 metabolism and chlorophyll synthesis: the Mg-protoporphyrin IX methyltransferase activity is dependent on the folate status, *New Phytologist.*, **182**, 137–145.
3. Yamagata, Y., Szabo, P., Szuts, D., Bacquet, C., Aranyi, T., and Paldi, A. (2012) Rapid turnover of DNA methylation in human cells, *Epigenetics*, **7**, 141–145.
4. Hanson, A.D., and Roje, S. (2001) One-carbon metabolism in higher plants, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **52**, 119–137.
5. Cossins, E.A. (2000) The fascinating world of folate and one-carbon metabolism, *Can. J. Bot.*, **78**, 691–708.
6. Sardi, E., and Tyihak, E. (1994) Simple determination of formaldehyde in dimedone adduct form in biological samples by high performance liquid chromatography, *Biomed. Chromatogr.*, **8**, 313–314.
7. Huszti, Z., and Tyihak, E. (1986) Formation of formaldehyde from S-adenosyl-L-[methyl-3H] methionine during enzymic transmethylation of histamine, *FEBS Lett.*, **209**, 362–366.
8. Handler, P., Bernheim, M.L.C., and Klein, J.R. (1941) The oxidative demethylation of sarcosine to glycine, *J. Biol. Chem.*, **138**, 211–218.
9. Jia, G., Yang, C.G., Yang, S., Jian, X., Yi, C., Zhou, Z., and He, C. (2008) Oxidative demethylation of 3-methylthymine and 3-methyluracil in single-stranded DNA and RNA by mouse and human FTO, *FEBS Lett.*, **582**, 3313–3319.

10. Prather, C.W., and Sisler, E.C. (1972) Glycine and glyoxylate decarboxylation in *Nicotiana rustica* roots, *Phytochemistry*, **11**, 1637–1647.
11. Clejan, L.A., and Cederbaum, A.I. (1993) Stimulation by paraquat of microsomal and cytochrome P-450-dependent oxidation of glycerol to formaldehyde, *Biochem. J.*, **295**, 781–786.
12. Fall, R., and Benson, A.A. (1996) Leaf methanol: the simplest natural product from plants, *Trends Plant Sci.*, **1**, 296–301.
13. Case, G.L., and Benevenga, N.J. (1977) Significance of formate as an intermediate in the oxidation of the methionine, S-methyl-L-cysteine and sarcosine methyl carbons to CO₂ in the rat, *J. Nutr.*, **107**, 1665–1676.
14. Chen, L., Chan, S.Y., and Cossins, E.A. (1997) Distribution of folate derivatives and enzymes for synthesis of 10-formyltetrahydrofolate in cytosolic and mitochondrial fractions of pea leaves, *Plant Physiol.*, **115**, 299–309.
15. Trezl, L., Rusznak, I., Tyihak, E., Szarvas, T., and Szende, B. (1983) Spontaneous N^v-methylation and N^v-formylation reactions between L-lysine and formaldehyde inhibited by L-ascorbic acid, *Biochem. J.*, **214**, 289–292.
16. Szende, B., and Tyihak, E. (2010) Effect of formaldehyde on cell proliferation and death, *Cell Biol. Int.*, **34**, 1273–1282.
17. Yurimoto, H., Kato, N., and Sakai, Y. (2005) Assimilation, dissimilation, and detoxification of formaldehyde, a central metabolic intermediate of methylotrophic metabolism, *Chem. Rec.*, **5**, 367–375.
18. Lidstrom, M.E. (1992) The aerobic methylotrophic bacteria, in *The prokaryotes* (Balows, A., Truper, H.G., Dworkin, M., Harder, W., and Schleifer, K.-H., eds) Springer-Verlag, N.Y., pp. 431–445.
19. Kato, N., Yurimoto, H., and Thauer, R.K. (2006) The physiological role of the ribulose monophosphate pathway in bacteria and archaea, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **70**, 10–21.
20. Stolzenberger, J., Lindner, S.N., and Wendisch, V.F. (2013) The methylotrophic *Bacillus methanolicus* MGA3 possesses two distinct fructose 1,6-bisphosphate aldolases, *Microbiology*, **159**, 1770–1781.
21. Quayle, J.R. (1980) Microbial assimilation of C1 compounds. The Thirteenth CIBA Medal Lecture, *Biochem. Soc. Trans.*, **8**, 1–10.
22. Smejkalova, H., Erb, T.J., and Fuchs, G. (2010) Methanol assimilation in *Methylobacterium extorquens* AM1: demonstration of all enzymes and their regulation, *PLoS One*, **5**, e13001.
23. Luers, G.H., Advani, R., Wenzel, T., and Subramani, S. (1998) The *Pichia pastoris* dihydroxyacetone kinase is a PTS1-containing, but cytosolic, protein that is essential for growth on methanol, *Yeast*, **14**, 759–771.
24. Amaral, J.A., and Knowles, R. (1995) Growth of methanotrophs in methane and oxygen counter gradients, *FEMS Microbiol. Lett.*, **126**, 215–220.
25. Lipscomb, J.D. (1994) Biochemistry of the soluble methane monooxygenase. *Annu. Rev. Microbiol.*, **48**, 371–399.
26. Dalton, H. (1992) Methane oxidation by methanotrophs: physiological and mechanistic implications, in *Methane and methanol utilizers* (Murrell, J.C., and Dalton, H., eds) Plenum Press, N.Y., pp. 85–114.
27. Prior, S.D., and Dalton, H. (1985) The effect of copper ions on membrane content and methane monooxygenase activity in methanol-grown cells of *Methylococcus capsulatus* (Bath), *J. Gen. Microbiol.*, **131**, 155–163.
28. Wolf, H.J., and Hanson, R.S. (1978) Alcohol dehydrogenase from *Methylobacterium organophilum*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **36**, 105–114.
29. Anthony, C. (1992) The structure of bacterial quinoprotein dehydrogenases, *Int. J. Biochem.*, **24**, 29–39.
30. Dijkhuizen, L., Levering, P.R., and de Vries, G.E. (1992) The physiology and biochemistry of aerobic methanol-utilizing gram-negative and gram-positive bacteria, in *Methane and methanol oxidizers* (Murrell, J.C., and Dalton, H., eds) Plenum Press, N.Y., pp. 149–181.
31. Hanson, R.S., and Hanson, T.E. (1996) Methanotrophic bacteria, *Microbiol. Rev.*, **60**, 439–471.
32. Whittenbury, R., and Krieg, N.R. (1984) Methylococcaceae fam. nov., in *Bergey's manual of systematic bacteriology* (Krieg, N.R., and Holt, J.G., ed.) Vol. 1, pp. 256–262.
33. Херд Ч.Д. (1938) Пиролиз соединений углерода. Главная редакция химической литературы, Москва, Ленинград.
34. Kato, N., Omori, Y., Tani, Y., and Ogata, K. (1976) Alcohol oxidases of *Kloeckera* sp. and *Hansenula polymorpha*. Catalytic properties and subunit structures, *Eur. J. Biochem.*, **64**, 341–350.
35. Kato, N., Higuchi, T., Sakazawa, C., Nishizawa, T., Tani, Y., and Yamada, H. (1982) Purification and properties of a transketolase responsible for formaldehyde fixation in a methanol-utilizing yeast, *Candida boidinii* (*Kloeckera* sp.) No. 2201, *Biochim. Biophys. Acta*, **715**, 143–150.
36. Chistoserdova, L., Gomelsky, L., Vorholt, J.A., Gomelsky, M., Tsygankov, Y.D., Thauer, R.K., and Lidstrom, M.E. (2000) Analysis of two formaldehyde oxidation pathways in *Methylobacillus flagellatus* KT, a ribulose monophosphate cycle methylotroph, *Microbiology*, **146**, 233–238.
37. Chistoserdova, L., Vorholt, J.A., Thauer, R.K., and Lidstrom, M.E. (1998) C1 transfer enzymes and coenzymes linking methylotrophic bacteria and methanogenic archaea, *Science*, **281**, 99–102.
38. Kallen, R.G., and Jencks, W.P. (1966) The mechanism of the condensation of formaldehyde with tetrahydrofolic acid, *J. Biol. Chem.*, **241**, 5851–5863.
39. Vorholt, J.A., Chistoserdova, L., Stolyar, S.M., Thauer, R.K., and Lidstrom, M.E. (1999) Distribution of tetrahydromethanopterin-dependent enzymes in methylotrophic bacteria and phylogeny of methenyl tetrahydromethanopterin cyclohydrolases, *J. Bacteriol.*, **181**, 5750–5757.
40. Vorholt, J.A., Chistoserdova, L., Lidstrom, M.E., and Thauer, R.K. (1998) The NADP-dependent methylene tetrahydromethanopterin dehydrogenase in *Methylobacterium extorquens* AM1, *J. Bacteriol.*, **180**, 5351–5356.
41. De Gussem, B., De Schryver, P., De Cooman, M., Verbeken, K., Boeckx, P., Verstraete, W., and Boon, N. (2009) Nitrate-reducing, sulfide-oxidizing bacteria as microbial oxidants for rapid biological sulfide removal, *FEMS Microbiol. Ecol.*, **67**, 151–161.
42. Orphan, V.J., Turk, K.A., Green, A.M., and House, C.H. (2009) Patterns of 15N assimilation and growth of methanotrophic ANME-2 archaea and sulfate-reducing bacteria within structured syntrophic consortia revealed by FISH-SIMS, *Environ. Microbiol.*, **11**, 1777–1791.
43. Hell, R., and Wirtz, M. (2008) Metabolism of cysteine in plants and phototrophic bacteria. In *Sulfur metabolism in phototrophic organisms* (Hell, R., Dahl, C., and Leustek, T., eds) Springer, Dordrecht, Netherlands, pp. 61–94.
44. Tsuru, D., Oda, N., Matsuo, Y., Ishikawa, S., Ito, K., and Yoshimoto, T. (1997) Glutathione-independent formaldehyde dehydrogenase from *Pseudomonas putida*: survey of functional groups with special regard for cysteine residues, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **61**, 1354–1357.
45. Jaureguibeitia, A., Saa, L., Llama, M.J., and Serra, J.L. (2007) Purification, characterization and cloning of aldehyde dehydrogenase from *Rhodococcus erythropolis* UPV-1, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **73**, 1073–1086.

46. Gutheil, W.G., Kasimoglu, E., and Nicholson, P.C. (1997) Induction of glutathione-dependent formaldehyde dehydrogenase activity in *Escherichia coli* and *Hemophilus influenzae*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **238**, 693–696.
47. Fang, Z., Roberts, A.A., Weidman, K., Sharma, S.V., Claiborne, A., Hamilton, C.J., and Dos Santos, P.C. (2013) Cross-functionalities of Bacillus deacetylases involved in bacillithiol biosynthesis and bacillithiol-S-conjugate detoxification pathways, *Biochem. J.*, **454**, 239–247.
48. Martinez, M.C., Achkor, H., Persson, B., Fernandez, M. R., Shafqat, J., Farres, J., Jornvall, H., and Pares, X. (1996) Arabidopsis formaldehyde dehydrogenase. Molecular properties of plant class III alcohol dehydrogenase provide further insights into the origins, structure and function of plant class p and liver class I alcohol dehydrogenases, *Eur. J. Biochem.*, **241**, 849–857.
49. Yang, Z.N., Bosron, W.F., and Hurley, T.D. (1997) Structure of human chi chi alcohol dehydrogenase: a glutathione-dependent formaldehyde dehydrogenase, *J. Mol. Biol.*, **265**, 330–343.
50. Vogt, R.N., Steenkamp, D.J., Zheng, R., and Blanchard, J.S. (2003) The metabolism of nitrosothiols in the Mycobacteria: identification and characterization of S-nitrosomycothiols reductase, *Biochem. J.*, **374**, 657–666.
51. Garg, A., Soni, B., Singh Paliya, B., Verma, S., and Jadaun, V. (2013) Low molecular weight thiols: glutathione (GSH), mycothiol (MSH) potent antioxidant compound from actinobacteria, *J. App. Pharm. Sci.*, **3**, 117–120.
52. van Ophem, P.W., Van Beeumen, J., and Duine, J.A. (1992) NAD linked, factor-dependent formaldehyde dehydrogenase or trimeric, zinc-containing, long-chain alcohol dehydrogenase from *Amycolatopsis methanolica*, *Eur. J. Biochem.*, **206**, 511–518.
53. Eggeling, L., and Sahm, H. (1985) The formaldehyde dehydrogenase of *Rhodococcus erythropolis*, a trimeric enzyme requiring a cofactor and active with alcohols, *Eur. J. Biochem.*, **150**, 129–134.
54. Lessmeier, L., Hoefener, M., and Wendisch, V.F. (2013) Formaldehyde degradation in *Corynebacterium glutamicum* involves acetaldehyde dehydrogenase and mycothiol-dependent formaldehyde dehydrogenase, *Microbiology*, **159**, 2651–2662.
55. Holmquist, B., and Vallee, B.L. (1991) Human liver class III alcohol and glutathione dependent formaldehyde dehydrogenase are the same enzyme, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **178**, 1371.
56. Danielsson, O., and Jornvall, H. (1992) “Enzymogenesis”: classical liver alcohol dehydrogenase origin from the glutathione-dependent formaldehyde dehydrogenase line, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, 9247–9251.
57. Gong, D., Zhang, H., and Hu, S. (2013) Mitochondrial aldehyde dehydrogenase 2 activation and cardioprotection, *J. Mol. Cell. Cardiol.*, **55**, 58–63.
58. Pocker, Y., and Li, H. (1991) Kinetics and mechanism of methanol and formaldehyde interconversion and formaldehyde oxidation catalyzed by liver alcohol dehydrogenase, *Adv. Exp. Med. Biol.*, **284**, 315–325.
59. Neben, I., Sahm, H., and Kula, M.-R. (1980) Studies on an enzyme, S-formylglutathione hydrolase, of the dissimilatory pathway of methanol in *Candida boidinii*, *Biochim. Biophys. Acta*, **614**, 81–91.
60. Sakamoto, A., Ueda, M., and Morikawa, H. (2002) Arabidopsis glutathione-dependent formaldehyde dehydrogenase is an S-nitrosoglutathione reductase, *FEBS Lett.*, **515**, 20–24.
61. Smith, M. (1988) Molecular genetic studies on alcohol and aldehyde dehydrogenase: individual variation, gene mapping and analysis of regulation, *Biochem. Soc. Trans.*, **16**, 227–230.
62. Dolferus, R., Osterman, J.C., Peacock, W.J., and Dennis, E.S. (1997) Cloning of the *Arabidopsis* and rice formaldehyde dehydrogenase genes: implications of the origin of plant ADH enzymes, *Genetics*, **146**, 1131–1141.
63. Nakagawa, T., Ito, T., Fujimura, Sh., Chikui, M., Mizumura, T., Miyaji, T., Yurimoto, H., Kato, N., Sakai, Y., and Tomizuka, N. (2004) Molecular characterization of the glutathione-dependent formaldehyde dehydrogenase gene FLD1 from the methylotrophic yeast *methanolica*, *Yeast*, **21**, 445–453.
64. Wehner, E., Rao, E., and Brendel, M. (1993) Molecular structure and genetic regulation of SFA, a gene responsible for resistance to formaldehyde in *Saccharomyces cerevisiae*, and characterization of its protein product, *Mol. Gen. Genet.*, **237**, 351–358.
65. Barber, R.D., and Donohue, T.J. (1998) Pathways for transcriptional activation of a glutathione-dependent formaldehyde dehydrogenase gene, *J. Mol. Biol.*, **280**, 775–784.
66. Marchetti, P., Decaudin, D., Macho, A., Zamzami, N., Hirsch, T., Susin, S.A., and Kroemer, G. (1997) Redox regulation of apoptosis: impact of thiol oxidation status on mitochondrial function, *Eur. J. Immunol.*, **27**, 289–296.
67. Sen, C.K., and Packer, L. (1996) Antioxidant and redox regulation of gene transcription, *FASEB J.*, **10**, 709–720.
68. Soboh, B., Pinske, C., Kuhns, M., Waclawek, M., Ihling, C., Trchounian, K., Trchounian, A., Sinz, A., and Sawers, G. (2011) The respiratory molybdo-selenoprotein formate dehydrogenases of *Escherichia coli* have hydrogen: benzyl viologen oxidoreductase activity, *BMC Microbiol.*, **11**, 173–184.
69. Boyington, J.C., Gladyshev, V.N., Khangulov, S.V., Stadtman, T.C., and Sun, P.D. (1997) Crystal structure of formate dehydrogenase H: catalysis involving Mo, molybdopterin, selenocysteine, and an Fe₄S₄, *Cluster Science*, **275**, 1305–1308.
70. Abaibou, H., Giordano, G., and Mandrand-Berthelot, M.A. (1997) Suppression of *Escherichia coli* formate hydrogenlyase activity by trimethylamine N-oxide is due to drainage of the inducer formate, *Microbiology*, **143**, 2657–2664.
71. Distel, B., Veenhuis, M., and Tabak, H.F. (1987) Import of alcohol oxidase into peroxisomes of *Saccharomyces cerevisiae*, *EMBO J.*, **6**, 3111–3116.
72. van den Berg, M.A., and Steensma, H.Y. (1997) Expression cassettes for formaldehyde and fluoroacetate resistance, two dominant markers in *Saccharomyces cerevisiae*, *Yeast*, **13**, 551–561.
73. Janave, M.T., Ramaswami, N.K., and Nair, P.M. (1993) Purification and characterization of glyoxylate synthetase from greening potato-tuber chloroplasts, *Eur. J. Biochem.*, **214**, 889–896.
74. Halliwell, B. (1974) Oxidation of formate by peroxisomes and mitochondria from spinach leaves, *Biochem. J.*, **138**, 77–85.
75. Olson, B.J., Skavdahl, M., Ramberg, H., Osterman, J.C., and Markwell, J. (2000) Formate dehydrogenase in *Arabidopsis thaliana*: characterization and possible targeting to the chloroplast, *Plant Sci.*, **159**, 205–212.
76. Fukusaki, E., Ikeda, T., Shiraiishi, T., Nishikawa, T., and Kobayashi, A. (2000) Formate dehydrogenase gene of *Arabidopsis thaliana* is induced by formaldehyde and not by formic acid, *J. Biosci. Bioeng.*, **90**, 691–693.
77. Bykova, N.V., Stensballe, A., Egsgaard, H., Jensen, O.N., and Moller, I.M. (2003). Phosphorylation of formate dehydrogenase in potato tuber mitochondria, *J. Biol. Chem.*, **278**, 26021–26030.
78. David, P., Colas des Francs-Small, C., Seignac, M., Thareau, V., Macadre, C., Langin, T., and Geffroy, V. (2010) Three highly similar formate dehydrogenase genes located in a cluster of NBS-LRR are differentially

- expressed under biotic and abiotic stresses in *Phaseolus vulgaris*, *Theor. Appl. Genet.*, **121**, 87–103.
79. Ambard-Bretteville, F., Sorin, C., Rebeille, F., Hourton-Cabassa, C., and Colas des Francs-Small, C. (2003) Repression of formate dehydrogenase in *Solanum tuberosum* increases steady-state levels of formate and accelerates the accumulation of proline in response to osmotic stress, *Plant Mol. Biol.*, **52**, 26021–26030.
 80. Степанов С.С., Золотарева Е.К. (2013) Влияние метанола на содержание NAD(P)H, свободных аминокислот и протеина в клетках *Chlamydomonas reinhardtii*, *Укр. біохім. журн.*, **85**, 82–89.
 81. Szende, B., Tyihak, E., and Trezl, L. (2001) Role of arginine and its methylated derivatives in cancer biology and treatment, *Cancer Cell Int.*, **1**, 3–10.
 82. Hullan, L., Trezl, L., Szarvas, T., and Csiba, A. (1998) The hydrazine derivative aminoguanidine inhibits the reaction of tetrahydrofolic acid with hydroxymethylarginine biomolecule, *Acta Biol. Hung.*, **49**, 265–273.
 83. Tyihak, E., Trezl, L., and Rusznak, I. (1980) Spontaneous N ν -methylation of L-lysine by formaldehyde, *Pharmazie*, **35**, 18–20.
 84. Trezl, L., Hullan, L., Jaszay, Z.M., Szarvas, T., Petnehazy, I., Szende, B., Boci, J., Takats, Z., Vekey, K., and Toke, L. (2003) Antagonistic reactions of arginine and lysine against formaldehyde and their relation to cell proliferation, apoptosis, folate cycle and photosynthesis, *Mol. Cell. Biochem.*, **244**, 167–176.
 85. Mayer, B., and Werner, E.R. (1995) In search of a function for tetrahydrobiopterin in the biosynthesis of nitric oxide, *Naunyn Schmied. Arch. Pharmacol.*, **351**, 453–463.
 86. Alp, N.J., and Channon, K.M. (2004) Regulation of endothelial nitric oxide synthase by tetrahydrobiopterin in vascular disease, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **24**, 413–420.
 87. Biondi, R., Ambrosio, G., De Pascali, F., Tritto, I., Capodicasa, E., Druhan, L.J., Hemann, C., and Zweier, J.L. (2012) HPLC analysis of tetrahydrobiopterin and its pteridine derivatives using sequential electrochemical and fluorimetric detection: Application to tetrahydrobiopterin autoxidation and chemical oxidation, *Arch. Biochem. Biophys.*, **520**, 7–16.
 88. Kuo, L., and Hein, T.W. (2013) Vasomotor regulation of coronary microcirculation by oxidative stress: role of arginase, *Front. Immunol.*, **4**, 237–250.
 89. Crabtree, M.J., Brixey, R., Batchelor, H., Hale, A.B., and Channon, K.M. (2013) Integrated redox sensor and effector functions for tetrahydrobiopterin- and glutathionylation-dependent endothelial nitric-oxide synthase uncoupling, *J. Biol. Chem.*, **288**, 561–569.
 90. Wu, G., and Morris, S.M., Jr. (1998) Arginine metabolism: nitric oxide and beyond, *Biochem. J.*, **336**, 1–17.
 91. Bronte, V., and Zanovello, P. (2005) Regulation of immune responses by L-arginine metabolism, *Nat. Rev. Immunol.*, **5**, 641–654.
 92. Hecker, M., Nematollahi, H., Hey, C., Busse, R., and Racke, K. (1995) Inhibition of arginase by NG-hydroxy-L-arginine in alveolar macrophages: implications for the utilization of L-arginine for nitric oxide synthesis, *FEBS Lett.*, **359**, 251–254.
 93. Pervin, S., Singh, R., and Chaudhuri, G. (2008) Nitric oxide, N ω -hydroxy-L-arginine and breast cancer, *Nitric Oxide*, **19**, 103–106.
 94. Mohan, S., and Benson, C. (2014) Understanding the metabolic possibilities for L-arginine tolerance development, *Austin J. Nutr. Food Sci.*, **2**, 1015–1022.
 95. Vallance, P., Leone, A., Calver, A., Collier, J., and Moncada, S. (1992) Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure, *Lancet*, **339**, 572–575.
 96. Janssen, W., Pullamsetti, S.S., Cooke, J., Weissmann, N., Guenther, A., and Schermuly, R.T. (2013) The role of dimethylarginine dimethylaminohydrolase (DDAH) in pulmonary fibrosis, *J. Pathol.*, **229**, 242–249.
 97. Jones, W., Li, X., Qu, Z.C., Perriot, L., Whitesell, R.R., and May, J.M. (2002) Uptake, recycling, and antioxidant actions of α -lipoic acid in endothelial cells, *Free Radic. Biol. Med.*, **33**, 83–93.
 98. Poole, L.B., and Nelson, K.J. (2008) Discovering mechanisms of signaling-mediated cysteine oxidation, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **12**, 18–24.
 99. Russo, I., Del Mese, P., Doronzo, G., Mattiello, L., Viretto, M., Bosia, A., Anfossi, G., and Trovati, M. (2008) Resistance to the nitric oxide/cyclic guanosine 5'-monophosphate/protein kinase G pathway in vascular smooth muscle cells from the obese Zucker rat, a classical animal model of insulin resistance: role of oxidative stress, *Endocrinology*, **149**, 1480–1489.
 100. Roggenkamp, R., Sahm, H., Hinkelmann, W., and Wagner, F. (1975) Alcohol oxidase and catalase in peroxisomes of methanol-grown *Candida boidinii*, *Eur. J. Biochem.*, **59**, 231–236.
 101. Garner, C.D., Lee, E.W., Terzo, T.S., and Louis-Ferdinand, R.T. (1995) Role of retinal metabolism in methanol-induced retinal toxicity, *J. Toxicol. Environ. Health*, **44**, 43–56.
 102. Danpure, C.J., Purkiss, P., Jennings, P.R., and Watts, R.W. (1986) Mitochondrial damage and the subcellular distribution of 2-oxoglutarate: glyoxylate carboligase in normal human and rat liver and in the liver of a patient with primary hyperoxaluria type I, *Clin. Sci. (London)*, **70**, 417–423.
 103. Nemeria, N., Binshtein, E., Patel, H., Balakrishnan, A., Vered, I., Shaanan, B., Barak, Z., Chipman, D., and Jordan, F. (2012) Glyoxylate carboligase: a unique thiamin diphosphate-dependent enzyme that can cycle between the 4'-aminopyrimidinium and 1',4'-iminopyrimidine tautomeric forms in the absence of the conserved glutamate, *Biochemistry*, **51**, 7940–7952.
 104. Appling, D.R. (1991) Compartmentation of folate-mediated one-carbon metabolism in eukaryotes, *FASEB J.*, **5**, 2645–2651.
 105. Chiba, Y., Terada, T., Kameya, M., Shimizu, K., Arai, H., Ishii, M., and Igarashi, Y. (2012) Mechanism for folate-independent aldolase reaction catalyzed by serine hydroxymethyltransferase, *FEBS J.*, **279**, 504–514.
 106. Wilson, R.L., Steiert, P.S., and Stauffer, G.V. (1993) Positive regulation of the *Escherichia coli* glycine cleavage enzyme system, *J. Bacteriol.*, **175**, 902–904.
 107. Bonekamp, N.A., Islinger, M., Lazaro, M.G., and Schrader, M. (2013) Cytochemical detection of peroxisomes and mitochondria, *Methods Mol. Biol.*, **931**, 467–482.
 108. Fridovich, I. (1995) Superoxide radical and superoxide dismutases, *Annu. Rev. Biochem.*, **64**, 97–112.
 109. Santos, C.X., Tanaka, L.Y., Wosniak, J., and Laurindo, F.R. (2009) Mechanisms and implications of reactive oxygen species generation during the unfolded protein response: roles of endoplasmic reticulum oxidoreductases, mitochondrial electron transport, and NADPH oxidase, *Antioxid. Redox Signal.*, **11**, 2409–2427.
 110. Lee, J.W., and Helmann, J.D. (2006) Biochemical characterization of the structural Zn²⁺ site in the *Bacillus subtilis* peroxide sensor PerR, *J. Biol. Chem.*, **281**, 23567–23578.
 111. Lee, J.W., and Helmann, J.D. (2007) Functional specialization within the Fur family of metalloregulators, *Biometals*, **20**, 485–499.
 112. Lushchak, V.I. (2012) Glutathione homeostasis and functions: potential targets for medical interventions, *J. Amino Acids*, DOI: 10.1155/2012/736837.

113. Lu, S.C. (2009) Regulation of glutathione synthesis, *Mol. Asp. Medicine*, **30**, 42–59.
114. Matouskova, P., Bartikova, H., Bousova, I., Levorova, L., Szotakova, B., and Skalova, L. (2015) Drug-metabolizing and antioxidant enzymes in monosodium L-glutamate obese mice, *Drug Metab. Dispos.*, **43**, 258–265.
115. Mani, M., Khaghani, S., Gol Mohammadi, T., Zamani, Z., Azadmanesh, K., Meshkani, R., Pasalar, P., and Mostafavi, E. (2013) Activation of Nrf2-antioxidant response element mediated glutamate cysteine ligase expression in hepatoma cell line by homocysteine, *Hepat. Mon.*, **13**, e8394.
116. Nohl, H., and Gille, L. (1998) Evaluation of the antioxidant capacity of ubiquinol and dihydrolipoic acid, *Z. Naturforsch. C*, **53**, 250–253.
117. Hawkes, H.J., Karlenius, T.C., and Tonissen, K.F. (2014) Regulation of the human thioredoxin gene promoter and its key substrates: a study of functional and putative regulatory elements, *Biochim. Biophys. Acta*, **1840**, 303–314.
118. Sengupta, R., and Holmgren, A. (2012) The role of thioredoxin in the regulation of cellular processes by S-nitrosylation, *Biochim. Biophys. Acta*, **1820**, 689–700.
119. Sengupta, R., and Holmgren, A. (2013) Thioredoxin and thioredoxin reductase in relation to reversible S-nitrosylation, *Antioxid. Redox Signal.*, **18**, 259–269.
120. Lu, J., and Holmgren, A. (2014) The thioredoxin antioxidant system, *Free Radic. Biol. Med.*, **66**, 75–87.
121. Busse, E., Zimmer, G., Schopohl, B., and Kornhuber, B. (1992) Influence of alpha-lipoic acid on intracellular glutathione *in vitro* and *in vivo*, *Arzneimittelforschung*, **42**, 829–831.
122. Han, D., Handelman, G., Marcocci, L., Sen, C.K., Roy, S., Kobuchi, H., Tritschler, H.J., Flohe, L., and Packer, L. (1997) Lipoic acid increases *de novo* synthesis of cellular glutathione by improving cystine utilization, *Biofactors*, **6**, 321–338.
123. Cruz-Ramos, H., Crack, J., Wu, G., Hughes, M.N., Scott, C., Thomson, A.J., Green, J., and Poole, R.K. (2002) NO sensing by FNR: regulation of the *Escherichia coli* NO-detoxifying flavohaemoglobin, *Hmp.*, *EMBO J.*, **21**, 3235–3244.
124. Beckman, J.S., and Koppenol, W.H. (1996) Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly, *Am. J. Physiol.*, **271**, 1424–1437.
125. Gould, N., Doulias, P.-Th., Tenopoulou, M., Raju, K., and Ischiropoulos, H. (2013) Regulation of protein function and signaling by reversible cysteine S-nitrosylation, *J. Biol. Chem.*, **288**, 26473–26479.
126. Seth, D., Hausladen, A., Wang, Y.J., and Stamler, J.S. (2012) Endogenous protein S-nitrosylation in *E. coli*: regulation by OxyR, *Science*, **336**, 470–473.
127. Schrammel, A., Gorren, A.C., Schmidt, K., Pfeiffer, S., and Mayer, B. (2003) S-nitrosation of glutathione by nitric oxide, peroxynitrite, and NO/superoxide, *Free Radic. Biol. Med.*, **34**, 1078–1088.
128. Corpas, F.J., Alche, J.D., and Barroso, J.B. (2013) Current overview of S-nitrosoglutathione (GSNO) in higher plants, *Front. Plant Sci.*, **4**, 126–132.
129. Poole, L.B., Karplus, P.A., and Claiborne, A. (2004) Protein sulfenic acids in redox signaling, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **44**, 325–347.
130. Haqqani, A.S., Do, S.K., and Birnboim, H.C. (2003) The role of a formaldehyde dehydrogenase-glutathione pathway in protein S-nitrosation in mammalian cells, *Nitric Oxide*, **9**, 172–181.
131. Hou, Q., Jiang, H., Zhang, X., Guo, C., Huang, B., Wang, P., Wang, T., Wu, K., Li, J., Gong, Z., Du, L., Liu, Y., Liu, L., and Chen, C. (2011) Nitric oxide metabolism controlled by formaldehyde dehydrogenase (fdh, homolog of mammalian GSNOR) plays a crucial role in visual pattern memory in *Drosophila*, *Nitric Oxide*, **24**, 17–24.
132. Smith, B.C., and Marletta, M.A. (2012) Mechanisms of S-nitrosothiol formation and selectivity in nitric oxide signaling, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **16**, 498–506.
133. Kimura, H. (2010) Hydrogen sulfide: from brain to gut, *Antioxid. Redox Signal.*, **12**, 1111–1123.
134. Kimura, H. (2011) Hydrogen sulfide: its production, release and functions, *Amino Acids*, **41**, 113–121.
135. Tang, X.Q., Fan, H.R., Zhou, C.F., Zhuang, Y.Y., Zhang, P., Gu, H.F., and Hu, B. (2013) A novel mechanism of formaldehyde neurotoxicity: inhibition of hydrogen sulfide generation by promoting overproduction of nitric oxide, *PLoS One*, **8**, e54829.
136. Brigelius-Flohe, R., and Flohe, L. (2011) Basic principles and emerging concepts in the redox control of transcrip-

FOUR COMPONENTS OF CONJUGATED REDOX SYSTEM IN ORGANISM: CARBON, NITROGEN, SULFUR, OXYGEN

E. V. Tereshina, V. N. Laskavy, S. I. Ivanenko

Worldwide Medical Assistance, 6317 Switzerland, Oberwilb Zug, Fuchsloch 6A; E-mail: winterel@mail.ru

Received June 29, 2015

C1 compounds participate in various metabolic processes and regulations including DNA methylation. Formaldehyde (FA) is a product of the methyl group oxidation. It demonstrates a high cytotoxicity. There exist two pathways of its utilization in a cell: assimilation and oxidation. The oxidation is considered to be a detoxification. That is why FA cytotoxicity when the fixed level is elevated may be regarded as a witness of its major role in the biosystem functioning. A model of the three component conjugated redox system is proposed in which the methyl group oxidation pathway is a conservative archaic proton and electron donor, O₂ reduction serves as an acceptor and the arginine amine group is used for the production both urea and nitric oxide (donor and acceptor). Another main proton donors are the acetate oxidation in mitochondrion and the glucose degradation in the pentose phosphate pathway. Together they form a three level system. The whole redox system is united by the sulfhydryl groups of alpha-lipoic acid, glutathione and thioredoxin. The central regulations in the redox system are fulfilled by glutathione-dependent formaldehyde dehydrogenase that controls FA binding with the tetrahydrofolic acid, arginine methylation and denitrosation of the sulfhydryl groups. The conjugated redox system has been formed in the evolution as a unity of separate redox cycles of carbon, nitrogen, sulfur and oxygen.

Key words: redox system, formaldehyde, arginine, hydrogen peroxide, sulfhydryl groups, regulation