

ОБЗОРЫ

УДК 577.15: 577.17

©Кулинский, Колесниченко

СИСТЕМА ГЛУТАТИОНА I. СИНТЕЗ, ТРАНСПОРТ, ГЛУТАТИОНТРАНСФЕРАЗЫ, ГЛУТАТИОНПЕРОКСИДАЗЫ

В.И. Кулинский^{1}, Л.С. Колесниченко²*

Кафедры биохимии¹ и бионеорганической и биоорганической химии²
Иркутского государственного медицинского университета, 664047, Иркутск, а/я 85;
эл. почта: kulinsky@pp.irkutsk.ru

За последние 10-15 лет значительно углубились исследования системы глутатиона во всех основных направлениях. Открыт ряд новых ферментов метаболизма. Многие из них полифункциональны, выявляются их новые активности. Ферменты взаимодействуют с гормонами и сигнал-трансдукторными системами. Значительно продвинулось изучение внутриклеточного, межклеточного и межорганного транспорта. Важное достижение – использование для выявления новых функций не только селективных веществ-анализаторов, но и генноинженерных методов.

Ключевые слова: глутатион, ферменты метаболизма, регуляция.

ВВЕДЕНИЕ. Литература по системе глутатиона велика и неуклонно растет. В базе Pubmed с 1961 г. за 46 лет количество публикаций за один год возросло в 72 раза – с 71 до 5094 (по гормонам – всего в 5 раз). Это показывает высокую востребованность данного научного направления. Столетие открытия глутатиона (с 1888 г.) было отмечено международной монографией [1] – лучшим источником знаний по глутатиону в конце прошлого века. Русские статьи составляют всего 3,4% мировых, при этом за последние 26 лет их количество не возрастает (31-35 за год). В начале 90-ых годов был опубликован ряд небольших русских обзоров [2-8], но обзора всей проблемы ранее не было.

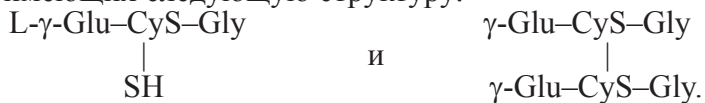
За последние 10-15 лет получено много новых и важных результатов. Цель настоящей работы – обобщение и анализ публикаций по системе глутатиона в целом на июль-август 2007 г.

Основные сокращения: АФК – активные формы кислорода, ГПО – глутатионпероксидаза, ГТ – глутатионтрансфераза, ГЦС – гамма-глутамилцистеинсинтетаза, ОС – оксидативный стресс, ПК – протеинкиназа, ПОЛ –перекисное окисление липидов, AP-1 – activator protein 1, ARE – antioxidant responsive element, MAPEG – membrane-associated proteins in eicosanoid and glutathione, NF-κB – nuclear factor kappa-B, Nrf2 – NF erythroid 2p45-related factor 2.

* - адресат для переписки

1. ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ.

Глутатион существует в двух основных формах: восстановленной GSH и окисленной GSSG, имеющих следующую структуру:



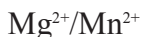
Молекулярные массы равны 307,33 и 612,63. Обе формы – белые кристаллические вещества, хорошо растворимые в воде, оптически активны. Константы pK_a для GSH равны: $\text{Glu-}\alpha\text{-NH}_2^+ - 9,5$, $\text{SH} - 9,2$, $\text{Gly-COOH} - 3,7$, $\text{Glu-}\alpha\text{-COOH} - 2,5$. Наиболее реактивной группой в молекуле GSH является SH, которая легко вступает в реакции одно- и двухэлектронного окисления, тиол-дисульфидного обмена, алкилирования и ацилирования. Окислительный потенциал GSH в растворе $E_s' = -240$ мВ, что меньше, чем у NAD(P)H (-315 мВ).

Важными метаболитами GSH являются его тиоэфиры/конъюгаты RSG. Система глутатиона включает эти три формы, ряд ферментов его синтеза и катаболизма и механизмы его меж- и внутриклеточного транспорта. Все эти компоненты вносят важный вклад в изменение глутатионового статуса.

В эволюции предшественником GSH был γ -глутамилцистеин, появившийся уже у архебактерий (галобактерий). GSH и глутатионредуктаза (ГР) есть у эубактерий – пурпурных и цианобактерий, что дало им большие преимущества для перехода к жизни в аэробной атмосфере. При эндосимбиозе они перенесли гены метаболизма GSH эукариотам. Из эукариот только у *E. histolytica* нет GSH и ГР. Глутаредоксин (ГРО)/тиолтрансфераза обнаружен у гало- и пурпурных бактерий, грибов и позвоночных, форматдегидрогеназа и глутатионтрансфераза (ГТ) – у нефототропных пурпурных бактерий и эукариот. Протеиндисульфидизомераза и селен-зависимая глутатионпероксидаза (ГПО) появились только у позвоночных. Для последней это объясняют появлением клеточных мембран с легкоокисляемыми полиненасыщенными жирными кислотами и холестерином [9].

2. СИНТЕЗ ГЛУТАТИОНА.

GSH синтезируется только в цитозоле всех клеток млекопитающих. Исключением не являются даже эритроциты, которые при созревании избавляются не только от всех субклеточных частиц, но и от подавляющего большинства метаболических процессов. Синтез GSH происходит в две реакции:



- 1) L-глутамат + L-цистеин + ATP \longrightarrow γ -глутамил-L-цистеин + ADP + P_i ,
- 2) γ -глутамил-L-цистеин + L-глицин + ATP \rightarrow GSH + ADP + P_i

Первая реакция катализируется γ -глутамилцистеинсинтетазой (ГЦС, она же лигаза –ГЦЛ), состоящей из тяжелой каталитической ($M_r \approx 73$ кДа) и легкой модуляторной ($M_r \approx 30$ кДа) субъединиц, кодируемых разными генами: *GCLC* и *GCLM* [10, 11]. В каждом из этих генов есть антиоксидант-/электрофил-респонсивный элемент (ARE), обеспечивающий их редокс-регуляцию [12, 13]. Модуляторная субъединица значительно снижает K_M для глутамата и для ингибирующего эффекта GSH. Это позволяет холоферменту быть каталитически более эффективным [12]. Регуляция ГЦС осуществляется двумя путями: 1) обратной связью – конкурентным ингибированием глутатионом, которое является неаллостерическим и вовлекает GSH в связывание с глутаматным сайтом фермента, 2) доступностью цистеина, физиологическая концентрация которого в клетке лишь 0,02-0,2 мМ (это соответствует его K_M), а глутамата примерно на 2 порядка выше. Более высокие концентрации цистеина токсичны, поэтому его избыток надежно метаболизируется цистеиндиоксигеназой, так как при дефиците цистеина этот фермент убиквитинируется и деградирует [12, 14, 15]. Вторую реакцию катализирует глутатионсинтетаза (ГС) с $M_r \approx 118$ кДа, состоящая, очевидно, из двух идентичных субъединиц. Опыты со сверхэкспрессией обоих ферментов показали, что скорость синтеза GSH лимитирует только ГЦС [16].

Недавно разработаны модели генетической недостаточности ферментов синтеза GSH [17]. Гепатоцит-специфичная делеция гена *GCLC* быстро истощает GSH, особенно в гиалоплазме, и затем стеатоз с повреждением митохондрий, воспалением, развитием оксидативного стресса, печеночной недостаточностью и смертью гепатоцитов в пределах месяца жизни. GSH необходим для функции печени [18]. Нокаут ГЦС вызывает смерть от апоптоза [19]. Синтезированный в цитозоле GSH транспортируется во все субклеточные компартменты.

Железо является прооксидантным фактором. При длительной адаптации к аккумуляции железа в нейронах происходит значительная стимуляция ГЦС и накопление GSH с увеличением количества выживающих клеток. Их восстановительный потенциал увеличивается от -290 до -320 мВ. Это расширяет представление о фундаментальной роли GSH в антиоксидантном ответе [20].

Цистеин поступает из пищи, при распаде белка, а в печени в основном из метионина (на 60-70%) по уникальному пути транссульфирования (цистатиониновый путь), отсутствующему или незначимому в других органах [12]. Цистеин преобладает в клетке, а цистин – во внеклеточной жидкости [21]. Восстановление последнего NADH-зависимой цистинредуктазой, α -липоатом, некоторыми витаминами и кверцетином увеличивает концентрацию GSH в печени и изолированных клетках. Введение S-аденозилметионина и липоата применяют для лечения дисфункции печени; липоат снижает малоновый диальдегид, активность миелопероксидазы и повреждение печени при ишемии/реперфузии [12, 21-23]. Подобные эффекты описаны и при инсульте головного мозга [24, 25]. В мозге старых крыс, в отличие от молодых, концентрации GSH снижаются, а продукты перекисного окисления липидов (ПОЛ) и 8-оксо-d-гуанозин накапливаются. Липоат корректирует эти сдвиги у старых, но слабо влияет на молодых крыс [26].

Голодание в течение 2 суток снижает концентрацию GSH в печени на треть или половину, кормление восстанавливает через несколько часов. При этом голод не изменяет активность ни ГЦС, ни ГС, актиномицин D и циклогексимида не влияют на эффекты голода и кормления. Это показывает сильную зависимость уровня GSH в печени от питания [27].

Выявлена активация ГЦС на уровнях транскрипции и трансляции (стабилизация мРНК и посттрансляционная модификация) [12]. H_2O_2 , гидропероксиды, хиноны, один из наиболее важных конечных метаболитов перекиса липидов высокотоксичный 4-гидрокси-2,3-ноненаль (активен при 0,3 мкМ) [28], ликопин и в меньшей степени β -каротин через ядерную транслокацию транскрипционного ядерного фактора *NF-erythroid 2p45-related factor 2* (Nrf2) и ARE или активаторным белком-1 (AP-1) индуцируют обе субъединицы ГЦС [12, 13, 29]. Нокаут по Nrf2 значительно снижает синтез обеих субъединиц ГЦС [30]. Деpletоры GSH бутионинсульфоксмин (БСО) и диэтилмалеат (ДЭМ) тоже увеличивают мРНК ГЦС. 3Н-1,2-дителиол-3-тион защищал от оксидативного стресса (ОС) гладкомышечные клетки аорты и в этих клетках и их митохондриях (МХ) заметно увеличивал концентрацию GSH и активность ГР, но не влиял на ГТ и ГПО. БСО, ингибитор синтеза GSH, предупреждал все эти эффекты [31]. Инсулин и глюкокортикоиды индуцируют транскрипцию тяжелой субъединицы, что подтверждено при сахарном диабете и адреналэктомии, но результаты не вполне однозначны [12]. Туморнекротизирующий фактор- α (ТНФ- α) и интерлейкин-1 β тоже стимулируют транскрипцию тяжелой субъединицы. В норме каталитической (тяжелой) субъединицы в 4 раза больше, чем модуляторной. Йодтиронины увеличивают синтез GSH в астроцитах дифференциальной стимуляцией регуляции мРНК обеих субъединиц. Гипертиреоз увеличивает, а гипотиреоз снижает активность ГЦС в головном мозге [32]. Стресс, глюкагон, фенилэфрин, дибутирил-cAMP, ПК А, ПК С и Ca^{2+} /кальмодулиновая ПК II фосфорилируют тяжелую субъединицу ГЦС и умеренно (на 20%) снижают её активность. В отличие от этого, легкая (модуляторная) субъединица не фосфорилируется [12].

3. КОНЦЕНТРАЦИЯ В ТКАНЯХ.

GSH содержится во всех тканях животных, растений, у одноклеточных эукариот и большинства прокариот [9, 33].

GSH – главный низкомолекулярный тиол, составляющий 90-95% этих веществ. Его больше всего в печени и хрусталике – 5-9 мкмоль/г; в почках, лейкоцитах, селезенке, адипоцитах, головном мозге, коже, эритроцитах, слизистой кишечника – 2-5 мкмоль/г; в сердце, легких, поджелудочной железе, сетчатке, мышцах и плаценте – 1-2 мкмоль/г; в желчи – 1-5 мкмоль/г; в плазме – от 2 до 25 нмоль/г, то есть на 2-3 порядка меньше, чем в клетках. Таким образом, во всех клетках GSH присутствует в миллимолярных концентрациях и только в плазме крови микромолярна. Концентрация GSSG (при его определении корректными методами – с использованием комплексонов и ковалентного связывания тиолов) в тканях не превышает 0,5-1% от GSH, но в желчи – 0,4 мкмоль/г [5]. В альвеолярной жидкости концентрация GSH в 100 раз больше, чем в плазме [34]. Высокий уровень GSH в дыхательном тракте описан и в других работах [28]. Очевидно это необходимо для защиты клеток от сильного и постоянного действия вдыхаемого O_2 , неизбежно образующего АФК.

В клетке основная масса GSH находится в цитозоле, в МХ – 9-15%. В остальных частях клетки его значительно меньше, особенно в микросомах.

4. ТРАНСПОРТ ГЛУТАТИОНА.

В иерархии различных вариантов транспорта GSH целесообразно различать три разных вида: внутриклеточный, межклеточный и межорганный. GSH синтезируется только в цитозоле, откуда он проникает в остальные компартменты клеток. GSH транспортируется из цитозоля через внутреннюю мембрану (M_i) в матрикс МХ, где он составляет 10-15% от клеточного, но при этом достигает столь же высокой концентрации (5-10 мМ в печени крысы), необходимой для защиты этих органелл. Обратного транспорта из МХ в цитозоль нет [35-37]. Истощение GSH ингибитором его синтеза БСО в цитозоле развивается намного быстрее, чем в МХ ($T_{0,5} = 2$ и 30 ч соответственно) [35, 36]. В печени и особенно в почках активны дикарбоксилатный и оксоглутаратный транспортеры, осуществляющие электронейтральный обмен GSH соответственно на фосфат и другие дикарбоксилаты (GSH – анион при физиологическом pH). В сердце и головном мозге экспрессируется оксоглутаратный транспортер [38, 39]. Однако тканевые особенности изучены недостаточно.

Дефицит GSH приводит к распространенному повреждению МХ, которое летально для несинтезирующих аскорбат новорожденных крыс и морских свинок. Эфиры GSH и аскорбат защищают от летального и других эффектов недостаточности GSH. Аскорбат и глутатион сберегают и увеличивают уровни друг друга. Они вместе функционируют в защите МХ от оксидативного стресса (ОС) [40].

Характерная особенность транспорта GSH в МХ гепатоцитов – зависимость от жидкостности мембран. При хроническом введении этанола холестерол откладывается в M_i и уменьшает ее жидкостность, что селективно снижает концентрацию GSH в МХ из-за нарушения транспорта из цитозоля в МХ. Это приводит к нарастающему повреждению печени [38]. Сверхэкспрессия Mn-супероксиддисмутазы (СОД) предупреждает истощение GSH МХ, что доказывает зависимость указанных событий от ОС. Введение N-ацетилцистеина увеличивает уровень GSH в цитозоле, но не МХ, а S-аденозилметионин (адеметионин) и тауродезоксихолат (тауро-ДОХ) восполняют митохондриальный уровень GSH. Это согласуется с использованием в клинической гепатологии адеметионина и урсо-ДОХ для лечебных целей [41]. Увеличение жидкостности МХ восстанавливает транспорт GSH. Введение этанола увеличивает гепатотоксичность и сенситизирует к ТНФ- α -индуцированной смерти клеток, а указанные препараты защищают от нее [38]. Гипоксия стимулирует генерацию активных форм кислорода (АФК) в гепатоцитах, истощает GSH как в цитозоле,

так и в МХ и увеличивает оксидативное повреждение, что предупреждается ингибиторами комплексов дыхательной цепи I и II. Селективное истощение GSH МХ (R,S)-3-ОН-4-пентеноатом при сохранении GSH цитозоля сенситизирует гепатоциты к гипоксии из-за увеличения АФК, а восстановление концентрации GSH его этиловым эфиром или блокада тока e^- в комплексах I и II спасает гепатоциты от такого же воздействия [42]. Таким образом, именно GSH МХ регулирует выживание при ОС.

Межклеточный транспорт лучше всего изучен в головном мозге. Астроциты, располагающие наиболее высокой концентрацией GSH из клеток головного мозга, транспортируют в нейроны глутамин и Цис-Гли, где они вначале гидролизуются до аминокислот, а затем расходуются на увеличенный синтез GSH. В результате астроциты увеличивают исходно низкую устойчивость нейронов и клеток сетчатки, а также олигодендроцитов и эндотелия к АФК. Максимальная толерантность астроцитов к ОС [43-45] и их важная роль в защите других клеток четко продемонстрирована на кокультурах клеток мозга [45].

Межорганный транспорт GSH, его конъюгатов и GSSG происходит из многих, если не всех клеток и органов [35]. Он осуществляется тремя группами белков: белками множественной лекарственной резистентности (*Multidrug Resistance Proteins*, MRP), полипептидами, транспортирующими органические анионы (OATP), и белками, связывающими Ral (RLIP76/RalBP-1). Первые включают члены семейства C из надсемейства АТФ-связывающих кассетных транспортеров (ABC) – MRP-1, -2, -4, -5 и трансмембранный регулятор проводимости (CFTR), отсутствующий при *цистифиброзе* [46-48]. CFTR – единственный апикальный транспортер в легких [49]. Эндогенный гормон оубаин модулирует MRP [50]. OATP не зависят от градиентов АТФ и Na^+ и используют отрицательный заряд GSH, способствующий его обмену на растворимые вещества [48]. Мультифункциональный RLIP76 известен как сигнальный белок, участвующий в стрессе и антиапоптозе. Его новая и эффективная функция – транспорт, в том числе меркаптуратов [51, 52]. Все 3 группы белков транспортируют через клеточные мембраны в биологические жидкости GSH, GSSG и GSR, а также многие и разнообразные как эндо-, так и ксенобиотики, например, противораковые лекарства (что сильно снижает их эффективность) и производные сульфонилмочевины [46-48]. Кроме того, GSH и его аналоги увеличивают MRP1-зависимый транспорт некоторых лекарств и конъюгированных органических анионов, хотя механизм этого эффекта неясен [47]. При апоптозе GSH резко освобождается из клеток с участием MRP1 и плазматической мембраны, что подтверждается ингибированием процесса пробенецидом и сульфинпиразином [53].

В печени GSH освобождается в основном через синусоидную мембрану и поступает в плазму крови со скоростью 12-15 нмоль/мин на 1 г печени. В норме экспорт GSH превосходит его метаболизм в печени. Поступление GSH в желчь медленнее в 3-4 раза. 20% синтезированного в печени глутатиона в виде GSSG активно выделяется через каналикулярную мембрану в желчь, где его концентрация намного выше, чем в печени [35]. В плазме крови циркулируют все 3 основные формы: GSH, GSSG и GSR. Основным, но не единственным источником глутатиона в крови является печень. В крови циркулирующий глутатион не метаболизируется, это происходит после его поступления в клетки. Захват глутатиона из крови на 85-90% осуществляют почки, он лимитируется только величиной почечного плазмотока [35]. Таким образом, межорганный обмен глутатиона в основном реализуется циклом печень – почки (рис. 1) [5]. Экспорт GSH может предупреждать его избыточное накопление в клетках, особенно при низкой активности катаболизма, и защищать SH-группы белков наружной поверхности плазматической мембраны от окисления или связывания. Это важно, так как GSH синтезируется только внутриклеточно. Кроме того, GSH – дополнительный источник входящих в него аминокислот, особенно цистеина.

СИСТЕМА ГЛУТАТИОНА

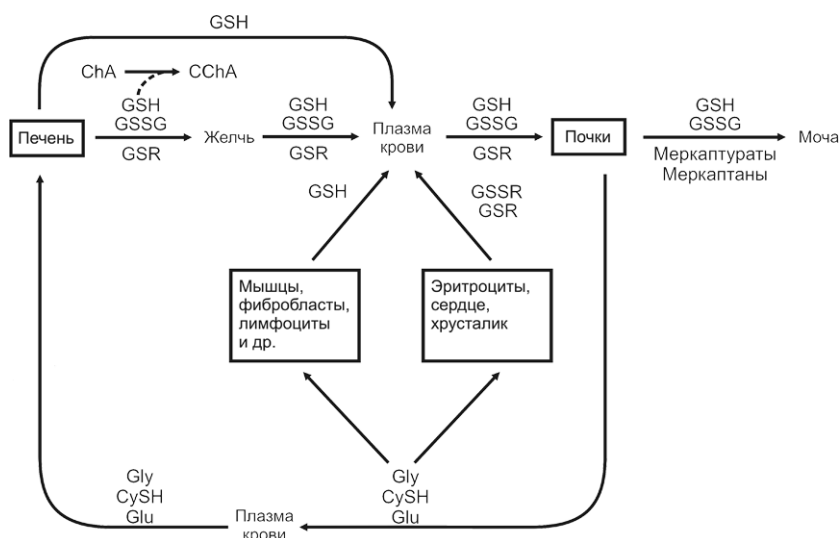


Рисунок 1.

Межорганный обмен GSH. Обозначения: ChA – желчные кислоты, CChA – конъюгаты желчных кислот.

5. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ФЕРМЕНТОВ МЕТАБОЛИЗМА.

Общая картина представлена на схеме (рис. 2). Целесообразно различать обратимые и необратимые реакции, иначе – восстановимые и невозможные потери [5, 33]. При первых происходит восстановление различных субстратов за счет GSH. Основные ферменты, реализующие эти реакции: ГПО (GPx) и ГТ (GST), восстанавливающие различные окисленные соединения; ГРО (Grx), передающие восстановительные эквиваленты от GSH; протеиндисульфидизомераза, изомеризующая тиолы и дисульфиды.

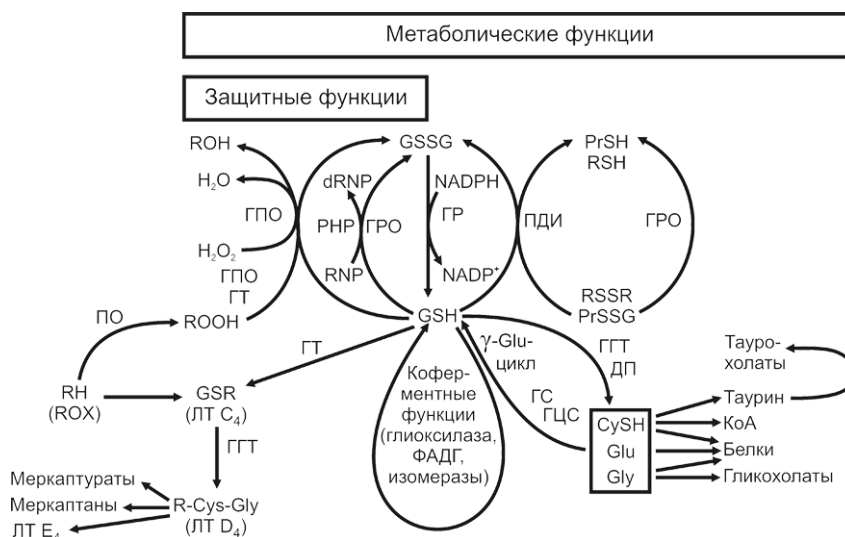


Рисунок 2.

Основные пути метаболизма GSH. Обозначения: Метаболиты: ROOH – органический гидропероксид, ROH – гидроксильный метаболит (спирт), RNP – рибонуклеотиддифосфат, dRNP – дезоксирибонуклеотиддифосфат, PrSSG – глутатионированный белок, RSSR – органический дисульфид, PrSH – тиольный белок, RSH – глутатион или другой низкомолекулярный тиол, ROX – частично окисленный метаболит, GSR – конъюгат GSH (включая лейкотриен C₄), R-Cys-Gly – конъюгат цистеинилглицина (включая ЛТ D₄). ПО – пероксидация.

Ферменты: RNP – рибонуклеотидредуктаза, ГРО – глутаредоксин, ПДИ – протеиндисульфидизомераза, ФАДГ – формальдегиддегидрогеназа, ДП – дипептидаза. Основные сокращения (см. с. 1) не дублируются.

Невосстановимые потери – превращение GSH ферментами ГТ и ГГТ в метаболиты, из которых его нельзя регенерировать, поэтому поддержание пула GSH возможно только путем его синтеза *de novo*. S-ацилы GSH возникают только как промежуточные метаболиты в немногих реакциях, например, в формальдегиддегидрогеназной [54] и глиоксилазной [55].

Период полуобновления GSH $T_{0,5}$ в плазме крови равен 2 мин, в почках 30-50 мин, в печени, слизистой кишечника и макрофагах 2-3 ч, в головном мозге, эритроцитах, селезенке, легких 2-4 суток, в хрусталике глаза 2-8 суток [5].

6. ГЛУТАТИОНТРАНСФЕРАЗЫ.

ГТ – универсальные ферменты, функционирующие у всех живых существ от некоторых эубактерий до человека. В последнее время изучены трёхмерные структуры ГТ и родственных им белков, выполняющих иные функции: глутаредоксины, дегидроаскорбатредуктазы, внутриклеточные хлоридные каналы, глутатионпероксидазы, эукариотические факторы элонгации (eEFТB γ) [9, 56-58]. У млекопитающих ГТ обнаружены во всех типах клеток, они распространены шире, чем цитохром Р-450, глюкуронил- и сульфотрансферазы.

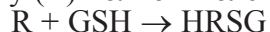
Изоформы и их свойства.

ГТ млекопитающих включают 3 основных семейства: цитозольное, митохондриальное и микросомальное, в два первых входят растворимые формы.

Цитозольные ГТ (цГТ) – самое большое семейство. Это димеры с субъединицами из 199-244 аминокислотных остатков (а.о.). На основе аминокислотных последовательностей у млекопитающих выделяют 7 классов: *Alpha* (α или А), *Mu* (μ или М), *Pi* (π или Р), *Sigma* (σ или S), *Theta* (θ или Т), *Omega* (ω или О) и *Zeta* (ζ или Z). Только первые три специфичны для млекопитающих, остальные четыре (из пяти) есть и у насекомых. 6 классов обнаружено у растений, у бактерий – фосфомициновое семейство. У млекопитающих в эти классы входят 16-18 изоформ, в том числе по пять в классах α и μ . Все эти формы кодируются разными генами. Все ГТ млекопитающих являются димерами, α - и μ -ГТ – гетеро-, остальные – гомодимеры [56-58]. Некоторые α -ГТ ассоциированы с мембранами [59].

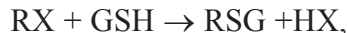
цГТ катализируют нуклеофильную атаку GSH на неполярные вещества, которые содержат электрофильный углерод, азот или серу. Огромное множество реакций, осуществляемых ГТ, можно разделить на 4 основных типа [3].

1. Присоединение к субстрату (R) полной молекулы GSH:



Так протекают реакции GSH с алкенами, особенно α , β -ненасыщенными карбонилами, например, с 4-гидроксиалк-2-енальми, ДЭМ и эпоксидами (например, эпоксидами бенз(а)пирена и холестерина), при этом кольцо эпоксида разрывается.

2. Нуклеофильное замещение:



где уходящая группа представлена X^- , Hal^- , NO_2^- , HSO_4^- , RO^- , RS^- , CN^- . Эта реакция протекает по электрофильному атому С (1-хлор-2,4-динитробензол, ХДНБ), N (тринитроглицерин), S (незаряженные дисульфиды типа 5,5'-дитио-бис-2-нитробензоата, ДТНБ), Р (метилпаратион).

3. Восстановление органических гидро- и эндопероксидов до спиртов:



Это характерно для восстановления различных гидропероксидов (ROOH) ПНЖК, фосфолипидов и простагландина (ПГ) H_2 в $F_{2\alpha}$, но на H_2O_2 ГТ не действует. Восстановление происходит и во многих реакциях первого и второго типов, например, с эпоксидами, нитратными эфирами и дисульфидами.

4. Изомеризация (например, стероидов; ПГ H_2 в ПГ D). Очевидно, механизм реакции включает промежуточное присоединение GSH.

В большинстве реакций первых двух типов образуются тиоэфиры GSR (конъюгаты глутатиона). При тиолизе образуются сложные тиоэфиры, при реакциях с электрофильной серой – смешанные дисульфиды. В реакциях третьего типа появляется окисленный глутатион GSSG. В реакциях четвертого типа GSH не тратится и работает как кофермент. ГТ катализируют ряд реакций, характерных для других ферментов: восстанавливают ROOH как ГПО, изомеризуют или образуют сложные эфиры как ферменты, использующие GSH в качестве кофермента (ПГ Е-изомеразы, формальдегиддегидрогеназа, глиоксалаза I). Разные формы ГТ отличаются по локализации и преимущественному метаболизму эндо- и ксенобиотиков [58, 60]. α -, μ - и π -ГТ наиболее многофункциональны: только они являются GSH-трансферазами, пероксидазами, изомеразами и сигнальными белками [57-58, 61]. α -ГТ экспрессируются во многих тканях, а в плазме используются как маркеры экспрессии и индукции в печени, а в патологии – для диагностики степени ее поражения [62]. Они детоксифицируют многие ксенобиотики, включая продукты курения, обладают глутатионпероксидазной активностью к ROOH жирных кислот и фосфолипидов, изомеризуют стероиды и высоко активны с 4-гидроксинonenалем. Последний участвует в механизме стрессовой сигнализации, которая модулируется этими ферментами. В основном он метаболизируется ГТ [58, 63, 64]. α -ГТ вовлечены в развитие таких болезней, как рак, астма, сердечно-сосудистая патология [60]. μ -ГТ специфически экспрессируются в скелетных и сердечной мышцах, регулируют рианодинный рецептор Ca^{2+} -каналов и консервируют запасы Ca^{2+} в саркоплазматическом ретикулеуме [65]. π -ГТ – единственный класс ГТ, экспрессируемый в чёрном веществе мозга и возможно участвующий в патогенезе паркинсонизма [66]. Класс π активен в глутатионировании белков, участвует в канцерогенезе, резистентности к антираковым лекарствам, старении и нейродегенерации и регулирует сигнальные киназы [67]. σ -, θ - и ζ -ГТ выполняют основные три функции частично, но σ -ГТ участвует в синтезе простагландинов, ζ -ГТ катаболизирует фенилаланин и тирозин и включается в образовании глиоксилата, а ω -ГТ модулирует ионные каналы, обладает дегидроаскорбатредуктазной активностью и восстанавливает ГРО и некоторые дисульфиды [58, 68, 69]. Таким образом, основные, но далеко не единственные функции цГТ – катализ конъюгации, восстановления и изомеризации [3, 57].

Митохондриальная ГТ – единственный класс *kapra* (кГТ), тоже димер с субъединицами из 226 а.о. Она высоко активна с арилгалидами типа ХДНБ и может восстанавливать гидропероксид кумола и (S)-15-гидроперокси-5,8,11,13-эйкозотетраеновую кислоту. В цитозоле фермент отсутствует, но есть в пероксисомах. У мыши кГТ высоко активна в печени, почках, желудке и сердце, у человека экспрессируется широко и единообразно [70]. кГТ топологически подобна бактериальным дисульфидизомеразам, что предполагает эволюцию, независимую от цГТ [56].

Ферменты MAPEG (ранее микросомальное семейство) – мембрана-ассоциированные белки в метаболизме эйкозаноидов и глутатиона (MAPEG) – включают 4 субгруппы, 6 белков человека находятся в трёх из них. MGST1 детоксифицирует ксенобиотики, в том числе ХДНБ, и обладает антипероксидазной и изомеразной активностью [58, 71-73]. MGST2 и 3, кроме этого, синтезируют лейкотриен C_4 (LTC_4) и (S)-5-гидроперокси-5,8,11,14-цис-6-транс-эйкозотетраеновую кислоту. Функции LTC_4 -синтазы и ПГ E_2 -синтазы 1 заключаются в синтезе соответственно LTC_4 (из LTA_4 и GSH) и PGE_2 из PGH_2 . Белок, активирующий 5-липоксигеназу (FLAP, от англ. 5-lipoxygenase activating protein) – не фермент, он связывает арахидонат и увеличивает активность 5-липоксигеназы [47, 74-77]. MGST входят в протеомы двух компартментов: эндоклеточного ретикулула (ЭР) и пероксисом и совмещают те же основные активности, что и α -, μ - и π -ГТ [58, 78]. Эти ферменты играют очень важную роль в воспалительных процессах.

Все 3 семейства ГТ содержат члены, катализирующие конъюгацию GSH с ХДНБ и обладающие ГПО-активностью с куменгидропероксидом. цГТ и МАРЕГ катализируют реакции метаболизма различных ненасыщенных веществ и вовлечены в синтез ПГ и ЛТ [57].

Все семейства имеют гомологов у про- и эукариотов и функционируют уже более двух миллиардов лет [79]. Установлено существование альтернативных сплайсинг-форм ГТ, отличающихся как по каталитическим свойствам, так и белок-белковым взаимодействиям [80].

Основные функции и значение глутатионтрансфераз.

цГТ детоксифицируют во всех клетках, но особенно в печени множество электрофильных ксенобиотиков почти всех классов: алкены, арены, аралкены, галогеновые и кислородные соединения, производные серы, азота и фосфора. Эти соединения представляют собой различные токсические вещества: канцерогены, мутагены, цитостатики, поллютанты, пестициды, краски и лекарства, включая противораковые. ГТ обезвреживает и некоторые продукты I фазы детоксификации: метаболиты полициклических ароматических углеводородов (бенз(а)пирен → диолоэпоксид), галогенпроизводных (хлороформ и CCl_4 → фосген). Конъюгаты ксенобиотиков с GSH менее реактивны и более гидрофильны, чем исходные вещества, и поэтому менее токсичны и легче выводятся из организма [3, 4, 81, 82]. Растворимые тиоэфиры поступают в плазму и либо прямо выводятся почками, либо в несколько реакций превращаются в меркаптуровые кислоты (см. далее). Из печени гидрофобные конъюгаты, как и GSSG, выделяются в желчь и затем через кишечник с калом (рис. 3). ГТ участвует в снижении риска развития раков толстой кишки и печени у любителей кофе [83]. Кроме того, цГТ осуществляют необычную для других ферментов функцию (лигандинов): на границе двух субъединиц нековалентно связывают разные гидрофобные вещества и даже сильные электрофилы, которые затем постепенно инактивируются и выводятся [57]. В результате ГТ предохраняет ДНК, МХ и другие компартменты клетки, увеличивают устойчивость клетки и организма [3, 57, 81]. В 60-80 годы считали, что метаболизм ксенобиотиков – основная функция ГТ [2, 84] или даже утверждали, что у ГТ нет эндогенных субстратов [84]. Однако метаболизм ксенобиотиков становится все более значительным по мере загрязнения внешней среды, особенно с XX века, но в естественных условиях он обычно невелик.

Большое значение ГТ в метаболизме эндогенных веществ было признано позднее [4]. В последнее время это стало общепризнанным [57]. цГТ вовлечены в биосинтез ЛТ, ПГ, тестостерона, прогестерона и в деградацию тирозина (изомеризация малеилацетоацетата в фумарилацетоацетат) [57, 77]. Эволюционно наиболее ранняя (уже у прокариот [9]), универсальная и важная сфера активности цГТ – двойная роль в защите от ОС: восстановление АФК (кроме H_2O_2) и органических ROOH ПНЖК, фосфолипидов, белков, нуклеотидов и нуклеиновых кислот и конъюгирование с GSH вторичных метаболитов ОС – альдегидов (включая сигнальную молекулу 4-гидроксиноненаль), хинонов, эпоксидов в результате реализации реакций первого-третьего типов [57, 63, 64, 85-87] (см. раздел ГПО). ГТ конъюгируют и 15'-дезоксид- $\Delta^{12,14}$ - ПГ J_2 (15d-PGJ₂) и соответственно ингибируют ОС, апоптоз и экспрессию генов, транс-стимулированных рецептором- γ , активируемым пероксисомным пролифератором (PPAR- γ) и Nrf2 [57]. Через метаболизм 15d-PGJ₂ ГТ могут стимулировать экспрессию генов, связанных как с воспалительными ядерным фактором каппа-В (NF- κ B) и AP1, так и антиоксидативным, противовоспалительным и цитопротекторным Nrf2 [88]. Ясно, что Nrf2 идеально подходит для передачи сигналов от ГТ, так как совпадают две основные функции обеих молекул – обезвреживание как ксенобиотиков, так и АФК. Теперь очевидно, что первичная функция ГТ – участие в метаболизме эндогенных веществ. Обнаружено, что 10% цитозольного пула α -ГТ электростатически ассоциировано с внешней мембраной ядра и столько же в ядре. Это может защищать ДНК от повреждения [89].

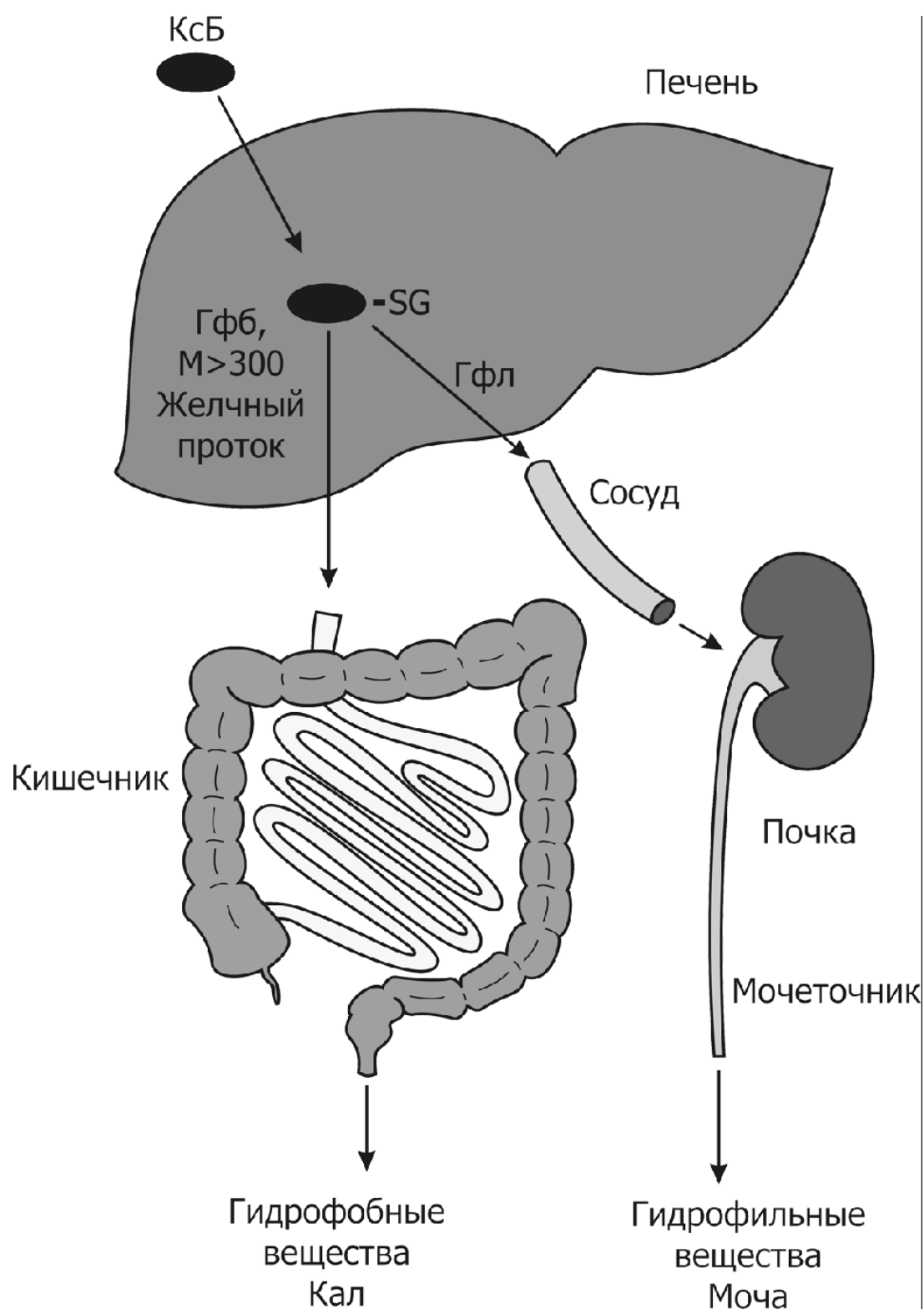


Рисунок 3.

Пути выведения из организма метаболитов GSH.

Обозначения: КсБ – ксенобиотик, ●SG – конъюгат GSH, Гфб – гидрофобное вещество, Гфл – гидрофильное вещество.

ГТ цитозоля активируются *in vivo* стрессом, введением норадреналина и адреналина и *in vitro* сАМР и ПК А, последняя фосфорилирует ГТ [90, 91]. Это подтверждено и на МХ [59]. Ca^{2+} тоже активирует ГТ [91]. цГТ модулируют ряд сигнальных путей. В метаболизме арахидоната они образуют из ПГ $\text{H}_2 \rightarrow$ ПГ D_2 , из 15d-ПГ $\text{J}_2 \rightarrow$ конъюгат с GSH. 15d-ПГ J_2 активирует экспрессию PPAR- γ и Nrf2-зависимых генов и ингибирует NF- κ B-зависимую экспрессию генов [57]. Классы μ - и π -ГТ защищают от апоптоза, ингибируя две ПК: регулируемую сигналом апоптоза (Ask 1) и Jun N-терминальную (JNK) [92]. Некоторые ГТ обладают некаталитическими лиганд-связывающими свойствами, важными для регуляции митоген-активируемых ПК (МАПК) и облегчающими присоединение GSH к цистеиновому остатку в белках (S-глутатионирование) [93, 94]. В регуляции гена ГТ участвуют сигнальные сети трех киназ: фосфоинозитид3-киназы (PI3-K), RSK и мишени рапамицина млекопитающих (mTOR) [95]. Белок G α (12), связывающий и стимулирующий протеинфосфатазу PP2A, в 3-4 раза активирует ГТ [96]. цГТ метаболизируют много эндо- и ксенобиотиков, которые стимулируют экспрессию батареи ARE-генов. Они негативно регулируют Nrf2, защищая его ингибитор Keap 1 (цитозольный актин-связывающий белок) от модификации и дестабилизации. Следовательно, ГТ непрямо контролирует уровень антиоксидантов и метаболизирующих ферментов, которые регулируют Keap 1/Nrf2 путь [57, 97, 98]. ГТ также негативно регулирует шапероны, убиквитин-протеасомные компоненты, белки воспаления и апоптоза [99, 100]. Интерлейкин-1 β репрессирует ГТ A1 через вариантный печеночный ядерный фактор С [101]. Это взаимодействие ферментов и сигнал-трансдукторных систем открывает новые горизонты не только в исследовании системы GSH, но и в других разделах биохимии.

Изучение полиморфизма ГТ чаще выявляет слабый или умеренный эффект классов μ , π и θ на канцерогенез, но потеря этих генов увеличивает подверженность воспалительным заболеваниям [102]. В то же время высокий уровень π -ГТ в солидных опухолях ассоциирован с их злокачественностью. Разработано активируемое ГТ противораковое лекарство TLK-86, которое проходит уже III-фазу клинических испытаний [103]. Нокаут генов разных цГТ вызывает экспрессию остающихся ГТ [104], поэтому хотя концентрация 4-гидроксиноненаля, малондальдегида [105] и метаболитов тирозина увеличивается, летальный генотип не возникает. Нокаут некоторых генов ГТ вызывает относительную аккумуляцию 15d-ПГ J_2 и конститутивное увеличение экспрессии PPAR γ -зависимых генов и снижение экспрессии NF- κ B-зависимых генов. Нокаут генов MAPEG подтвердил их важную роль в воспалительных и аллергических реакциях [57].

кГТ защищает МХ, но конкретные механизмы остаются еще неясными.

Функции MAPEG – это участие в метаболизме лейкотриенов и простаноидов в GSH-зависимых реакциях [57].

В исследованиях ГТ быстро прогрессирует использование геномных и биоинженерных методов [56-58, 106], подчеркнутое в названии последнего обзора – “Глутатионтрансферазы в геномную эру”. Все большую роль играют “омики” [58].

7. ГЛУТАТИОНПЕРОКСИДАЗЫ.

ГПО – эволюционно молодые ферменты, появление которых стало важным преимуществом для позвоночных и привело к превращению Se из обычного элемента в биоэлемент. Отсутствие ГПО у трипаносом и малярийного плазмодия способствует их высокой чувствительности к проксидантам [7, 9, 107].

Изоформы и их свойства.

В настоящее время описаны 7 белков с глутатионпероксидазной активностью, из них 4 классических фермента ГПО1-4. В меньшей степени изучены и идентифицированы ГПО5-ГПО7 [108]. Наличие семи ГПО остается спорным. Так, отмечено наличие в селенопротеоме млекопитающих ГПО1-4, а у человека и ГПО6, но только в обонятельной системе [109].

Давно известно, что ГПО катализируют реакции: $2\text{GSH} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{GSSG} + 2\text{H}_2\text{O}$ и $2\text{GSH} + \text{ROOH} \rightarrow \text{GSSG} + \text{ROH} + \text{H}_2\text{O}$.

В этих реакциях GSH восстанавливает H_2O_2 и органические ROOH до воды или гидроксипроизводных и в результате переходит в окисленную дисульфидную форму GSSG. Теперь ясно, что разные ГПО выполняют различные функции (см. ниже). В основных членах семейства GPx есть селен в форме селеноцистеина (Sec), содержащего SeH вместо SH и образуемого из серина и селенофосфата – продукта селенофосфатсинтетазы. Во всех селенопротеинах (SelP) Sec кодируется UGA (общеизвестна другая функция этого триплета – терминация трансляции). В селенопротеинах высших эукариот Sec-вставленная последовательность (*Sec insertion sequence*, SECIS), имеющая два существенных цис-действующих элемента, рекрутирует Sec-тРНК^{Sec} и Sec включается котрансляционно в положение, специфичное для кодона UGA в селенопротеинах ГПО1, ГПО 4, SelP и тиоредоксинредуктазе [110, 111]. Для этого также необходимы и белковые факторы: элонгационный фактор EFSec и SECIS-связывающий белок 2 (SBP-2) [112]. Транскрипция ГПО1 не изменяется селеновым статусом, но дефицит Se снижает активность мРНК ГПО в печени в 10 и более раз. Эта регуляция осуществляется стабильностью мРНК. Добавление Se эффективно (до 20 раз) восстанавливает трансляцию ГПО1. На долю ГПО1 приходится до 75% общего Se в печени. Очевидно, ГПО1 служит селеновым буфером или запасом [110]. Оценка значения ГПО1 в организме возрастет еще больше, если учесть, что в геноме человека есть 25 генов, кодирующих соответственно 30 селенопротеинов (за счёт альтернативного сплайсинга) [113, 114]. Все это подтверждает, что мРНК ГПО1 является значительно преобладающей селенопротеиновой мРНК в печени крысы [110]. Обнаружена и неселеновая метаболическая регуляция ГПО1 – гена, белка и активности аденозином, тирозинкиназами Abl и Arg. [115].

Циркулирующий в плазме SelP P, переносящий значительную часть Se, стимулирует экспрессию и увеличивает активность ГПО1 и тиоредоксинредуктазы. Очевидно, SelP P восполняет запасы Se в этих ферментах [116]. Недавно открыт SelP H – 14 кДа ДНК-связывающий нуклеолярный белок со значимой глутатионпероксидазной активностью. Его сверхэкспрессия индуцирует синтез GSH, ГПО и ГТ [117, 118].

Суточная потребность человека в Se – 50-200 мкг. Дефицит Se снижает активность ГПО во всех клетках и плазме крови, но степень снижения уменьшается в ряду: печень, сетчатка и хрусталик > сердце > легкие > семенники > почки и головной мозг [119]. Полное восстановление ГПО происходит через 14-60 суток и более [120]. Близкие к ГПО1 данные получены для ГПО3, а ГПО2, ГПО4 и другие селенопротеины более резистентны к модуляции селеном [121].

ГПО1, или классическая /клеточная/цитозольная ГПО (кГПО, cGPx), открыта первой, 2007 г. – год ее 50-летнего юбилея. Она состоит из 4 субъединиц по 21,9 кДа из 201 а.о., экспрессируется во всех тканях, в цитозоле 70%, в МХ – 20-30%. Ключевую роль в катализе играет Sec, который последовательно переходит из восстановленной селенольной формы ESe⁻ (E – энзим) в окисленную селеноновую форму ESeOH, затем в смешанный селеносульфид с глутатионом ESeSG и наконец снова в ESe⁻. Очевидно, что окисленный и восстановленный субстраты в активном центре ГПО не встречаются, а связываются последовательно [122]. Специфичность ГПО к донорному восстановленному субстрату ниже, чем у большинства глутатионзависимых ферментов, однако единственным реальным тиоловым субстратом является GSH ввиду его резкого преобладания в клетке. Специфичность к акцепторному окисленному субстрату чрезвычайно широка: H_2O_2 , почти все алифатические и циклические органические перекиси (ROOH), (например, *t*-бутила и кумола), полиненасыщенные жирные кислоты, ряд стероидов, ПГ F_{2α} и G₂. Исключениями являются перекиси липидов и холестерин-25-ООН. ГПО1 функционирует как в цитозоле, так и в МХ [123].

Из 6 генов важных селенопротеинов, включая ГПО1-4, только ген ГПО1 подвергается позитивному отбору в 4 больших этнических азиатских популяциях [124]. Это может свидетельствовать о полезности данного гена. В селенодефицитных районах Финляндии, Прибалтики, США, Китая, Читинской области, Тувы и др. описаны болезнь Кешана (кардиомиопатия, при которой Se дает хороший лечебный эффект), учащение злокачественных опухолей, снижение роста тела и плодовитости, мышечная дистрофия, повреждение стенки сосудов. Не исключено, что некоторые явления обусловлены дефицитом не ГПО, а других Se-протеинов.

ГПО2, или желудочно-кишечная ГПО (жкГПО, giGPx), открыта в 1993 г. [125], 4 субъединицы по 21,9 кДа из 190 а.о. Она ближе других к ГПО1 по цитозольной локализации, 65% идентичности аминокислотной последовательности, подобной субстратной специфичности и значению для функции слизистой кишечника. Однако ГПО2 отличается от других ГПО участием Nrf2 – ARE в её регуляции [109, 126]. Она важна для роста и дифференциации эпителиальных клеток. ГПО2 у крыс в основном локализована в эпителии желудочно-кишечного тракта и молочной железе, у человека – в печени и толстой кишке, особенно в криптах [121, 124, 127]. Удельная активность ГПО2 в 3 раза меньше, чем ГПО1. Обнаружена изоформа ГПО2 легких, избирательно индуцируемая курением сигарет и регулируемая Nrf2. Его активация в результате нокаута Keap1 (ингибитора Nrf2) или действия малой ингибиторной РНК (миРНК) увеличивает экспрессию ГПО2; миРНК снижает экспрессию Nrf2 [128].

ГПО3, или плазматическая/экстраклеточная ГПО (пГПО/эГПО, pGPx/eGPx), открыта в 1990 г [129], 4 субъединицы по 25,5 кДа из 226 а.о. Это гликопротеин с 40-50% гомологией с ГПО1 человека. Она преобладает в почках, особенно в эпителии проксимальных канальцев, но обнаружена во многих органах, молоке, амниотической и альвеолярной жидкостях [130]. Для активности ГПО3 нужна миллимолярная концентрации GSH, а его концентрация в плазме не превышает 25 мкМ. Поэтому ГПО3 вначале рассматривали как белок без физиологической функции. Однако оказалось, что системы тиоредоксина или ГРО действуют как донаторы электронов для ГПО3 при концентрациях, присутствующих в плазме [131]. ГПО3 восстанавливает H_2O_2 и органические пероксиды, кроме холестериновых [121, 132]. Активность этого фермента ниже, чем других ГПО, по сравнению с ГПО1 – в 10 раз [33]. Гипоксия – сильный транскрипционный регулятор ГПО3, частично через гипоксию-индуцирующий фактор-1. Трансляционный кофактор tRHKSec и селенофосфатсинтетаза D увеличивают экспрессию ГПО3 [133]. При диабетическом гломерулосклерозе и хронической почечной недостаточности с гломерулосклерозом концентрация ГПО в плазме, моче и гломерулах значительно снижается [134, 135]. Воспаление кишечника увеличивает мРНК ГПО3 в почках и ГПО3 в плазме [136].

ГПО4, или фосфолипидгидропероксидГПО (фгГПО, PHGPx), открыта в 1982 г, 1 субъединица 22,1 кДа из 197 а.о., преобладает в яйцках. Она очень значительно отличается от других ГПО: 1) это не тетрамер, а мономер [137], экспрессируемый при участии альтернативного сплайсинга [113, 114]; 2) ГПО4 богата остатками гидрофобных аминокислот и поэтому легко взаимодействует с мембранами [138] и наполовину находится в них (47% общей активности фермента найдено в мембранной фракции, 29% в МХ и только 23% в цитозоле) [139]; 3) это единственная ГПО, для которой гидропероксиды фосфолипидов (LOOH) и липопротеинов являются субстратами [138, 140]; 4) только она, кроме H_2O_2 и ROOH, восстанавливает широкий ряд липидных гидропероксидов, включая производные холестерина и его эфиров [141], и гидропероксид тимина [142]; 5) в отличие от ГПО1-2, ГПО4 использует ряд восстановленных субстратов в дополнение к GSH [143]; 6) ГПО4 экспрессируется во всех тканях и клетках, активна в головном

мозге, но особенно доминирует в яичках (см. ниже) [109, 127]; 7) гомозиготный нокаут ГПО4 (но не ГПО1 или ГПО2) летален в эмбриогенезе, а трансгенот ГПО4 человека спасает мышат [138]. У трансгенных мышей сверхэкспрессия ГПО4 повышает уровень мРНК и белка ГПО4 во всех исследованных тканях, но не изменяет активность ГПО1, каталазы, Cu/Zn-СОД и Mn-СОД [138]. Жизненная необходимость ГПО4 и независимость ее функционирования придают ей особое значение. Замена селеноцистеина на цистеин так же драматично, как у других изоформ, снижает активность. Существуют 2 формы ГПО4: короткая (20 кДа), высоко экспрессируемая в ядре, ядрышке, ретикулуме и цитозоле, и длинная (23 кДа), обладающая сигнальным пептидом и транспортируемая за счёт мембранного потенциала в МХ, где она укорачивается до тех же 20 кДа. Есть 3 изоформы: цитозольная, митохондриальная и ядерная. Они отличаются не только локализацией в клетке, но и выполняемыми функциями (см. далее) [144, 145]. В головном мозге две первые изоформы локализованы в нейронах, а в глии они отсутствуют [145].

ГПО5, секреторная ГПО (сГПО), открыта в 1998 г., 1 субъединица, 256 кДа, 221 а.о., экспрессируется и секретируется в эпидидимусе млекопитающих как Se-независимый мономер, ассоциированный с плазматической мембраной спермы. Она структурно сходна с ГПО1. Авторы предполагали её участие в предупреждении преждевременной акросомной реакции и/или в защите мембран сперматозоидов от перекисного окисления липидов [146, 147].

ГПО6, или ГПО эмбрионов и обонятельного эпителия, в 1991 г. была описана как секреторный белок, гомологичный одорант-связывающему белку, и экспрессирующийся в латеральной назальной железе [148]. Субъединица 24,9 кДа из 221 а.о. В 2003 г. белок был идентифицирован как ГПО6 при компьютерном анализе селенпротеома млекопитающих. У свиней обнаружен активный SECIS, а у грызунов он не функционирует, вероятно в результате мутации с последующей заменой на цистеин [114].

ГПО7, или неселеноцистеиновая фгГПО (NPGRx), самый молодой фермент, открытый в 2004 г. и названный неселеноцистеиновой фосфолипидгидропероксидГПО (NPGRx), 21,0 кДа, 187 а.о., экспрессируется во многих тканях и структурно сходен с ГПО4. В отличие от ГПО4, отсутствует в МХ. Активность ГПО7 в молочной железе снижена при беременности и лактации и отсутствует или мало выражена в большинстве раковых опухолей. Активность ГПО7 обратно связана с пролиферацией клеток. Авторы предполагают, что она может защищать от рака [149].

Таким образом, ГПО5-7 изучены гораздо хуже, чем основные представители этого семейства. Пока ГПО5-7 скорее экзотика, чем важные для клеток ферменты с конкретными и самостоятельными функциями. Se-независимые ГПО-подобные белки с заменой SeCys на Cys – это неистинные ГПО, GSH не является их субстратом, перехват ими свободных радикалов неэффективен [150].

Большой интерес вызывает новый селеновый миметик ГПО, в 126-500 раз более эффективный, чем классический миметик эбселен [151].

Основные функции и значение глутатионпероксидаз.

Все ГПО восстанавливают H_2O_2 (в отличие от ГТ) и органические ROOH соответственно до воды или спирта ROH. Антиоксидантные реакции реализуются на 4 линиях защиты: 1) восстановление СОД $O_2^{\bullet-}$ в H_2O_2 , 2) восстановление ГПО и каталазой H_2O_2 в H_2O (роль ГПО выше, чем каталазы [7]), 3) восстановление ГПО и ГТ различных ROOH [152], 4) обезвреживание ГТ токсических альдегидов (особенно 4-гидроксиноненаля) конъюгацией с GSH и реже окислением альдегидов до кислот [5] (рис. 4). Очевидна фундаментальная роль в антиоксидантной защите системы глутатиона, активно функционирующей на трех линиях из четырёх. В этой системе участвуют и супероксиддисмутаза и каталаза. Поэтому интересно отметить, что при парном соединении ферментов образующийся бифункциональный фермент становится более активным [153].

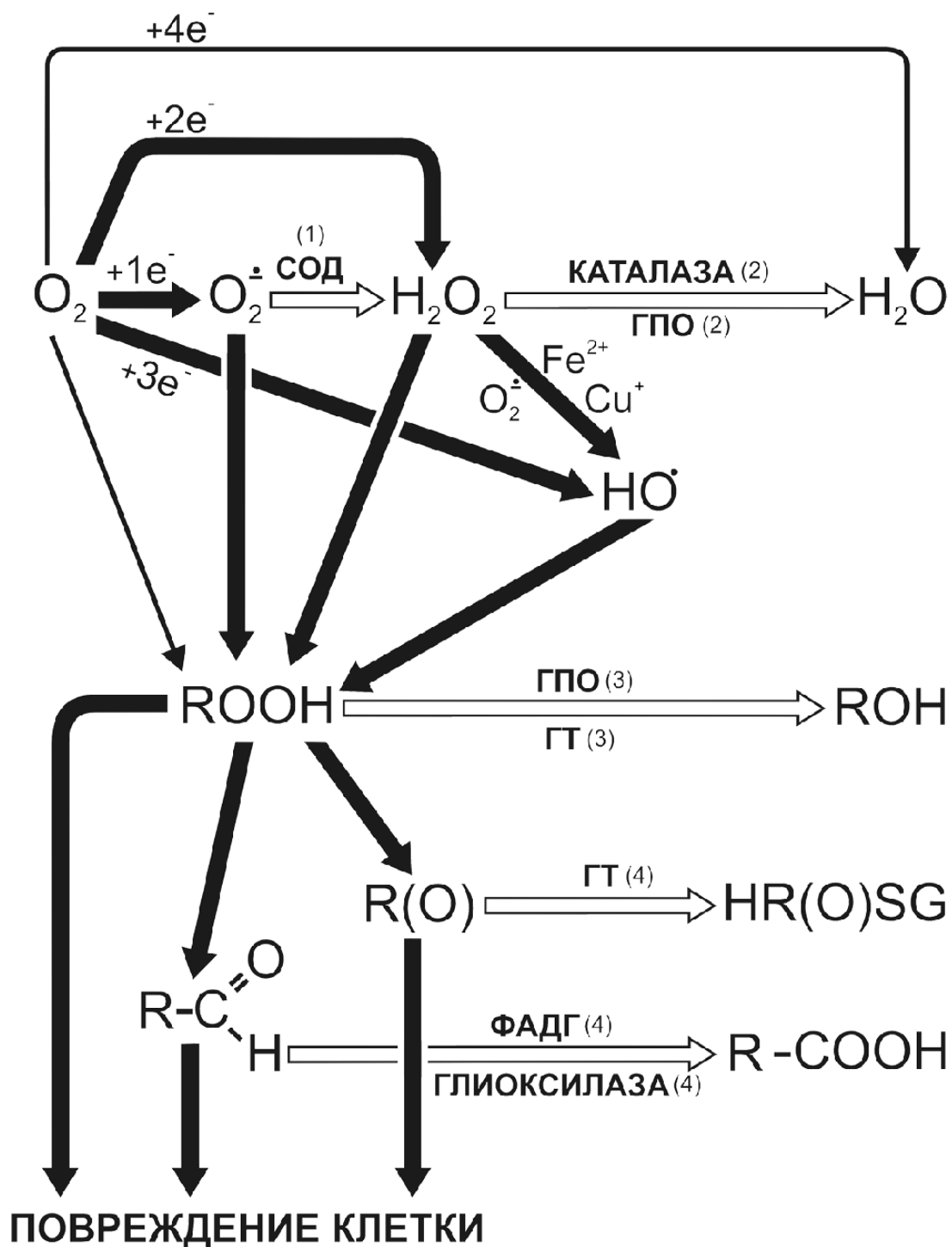


Рисунок 4.

Четыре линии защиты от оксидантов.

Обозначения: Черные стрелки – реакции образования активных форм O_2 , пустые стрелки – реакции снижения их агрессивности, числа в скобках – линии защиты.

$R(O)$ – 4-гидрокси-2,3-ноненаль и другие токсичные альдегиды, $HR(O)SG$ – конъюгаты GSH. Остальные обозначения как на рисунке 2.

Мыши с нокаутом генов ГПО1 или ГПО2 (а также с нокаутом каталазы [154]) при нормальных условиях нормальны, хотя есть тенденция к увеличению чувствительности к ОС. У мышей с одним ГПО2 аллелем (Gpx1^{-/-} Gpx2^{+/+}) нет патологических ненормальностей или симптомов, при одном ГПО1 аллеле (Gpx1^{+/+} Gpx2^{-/-}) в слизистой кишечника появляется низкая частота перианального изъязвления и диареи, а при двойном Gpx1/2 нокауте развивается сильный илеоколит в молодом возрасте [155] и ассоциированные с микрофлорой раковые опухоли [125, 156]. У свободных от бактерий мышей при отсутствии стресса патологии нет [157]. В отличие от этих 3 ферментов, нокаут гена ГПО4 вызывает эмбриональную летальность на 8 сутки, которая полностью компенсируется трансгенозом человеческого гена ГПО4. У трансгенных мышей без предварительного нокаута во всех тканях развивается сверхэкспрессия ГПО4. Она снижает поражение печени и пероксидацию липидов, индуцированных сильными прооксидантами дикуматом и t-бутилгидропероксидом [138]. Резкое различие нокаута генов Gpx1 или Gpx2 с нокаутом Gpx4 объясняется тем, что только ГПО4 ингибирует пероксидацию мембранных фосфолипидов (LOOH), что обеспечивает сохранение функций клеточных мембран и выживание.

Сверхэкспрессия ГПО4 МХ защищает различные клетки от апоптоза (иногда и от некроза), вызванного самыми различными вредными воздействиями: добавлением H₂O₂, окисленных фосфолипидов (15-НРЕТЕ, t-BuOOH, гидропероксидами линолеата, фосфатидилхолина или холестерина); ингибиторов дыхательной цепи (ротенон, KCN); истощением глюкозы; дезокси-глюкозой, стауроспорином, этопозидом, актиномицином D, ультрафиолетом [158]. Сверхэкспрессия ГПО4 МХ ингибирует генерацию ROOH, потерю мембранного потенциала и целостности плазматической мембраны, предупреждает снижение синтеза АТФ и смерть клетки, а ГПО1 и другие антиоксидантные ферменты (тиоредоксинпероксидаза, Cu/Zn- и Mn-СОД, каталаза и перокси-редоксины) лишь частично снижают апоптоз, вызванный различными стимулами [158]. Большая защитная эффективность ГПО4 связана, очевидно, с тем, что она действует на мембранные гидропероксиды фосфолипидов прямо, а ГПО1 и другие антиоксидантные ферменты – только после освобождения LOOH фосфолипазой А₂, сродство которой к LOOH в 10⁴ раз ниже, чем у ГПО4 [138, 159]. Мутация ГПО1 увеличивает сердечно-сосудистые нарушения, её активность обратно ассоциирована с ними, сверхэкспрессия этого фермента защищает кардиомиоциты от апоптоза, индуцированного ишемией/реперфузией [160, 161]. Аналогичные результаты получены при 4 вариантах индукции апоптоза на 4 различных видах клеток [158]. Двойной нокаут у мышей (Gpx1 (-/-) ApoE (-/-)) больше ускоряет атеросклероз, чем недостаточность только ApoE [161]. ГПО4 МХ, но не митохондриальная ГПО4 предупреждает освобождение из МХ цитохрома c и последующую активацию каспазы 3; этот эффект не связан с изменениями экспрессии Bcl-2-связанных белков [162]. Его объясняют тем, что в норме кардиолипид (CL) локализован во внутренней мембране МХ в комплексе с цитохромом c и необходим для фолдинга и активности многих белков МХ: F₀F₁-АТФазы, адениннуклеотидтранслокатора (АНТ), цитохрома c, комплексов I, III и IV. ОС генерирует гидропероксид кардиолипина CLOOH, что освобождает из комплекса с ним цитохром c [127, 163, 164]. Известно, что последний переходит в цитозоль через возникающую на границе двух мембран МХ пору перехода проницаемости (PT pore), состоящую из АНТ, циклофилина D и вольтаж-зависимого анионного канала (VDAC). Так как ГПО4 *in vitro* восстанавливает CLOOH в гидроксикардиолипид CLOH, сверхэкспрессия ГПО4 может уменьшать апоптоз по этому механизму [138, 165]. ГПО4 защищает генерацию АТФ от ОС оксидативного повреждения митохондрий, особенно при сверхэкспрессии ГПО4, поддерживающей мембранный потенциал митохондрий [166].

Гипербилирубинемия при физиологической желтухе новорожденных значительно снижает уровень малонового диальдегида и увеличивает активность СОД, каталазы и ГПО [167]. Это означает, что известный антиоксидантный эффект билирубина является не только прямым, но и опосредованным этими ферментами.

Долгое время ГПО рассматривали только как антиоксидантные ферменты. Но в последние годы все больше накапливаются данные, что “природа не создала множество форм ГПО только для детоксификации гидропероксидов” [109]. Последнее прежде всего характерно для ГПО1, но функции других ГПО не ограничиваются восстановлением АФК. ГПО2 отличается тем, что регулируется ARE и является частью широкого адаптивного ответа [109, 126]. Липидгидропероксиды активируют липоксигеназы и циклооксигены и участвуют в воспалении, а метаболизирующая их ГПО4 ингибирует 5-, 12- и 15-липоксигеназы, предупреждает экспрессию циклооксигеназы-2 и в результате снижает биосинтез ЛТ и простаноидов и ингибирует воспалительные процессы. ГПО4 – сигнальный регулятор в иммуноглобулин-Е-рецептор-медируемом пути [109]. В острой фазе воспаления уровень GSH временно снижается, а затем восстанавливается благодаря активации ГЦС. При воспалении кишечника в плазме увеличивается активность ГПО3, а в почке увеличивается мРНК ГПО3 [136]. Эти и другие данные (см. выше данные по нокатам ГПО) свидетельствуют, что антиоксиданты (ГПО, N-ацетилцистеин) обладают высокой противовоспалительной активностью, а их дефицит способствует развитию острого и хронического воспаления как в кишечнике [125], так и в сердечно-сосудистой системе [125, 168, 169]. ГПО1 в эксперименте и клинике тормозит развитие атеросклероза [170, 171], при её нокате развития атеросклероза ускоряется [172]. Вслед за недавним обнаружением ОС при эпилепсии, показано, что у больных происходит снижение Se в сыворотке и активности ГПО в эритроцитах [173]. ГПО4 специфически интерферирует с активацией интерлейкином 1 NF-κB и может предупредить рак [109]; увеличивает сперматогенез, участвует в функции спермы и фертилизации, в развитии эмбриона, а его дефицит приводит к инфертильности и эмбриональной летальности [109, 127].

Таким образом, разные ГПО, кроме общей функции, выполняют и специфические задачи. Это часто связано и с локализацией изоформ ГПО. Так, немитохондриальная ГПО4 ингибирует ферменты синтеза эйкозаноидов в ядре и эндоплазматическом ретикулуме, но не супрессирует апоптозную смерть клеток, индуцированную внутренним митохондриальным путем. Наоборот, митохондриальная ГПО4 ингибирует освобождение цитохрома c из МХ и последующий апоптоз, но не супрессирует липоксигеназу и циклооксигеназу. В результате ГПО4 в разных органеллах играет различные роли в сигнальной трансдукции, воспалении и апоптозе. Это показывает, что LOOH является активатором липоксигеназы и циклооксигеназы, а CLOOH – сигнальная молекула для освобождения цитохрома c и апоптозной смерти. Дефицит ГПО4 связан с такими нарушениями как атеросклероз, болезни Альцгеймера и Паркинсона [127]. В целом ГПО4 является уникальным плейотропным ферментом, разнообразие и значение функций которого – крайне редкое явление среди других ферментов.

Хорошо известно, что ряд гормонов (цитокины, факторы роста клеток, ангиотензин II, лизофосфатидат), ПК (МАПК, ПК С), транскрипционных факторов (NF-κB, AP-1) индуцируют ОС с аккумуляцией АФК, проявляющих себя как вторые посредники. ГПО1 и немитохондриальные и митохондриальные ГПО4 ингибируют эти эффекты, снижая риск перехода физиологической сигнальной трансдукции в патологическую [127].

ГПО цитозоля активируются *in vivo* стрессом, введением норадреналина и адреналина и *in vitro* сAMP и ПК А, последняя фосфорилирует ГПО [90, 91].

ЛИТЕРАТУРА

1. Glutathione: Chemical, Biochemical, and Medical Aspects, Parts A, B (1989) (Dolphin D., Poulson R., Avramovic O., eds) Wiley, N.Y.
2. Тиунов Л.А., Иванова В.А. (1988) Вестн. Акад. мед. наук СССР, №1, 62-69.
3. Колесниченко Л.С., Кулинский В.И. (1989) Успехи соврем. биол., **107**, 179-194.
4. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. (1990) Успехи соврем. биол., **110**, 20-30.
5. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. (1990) Успехи биол. химии, **31**, 157-179.
6. Труфанов В.А., Кичатинова С.В., Шатилов В.Р., Кретович В.Л. (1990) Прикл. биохим. микробиол., **26**, 3-10.
7. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. (1993) Успехи соврем. биол., **113**, 3-10.
8. Чернов Н.Н. (1998) Успехи биол. химии, **38**, 225-237.
9. Fahey R.C., Sundquist A.R. (1991) Adv. Enzymol., **64**, 1-53.
10. Dickinson D.A., Levenon A.L., Moellerling D.R., Arnold E.K., Zhang H., Darley-Usmar V.M., Forman H.J. (2004) Free Radic. Biol. Med., **37**, 1152-1159.
11. Iles K.E., Liu R.M. (2005) Free Radic. Biol. Med., **38**, 547-556.
12. Lu S.C. (1999) FASEB J., **13**, 1169-1183.
13. Ляхович В.В., Вавилин В.А., Зенков Н.К., Меньщикова Е.Б. (2006) Биохимия, **71**, 1183-1197.
14. Misra I., Griffith O.W. (1998) Protein Exp. Purif., **13**, 268-276.
15. Stipanuk M.H., Domini J.E., Lee J.I., Coloso R.M. (2006) J. Nutr., **136**(6 Suppl.), 1652S-1659S.
16. Grant C.M., MacIver F.H., Dawes, I.W. (1997) Mol. Biol. Cell, **8**, 1699-1707.
17. Dalton T.P., Chen Y., Schneider S.N., Nebert D.W., Shertzer H.G. (2004) Free Radic. Biol. Med., **37**, 1511-1526.
18. Chen Y., Yang Y., Miller M.L., Shen D., Shertzer H.G., Stringer K.F., Wang B., Schneider S.N., Nebert D.W., Dalton T.P. (2007) Hepatology, **45**, 1118-1128.
19. Rahman I. (2005) Mutat. Res., **579**, 58-80.
20. Aguirre P., Valdes P., Aracena-Parks P., Tapia V., Nunez M.T. (2007) Am. J. Physiol. Cell Physiol., **292**, 2198-2203.
21. Banna S., Ishi T., Takada A., Noriko T. (1989) Glutathione Centennial (Taniguchi N., Nigashi T., Sacomoto Y., Meister A., eds), Academic Press, San Diego, pp. 407-421.
22. Dulundu E., Ozel Y., Tapalaoglu U., Sehirli O., Ercan F., Gedik N., Sener G. (2007) Pharmacology, **79**, 163-170.
23. Hultberg M., Hultberg B. (2006) Chem. Biol. Interact., **163**, 192-198.
24. Packer L., Tritschler H.J., Wessel K. (1997) Free Radic. Biol. Med., **22**, 359-378.
25. Biliska A., Wlodek L. (2005) Pharmacol. Repots, **57**, 570-577.
26. Palaniappan A.R., Dai A. (2007) Neurochem. Res., **32**, 1552-1558.
27. Taniguchi M., Hirayama K., Yamaguchi K., Tateishi N., Suzuld M. (1989) in: Glutathione: Chemical, Biochemical, and Medical Aspects, Part B (Dolphin A., Poulson R., Avramovic O., eds.) Wiley, N.Y., pp. 645-728.
28. Rahman I., Adcock I.M. (2006) Eur. Respir. J., **28**, 219-242.
29. Zhang H., Court N., Forman H.J. (2007) Redox Rep., **12**, 101-106.
30. Chan K., Xan X.D., Kan, Y.W. (2001) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **98**, 4611-4616.
31. Zhu H., Cao Z., Zhang L., Trush M.A., Li Y. (2007) Mol. Cell Biochem., **301**, 1552-1558.
32. Dasgupta A., Das S., Sarcar P.K. (2007) Free Radic. Biol. Med., **42**, 617-626.
33. Kosower N.S., Kosower E.M. (1978) Intern. Rev. Cytol., **54**, 109-160.
34. Comhair S.A.A., Erzurum S.C. (2005) Antioxidants and Redox Signaling, **7**, 72-79.
35. Meister A. (1989) in Glutathione: Chemical, Biochemical, and Medical Aspects, Part A (Dolphin A., Poulson R., Avramovic O., eds.) Wiley, N.Y., pp 1-48.
36. Meister A. (1989) in Glutathione: Chemical, Biochemical, and Medical Aspects, Part A (Dolphin A., Poulson R., Avramovic O., eds.) Wiley, N.Y., pp. 367-474.

37. *Fernandez-Checa J.C., Kaplowitz N., Garcia-Ruiz C., Colell A.* (1998) *Semin. Liver Dis.*, **18**, 389-401.
38. *Fernandez-Checa J.C., Kaplowitz N.* (2005) *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **204**, 263-273.
39. *Lash L.H.* (2006) *Chem. Biol. Interact.*, **163**, 54-67.
40. *Meister A.* (1995) *Biochim. Biophys. Acta*, **1271**, 35-42.
41. Справочник Видаль. Лекарственные препараты в России (2006) Изд. 12, Москва, сс. 402-403, 1103-1104.
42. *Lluis J.M., Morales A., Blasco C., Collel A., Mari M., Garcia-Ruiz C., Fernandes-Checa J.C.* (2005) *J. Biol. Chem.*, **280**, 3224-3232.
43. *Juurlink B.H.J.* (1997) *Neurosci. Biobehav. Rev.*, **21**, 151-166.
44. *Wilson J.X.* (1997) *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **75**, 1149-1163.
45. *Dringen R.* (2000) *Progr. Neurobiol.*, **62**, 649-671.
46. *Deeley R.G., Westlake C., Cole S.P.* (2006) *Physiol. Rev.*, **86**, 849-899.
47. *Cole S.P., Deeley R.G.* (2006) *Trends Pharmacol. Sci.*, **27**, 438-446.
48. *Ballatori N., Hammond C.L., Cunnigham J.B., Crance S.M., Marchan R.* (2005) *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **204**, 238-255.
49. *Kariya C., Leitner H., Min E., van Heeckeren C., van Heeckeren A., Day B.J.* (2007) *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, **292**, L1590-L1597.
50. *Valente R.C., Capella L.S., Nascimento C.R., Lopes A.G., Capella M.A.* (2007) *Cell Biol. Toxicol.*, **23**(6), 421-427.
51. *Awasthi Y.C., Sharma R., Yadav S., Dwivedi S., Sharma A., Awasthi S.* (2007) *Curr. Drug Metab.*, **8**, 315-323.
52. *Yadav S., Zajac E., Singhal S.S., Awasthi S.* (2007) *Cancer Metastasis Rev.*, **26**, 59-69.
53. *Hammond C.L., Marchan R., Crance S.M., Ballatori N.* (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 14337-14347.
54. *Uotila L., Kolvasalo M.* (1989) in *Glutathione: Chemical, Biochemical, and Medical Aspects, Part A* (Dolphin A., Poulson R., Avramovic, O., eds.) Wiley, N.Y., pp. 517-551.
55. *Vander Jagt D.L.* (1989) in *Glutathione: Chemical, Biochemical, and Medical Aspects, Part A* (Dolphin, A., Poulson, R., and Avramovic, O., eds.) Wiley, N.Y., pp. 597-641.
56. *Oakley A.J.* (2005) *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **15**, 716-723.
57. *Hayes J.D., Flanagan J.U., Jowsey, I.R.* (2005) *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **45**, 51-88.
58. *Frova C.C.* (2006) *Biochem. Engineering*, **23**, 149-169.
59. *Robin M.-A., Prabu S.K., Raza H., Anandatheerthavarada H.K., Avadhani N.G.* (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 18960-18970.
60. *Coles B.F., Kadlubar F.F.* (2005) *Methods in Enzymol.*, **401**, 9-42.
61. *Bolt H.M., Their R.* (2006) *Curr. Drug Metab.*, **7**, 613-628.
62. Маршалл В. Дж. (1999) Клиническая биохимия, Изд-во Бином – Невский диалект, Москва – Санкт-Петербург.
63. *Давыдов В.В., Божков А.И.* (2003) *Биомед. химия*, **49**, 374-387.
64. *Sharma R., Yang Y., Sharma A., Awasthi S., Awasthi Y.C.* (2004) *Antioxid. Redox Signal*, **6**, 289-300.
65. *Abdellatif Y., Liu D., Gallant E.M., Cage P.W., Board P.G., Dalhenty A.F.* (2007) *Cell Calcium*, **41**, 429-440.
66. *Smeine M., Boyd J., Raviie S. K., Jiao Y., Pond B.B., Hatler M., Wolf R., Henderson C., Smeine R.J.* (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 1977-1982.
67. *Tew K.D.* (2007) *Biochem. Pharmacol.*, **73**, 1257-1269.
68. *Whitbread A.K., Masoumi A., Tetlow N., Schmuk E., Coggan M., Board P.G.* (2005) *Methods in Enzymol.*, **401**, 78-99.
69. *Board P.G., Anders M.W.* (2005) *Methods in Enzymol.*, **401**, 61-77.
70. *Morel F., Rauch C., Petit E., Piton A., Theret N.* (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 16246-16253.

71. Zhang X., Guo A., Yu J., Possemato A., Chen Y., Zheng W., Polakiewicz R.D., Kinzler K.W., Vogelstein B., Velculescu V.E., Wang Z.J. (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 4060-4064.
72. Siritantikorn A., Johansson K., Ahlen K., Rinaldi R., Suthiphongchai T., Wilairat P., Mogenstern R. (2007) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **355**, 592-596.
73. Busenlehner L.S., Alander J., Jegeschohd C., Holm P.J., Bhakat P., Hebert H., Mogenstern R., Armstrong R.N. (2007) *Biochemistry*, **46**, 2812-2822.
74. Jacobsson P.-J., Morgenstern R., Mancini J., Ford-Hutchinson A., Person B. (1999) *Protein Sci.*, **8**, 689-692.
75. Jacobsson P.-J., Mancini J., Riendeau D., Ford-Hutchinson A. (1997) *J. Biol. Chem.*, **272**, 22934-22939.
76. Schroder O., Sjoström M., Qiu H., Stein J., Jacobsson P.-J., Haeggstrom J.Z. (2003) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **312**, 271-276.
77. Austen K.F. (2005) *Novartis Found. Symp.*, **271**, 166-175.
78. Islinger M., Luers G.H., Ziscka H., Ueffing M., Volki A. (2006) *Proteomics*, **6**, 804-816.
79. Pearson W.R. (2005) *Methods in Enzymol.*, **401**, 186-204.
80. Wongsantichon J., Ketterman A.J. (2005) *Methods in Enzymol.*, **401**, 100-116.
81. Тумельян В.А. (1984) *Вестник АМН СССР*, (8), 84-89.
82. Shimada T. (2006) *Drug Metab. Pharmacokinet.*, **21**, 257-276.
83. Huber W.W., Parzefail W. (2005) *Methods in Enzymol.*, **401**, 307-341.
84. Boyland E., Chasseaud L.P. (1969) *Adv. Enzymol.*, **32**, 173-219.
85. Alary J., Gueraud F., Cravedi J.P. (2003) *Mol. Aspects Med.*, **24**, 177-187.
86. Siems W., Grune T. (2003) *Mol. Aspects Med.*, **24**, 167-175.
87. Siow R.C., Ishii T., Mann G.E. (2007) *Redox Rep.*, **12**, 11-15.
88. Kim E.H., Surh Y.J. (2006) *Biochem. Pharmacol.*, **72**, 1516-1528.
89. Stella L., Pallottini V., Moreno S., Leoni S., De Maria F., Turella P., Federici G., Fabrini R., Dawood K.F., Lo Bello M., Pedersen J.Z., Ricci G. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 6372-6379.
90. Колесниченко Л.С., Манторова Н.С., Шапиро Л.А. (1987) *Биохимия*, **52**, 743-749.
91. Колесниченко Л.С., Кулинский В.И. (1990) *Физиол. журн. СССР*, **76**, 1958-1961.
92. Zhao G., Wang X. (2006) *Curr. Med. Chem.*, **13**, 1461-1471.
93. McIlwain C.C., Townsend D.M., Tew, K.D. (2006) *Oncogen*, **25**, 1639-1648.
94. Townsend D.M., Findlay V.L., Tew K.D. (2005) *Methods in Enzymol.*, **401**, 287-301.
95. Kim S.G., Lee S.J. (2007) *Toxicol. Sci.*, **96**, 206-213.
96. Zhu D., Tate R.I., Ruediger R., Meigs T.E., Denker B.M. (2007) *Mol. Pharmacol.*, **71**, 1268-1276.
97. Pool-Zobel B., Veeriah S., Bohmer F.D. (2005) *Mutat. Res.*, **591**, 74-92.
98. Kwak M.R., Wakabayashi N., Kensler T.W. (2004) *Mutat. Res.*, **555**, 133-148.
99. Ikeda H., Nishi S., Sakai M. (2004) *Biochem. J.*, **380**, 515-521.
100. Lee J.-M., Calkins M.J., Chan K., Kan Y.W., Johnson J.A. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 12029-12038.
101. Ng L., Nichols K., O'Rourke K., Maslen A., Kirbi G.M. (2007) *Mol. Pharmacol.*, **71**, 201-208.
102. Romieu I., Sienra-Monge J.J., Ramfrez-Aguilar M., Moreno-Macfas H., Reyes-Ruiz N.I.I. (2004) *Thorax*, **59**, 8-10.
103. Tew K.D. (2005) *Expert Opin. Investig. Drugs*, **14**, 1047-1054.
104. Chanas S.A., Jiang Q., McMahon M., McWalter G.K., McLellan L.I., Elcombe C.R., Henderson C.J., Wolf C.R., Moffat G.J., Itoh K., Yamamoto M., Hayes J.D. (2002) *Biochem. J.*, **365**, 405-416.
105. Engle M.R., Singh S.P., Czernik P.J., Gaddy D., Montague D.C., Ceci J.D., Yang Y., Awasthi S., Awasthi Y.C., Zimniak P. (2004) *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **194**, 296-308.

106. Board P.G. (2007) Expert Opin. Drug Metab. Toxicol., **3**, 421-423.
107. Flohe L. (1989) Glutathione: Chemical, Biochemical, and Medical Aspects, Part A (Dolphin D., Poulson R., Avramovic O., eds.) Wiley J., N.Y., pp. 643-742.
108. Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К., Бондарь И.А., Круговых Н.Ф., Труфакин В.А. (2006) Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты. Изд-во Слово, Москва.
109. Brigelius-Flohe R. (2006) Biol. Chem., **387**, 1329-1335.
110. Weiss Sachdev S., Sunde R.A. (2001) Biochem. J., **357**, 851-858.
111. Mix H., Lobanov A.V., Gladyshev V.N. (2007) Nucleic Acid Res., **35**, 419-423.
112. Papp L.V., Lu J., Holmgren A., Khanna K.K. (2007) Antioxid. Redox. Signal, **9**, 775-806.
113. Maiorino M., Scapin M., Ursini F., Biasolo M., Bosello V., Flohe L. (2003) J. Biol. Chem., **278**, 34286-34290.
114. Kryukov G.V., Casteliano S., Novoselov S.V., Lobanov A.V., Zehtab O., Guigo R., Gladyshev V.N. (2003) Science, **300**, 1439-1443.
115. Lei G., Cheng W.H., McCKung J.P. (2007) Ann. Rev. Nutr., Epub Apr. 27.
116. Steinbrenner H., Bilgic E., Alili L., Sies H., Brenneisen P. (2006) Free Radic. Res., **40**, 936-943.
117. Panee J., Stoytcheva Z.R., Liu W., Berry M.J. (2007) J. Biol. Chem., **282**, 23759-23765.
118. Novoselov S., Kryukov G.V., Xu X.M., Carlson B.A., Hatfield D.L., Gladyshev V.N. (2007) J. Biol. Chem., **282**, 11960-11968.
119. Reddy C. Ch., Thomas C.E., Scholz R.W. (1985) Sympos. 187th Meet. Am. Chem. Soc. "Xenobiotic Metab.: Nutr. Effects", Washington, p. 253.
120. Ciappellano S., Testolin G., Porrini M. (1989) Ann. Nutr. Metabol., **33**, 22-30.
121. Chu F.-F., Esworthy R.S., Doroshov J.H. (2004) Free Radic. Biol. Med., **36**, 1481-1495.
122. Mannervik B., Carlberg J., Larson K. (1989) Glutathione: Chemical, Biochemical, and Medical Aspects. Part A. (Dolphin D., Poulson R., Avramovic O., eds.), Wiley J., N.Y., pp. 475-516.
123. Hurd T.R., Costa N.J., Dahm C.C., Beer S.M., Brown S.E., Filipovska A., Murphy M.P. (2005) Antioxid. Redox Signaling, **7**, 999-1010.
124. Foster C.B., Awath K., Chunock S.J., McKay H.F., Peters U. (2006) BMC Genet., **7**, 56.
125. Chu F.-F., Doroshov J.H., Esworthy R.S. (1993) J. Biol. Chem., **268**, 2571-2576.
126. Banning A., Deubel S., Kluth D., Zhou Z., Brigelius-Flohe R. (2005) Mol. Cell Biol., **25**, 4914-4923.
127. Imai H., Nakagawa Y. (2003) Free Radic. Biol. Med., **34**, 145-169.
128. Singh A., Rangasamy T., Thimmulappa R.K., Lee H., Osburn W.O., Brigelius-Flohe R., Kensler T.W., Yamamoto M., Biswal S. (2006) Am. J. Respir. Cell Mol. Biol., **35**, 639-650.
129. Takahashi K., Akasaka M., Yamamoto Y., Kobayashi C., Mizoguchi J., Koyama J. (1990) J. Biochem. (Tokyo), **108**, 145-148.
130. Whitin J.C., Bhamre S., Tham D.M., Cohen H.J. (2002) Am. J. Physiol. Renal Physiol., **283**, F20-F28.
131. Bjornstedt M., Xue J., Huang W., Akesson B., Holmgren A. (1994) J. Biol. Chem., **269**, 29382-29384.
132. Tham D.M., Whitin J.C., Kim K.K., Zhu S.X., Cohen H.J. (1998) Am. J. Physiol., **275**, G1463-G1471.
133. Bierl C., Voetsch B., Jin R.C., Handy D.E., Loscalzo J. (2004) J. Biol. Chem., **279**, 26839-26845.
134. Chiu Y.W., Kuo M.C., Chang J.M., Guh J.Y., Lai Y.H., Chen H.C. (2005) J. Lab. Clin. Med., **145**, 181-186.
135. Chen H.C., Guh J.Y., Lai Y.H. (2001) J. Lab. Clin. Med., **137**, 279-283.
136. Tham D.M., Whitin J.C., Cohen H.J. (2002) Pediatr. Res., **51**, 641-646.

137. *Ursini F., Maiorino M., Gregolin C.* (1985) *Biochim. Biophys. Acta*, **839**, 62-70.
138. *Ran Q., Liang H., Gu M., Qi W., Walter C.A., II L.J.R., Herman B., Richardson A., Remmen H.V.* (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 56137-56146.
139. *Januel C., El Hentati F.Z., Carreras M., Arthur J.R., Calzada C., Legarde M., Vericel E.* (2006) *Biochim. Biophys. Acta*, **1761**, 1228-1234.
140. *Maiorino M., Thomas J.P., Girotti A.W., Ursini F.* (1991) *Free Radic. Res. Commun.*, **12-13**, 131-135.
141. *Thomas J.P., Maiorino M., Ursini F., Girotti A.V.* (1990) *J. Biol. Chem.*, **265**, 454-461.
142. *Bao Y., Jemth P., Mannervi B., Williamson B.* (1997) *FEBS Lett.*, **410**, 210-212.
143. *Aumann K.D., Bedorf N., Brigelius-Flohe R., Shomburg D., Flohe L.* (1997) *Biomed. Environ. Sci.*, **10**, 136-155.
144. *Arai M., Imai H., Koumura T., Yoshida M., Emoto K., Umeda M., Chiba N., Nakagava Y.* (1999) *J. Biol. Chem.*, **274**, 4924-4933.
145. *Savaskan N.E., Borchert A., Brauer A.U., Kuhn H.* (2007) *Free Radic. Biol. Med.*, **43**, 191-201.
146. *Williams K., Frayne J., Hall L.* (1998) *Mol. Human Reproduction*, **4**, 841-848.
147. *Dear T.N., Campbell K., Rabbitts T.H.* (1991) *Biochemistry*, **30**, 10376-10382.
148. *Vernet P., Rock E., Mazur A., Rayssiguier Y., Dufaure J.P., Drevet J.R.* (1999) *Mol. Reprod. Dev.*, **54**, 362-370.
149. *Utomo A., Jiang X., Furuta S., Yun J., Levin D.S., Wang Y.-C. J., Desai K.V., Green J.E., Chen P.-L., Lee W.-H.* (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 43522-43529.
150. *Herbette S., Roeckel-Drevet P., Drevet-J.R.* (2007) *FEBS J.*, **274**, 2163-2180.
151. *Huang X., Dong Z., Liu J., Mao S., Xu J., Luo G., Shen J.* (2007) *Langmuir*, **23**, 1518-1522.
152. *Wendel A.* (1980) in *Enzymatic Basis of Detoxication*, vol. 1 (Jacoby W.B., ed.) Academic Press, N.Y., p. 333-353.
153. *Yu H., Ge Y., Wang Y., Lin C.T., Li J., Liu X., Zang T., Xu J., Liu J., Luo G., Shenn J.* (2007) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **358**, 873-878.
154. *Ho Y.S., Xiong Y., Ma W., Spector A., Ho D.S.* (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 32804-32812.
155. *Hall L., Williams K., Perry A.C., Frayne J., Juri J.A.* (1998) *Biochem. J.*, **333**, 5-9.
156. *Chu F.F., Esworthy R.S., Chu P.C., Longmate J.A., Huycke M.M., Wilczynski S., Doroshov J.H.* (2004) *Cancer Res.*, **64**, 962-968.
157. *Bean-Knudsen D.E., Wagner J.E.* (1987) *Am. J. Vet. Res.*, **48**, 306-308.
158. *Degterev A., Boyce M., Yuan J.* (2001) *J. Cell. Biol.*, **155**, 695-698.
159. *Antunes F., Salvador A., Pinto R.E.* (1995) *Free Radic. Biol. Med.*, **19**, 669-677.
160. *Furling D., Ghribi O., Lahsaini A., Mirault M.E., Massicotte G.* (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, 4351-4356.
161. *Torzewski M., Ochsenhirt V., Kleschyov A.L., Oelze M., Daiber A., Li H., Rossmann H., Tsimicas S., Reifenberg K., Cheng F., Lehr H.A., Blankenberg S., Forsterman U., Munzel T., Lackner K.J.* (2007) *Arterioscler. Thromb. Vask. Biol.*, **27**, 850-857.
162. *Nomura K., Imai H., Koumura T., Arai M., Nakagava Y.* (1999) *J. Biol. Chem.*, **274**, 29294-29302.
163. *Bogdanov M., Dowhan W.* (1999) *J. Biol. Chem.*, **274**, 36827-36830.
164. *Lange C., Nett J.H., Trumpower B.L., Hunte C.* (2001) *EMBO J.*, **20**, 6591-6600.
165. *Nomura K., Imai H., Koumura T., Arai M., Nakagava Y.* (2000) *Biochem. J.*, **351**, 183-193.
166. *Liang H., Remmen H.V., Frolich V., Lechleiter J., Richardson A., Ran Q.* (2007) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **356**, 893-898.
167. *Kumar A., Pant P., Basu S., Rao G.R., Khanna H.D.* (2007) *J. Trop. Pediatr.*, **53**, 69-71.
168. *Ardite F., Sans M., Panes J., Romero F.J., Pique J.M., Fernandes-Checa M.* (2000) *Lab. Invest.*, **80**, 735-744.

169. *Moldeus P., Cotgreave I.A.* (1994) *Methods in Enzymol.*, **234**, 482-492.
170. *Espinola-Klein C., Rupprecht H.J., Bickel C., Schnabel R., Genth-Zotz S., Torzewski M., Lackner K., Munzel T., Blankenberg S.* (2007) *Am. J. Cardiol.*, **99**, 808-812.
171. *Lin M., Hsu H.C., Lin L.G., Li H.Y., Lee Y.T., Chen M.F.* (2007) *Cardiology*, **108**, 381-386.
172. *Lewis P., Stefanovic N., Pete J., Calkin A.C., Giunti S., Thallas-Bonke V., Jandeleit-Dahm K.A., Allen T.J., Kola I., Cooper M.E., de Haan J.B.* (2007) *Circulation*, **115**, 2178-2187.
173. *Ashrafi M.R., Shams S., Nouri M., Mohseni M., Shabanian R., Yekaninejad M.S., Chegini N., Khodadad A., Safaralizadeh R.* (2007) *Epilepsia*, **48**(9), 1750-1755.

Поступила: 04. 09. 2007.

**GLUTATHIONE SYSTEM
I. SYNTHESIS, TRANSPORT, GLUTATHIONE TRANSFERASES,
GLUTATHIONE PEROXIDASES**

V.I. Kulinsky, L.S. Kolesnichenko

Departments of Biochemistry¹ and Biononorganic and Bioorganic Chemistry², Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russia; tel.: (395)224-0826; e-mail: kulinsky@pp.irkutsk.ru

Studies of glutathione system in all basic trends have been extended considerably during recent 10-15 years. A series of new metabolic enzymes has been discovered. Many of them are polyfunctional and their new activities have been recognized. The enzymes interact with hormones and signal transduction systems. The studies of intracellular, intercellular and inter organs transports have been considerably advanced. The important achievement consist in unmasking new functions not only by selective substances-analytcs but also by gene engineering methods as well.

Key words: glutathione, metabolism enzymes, regulation.