

УДК: 577.164.11

©Макарчиков

## ВИТАМИН В<sub>1</sub>: МЕТАБОЛИЗМ И ФУНКЦИИ

*А.Ф. Макарчиков<sup>1,2</sup>*

<sup>1</sup>Гродненский государственный аграрный университет, ул. Терешковой, 28,  
230008 г. Гродно, Беларусь; тел.: (152)720575; факс: (0152)721365;  
эл. почта: a\_makarchikov@yahoo.com

<sup>2</sup>Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси, БЛК 50, 230009 г. Гродно,  
Беларусь; тел.: (0152)436301; факс: (0152)434121

В обзоре рассматривается современное состояние проблемы метаболизма и биологических функций витамина В<sub>1</sub> (тиамин). Приведены сведения о системах транспорта тиамин в клетки различных видов организмов, ферментах синтеза и деградации его фосфорных эфиров, а также молекулярных основах наследственных тиамин-зависимых патологий. Особое внимание уделено обсуждению роли тиаминтрифосфата и недавно обнаруженного в объектах живой природы нового производного тиамин – аденилированного тиаминтрифосфата.

**Ключевые слова:** витамин В<sub>1</sub>, тиамин, тиаминфосфаты, транспорт, метаболизм, биологическая роль.

**ВВЕДЕНИЕ.** Витамин В<sub>1</sub> (тиамин) является незаменимым пищевым фактором, дефицит которого вызывает полиневриты у животных, приводит к развитию у людей сердечно-сосудистых и неврологических расстройств, болезни бери-бери и синдрома Вернике-Корсакова [1]. История исследований тиамин с момента его выделения в кристаллической форме [2] насчитывает уже более 80 лет. За этот период достигнут огромный прогресс в расшифровке молекулярных механизмов, посредством которых реализуется каталитическая функция тиаминдифосфата (ThDP) во внутриклеточных процессах, и сегодня число известных ThDP-зависимых ферментов уже перешагнуло отметку в 25 ([www.expsasy.ch](http://www.expsasy.ch)). Тем не менее, мы, вероятно, все еще далеки от создания целостной картины, которая бы отражала все аспекты биологической активности тиамин. В последнее время были получены данные, позволяющие по-новому взглянуть на роль этого витамина в жизнедеятельности клетки. Настоящий обзор посвящен краткому рассмотрению современного состояния дел в области исследований метаболизма и функций тиамин.

### **1. СИСТЕМА МЕТАБОЛИЗМА ТИАМИНА.**

В большинстве объектов живой природы витамин В<sub>1</sub> присутствует в свободной (нефосфорилированной) форме и в виде трех фосфорных эфиров – тиаминмонофосфата (ThMP), ThDP и тиаминтрифосфата (ThTP) [3], которые вместе с соответствующими ферментами, составляют систему его обмена. Совсем недавно был идентифицирован еще один компонент – аденилированный ThTP (AThTP) [4]. Тиамин и тиаминфосфаты обнаружены во всех исследованных тканях животных, бактериях, простейших, растениях и грибах.



Сравнительно недавно клонированы кДНК белков-переносчиков, осуществляющих транспорт тиамин в органы и ткани человека и мыши [19-21]. Тиаминовые транспортеры человека – SLC19A2 (ThTr1), SLC19A3 (ThTr2) – и их мышинный гомолог Slc19a2 принадлежат к семейству фолатного транспортера [19, 20, 22, 23]. Ген SLC19A2 расположен в регионе q23.3 первой хромосомы, состоит из 6 экзонов, 5 интронов и кодирует белок из 497 аминокислотных остатков (а.о.), предположительно содержащий 12 трансмембранных доменов [20, 24]. Мутации SLC19A2 служат причиной редкого аутосомального рецессивного заболевания – тиамин-чувствительной мегалобластической анемии (TRMA, синдром Роджерса), сопровождающейся сахарным диабетом и глухотой [24, 25]. При содержании на тиамин-дефицитной диете у мышей с целенаправленно поврежденным геном Slc19a2 развиваются все симптомы TRMA [26].

ThTr1 и ThTr2, по-видимому, не задействованы в поглощении тиамин клетками плаценты: в линии BeWo трофобластов человека процесс транспорта имеет несколько отличительных особенностей, указывающих на участие в нем серотонинового транспортера (SERT) [27].

Многие организмы, способные синтезировать витамин B<sub>1</sub> *de novo*, также располагают периферическими системами его транспорта. Так, при наличии тиамин в культуральной среде дрожжевые клетки поглощают его посредством системы активного транспорта с рН-оптимумом 4,5 и K<sub>м</sub> 0,18 мкМ [28]. Ген тиаминового транспортера *S. cerevisiae* – *THI10* – находится в XII хромосоме и содержит открытую рамку считывания (ОРС) из 1794 пар нуклеотидов (п.н.), кодирующую белок с молекулярной массой (м.м.) 66,903 кДа. Экспрессия этого белка-переносчика регулируется на уровне мРНК в зависимости от внутриклеточной концентрации ThDP [29].

У бактерий (*E. coli*, *S. typhimurium*) транслокация тиамин и его фосфорных эфиров через внутреннюю мембрану осуществляется АТФ-связывающим кассетным транспортером (ABC-транспортер), кодируемым *thiBPO*-опероном [30, 31].

### 3. ФЕРМЕНТЫ БИОСИНТЕЗА ФОСФОРНЫХ ЭФИРОВ ТИАМИНА.

#### 3.1. Биосинтез ThMP.

Образование ThMP из 2-метил-4-амино-5-гидроксиэтилпиримидин дифосфата и 4-метил-5-β-гидроксиэтилтиазолмонофосфата, катализируемое тиаминфосфатпирофосфорилазой (ThMP-PPаза) (КФ 2.5.1.3), является предпоследним этапом на пути биосинтеза тиамин у микроорганизмов и растений [7]. У дрожжей *S. cerevisiae* ген ThMP-PPазы *THI6* локализован в XVI хромосоме и кодирует полипептид, состоящий из 540 а.о. [32]. Молекула ThMP-PPазы построена из 8 идентичных субъединиц [33]. ThMP-PPаза *S. cerevisiae* представляет собой бифункциональный фермент, катализирующий не только реакцию синтеза ThMP, но и его предшественника 4-метил-5-β-гидроксиэтилтиазолмонофосфата. Однако у *E. coli* и других бактерий эти реакции осуществляются отдельными ферментами, поскольку *thiM* и *thiE* гены, кодирующие гидроксиэтилтиазолкиназу (КФ 2.7.1.50) и ThMP-PPазу, расположены в разных локусах [34, 35].

Помимо рассмотренной выше ThMP-PPазной реакции, которая характерна для всех организмов, способных к синтезу витамина B<sub>1</sub> *de novo*, в клетках *E. coli* и *S. typhimurium* ThMP может образоваться путем непосредственного фосфорилирования тиамин [36, 37]. Реакция является промежуточной на пути биосинтеза ThDP при выращивании культур данных видов бактерий на экзогенных источниках тиамин. Этот путь не обнаружен у *P. denitrificans* [38] и *B. subtilis* [39]. Тиаминкиназа (КФ 2.7.1.89) *E. coli* кодируется *thiK* [40].

Считается устоявшимся представление о том, что в тканях млекопитающих ThMP образуется исключительно при гидролизе ThDP; никаких специализированных путей или ферментов биосинтеза монофосфата в клетках животных не обнаружено. Пока не ясно, является ли ThMP просто промежуточным соединением в метаболизме фосфорных эфиров тиамин либо выполняет какую-то специфическую биохимическую функцию.

### 3.2. Биосинтез ThDP.

Биосинтез ThDP в эукариотных организмах и по крайней мере у некоторых прокариот (например, *P. denitrificans*) осуществляется в ходе реакции: тиамин + АТФ  $\leftrightarrow$  ThDP + АМФ, катализируемой ТПК [38, 41, 42].

По данным физико-химических методов анализа ТПК млекопитающих – гомодимер с м.м. 50-64 кДа, построенный из двух идентичных субъединиц [42-44]. Сравнительно недавно клонированы и экспрессированы в *E. coli* кДНК фермента мыши и человека [45-47]. ОРС обеих кДНК кодируют белки с м.м. 27 кДа, степень идентичности которых составляет 89%. Ген ТПК человека занимает позицию q34 в 7 хромосоме [46, 47]. Третичная структура мышинной ТПК установлена методом рентгенокристаллографии [48].

В дрожжах *S. cerevisiae* ТПК кодируется геном *THI80*, который несёт информацию о полипептиде с м.м. 36,616 кДа [49]. Методом гель-фильтрации было показано, что м.м. экспрессированной в *E. coli* ТПК, слитой N-концевым остатком с тремя аминокислотными остатками вектора рTrc99A, равна 72 кДа, т.е. фермент дрожжей также существует в форме гомодимера. Пространственная структура ТПК *S. cerevisiae* установлена рентгеноструктурным анализом при разрешении 1,8 Å [50]. Субъединица ТПК построена из двух доменов, один из которых представляет собой укладку Россмана с 4  $\alpha$ -спиралями на каждой стороне 6-цепочечного антипараллельного  $\beta$ -слоя. Во втором домене расположены 4-цепочечный и 6-цепочечный антипараллельные  $\beta$ -слои, формирующие уплощенную сандвичеподобную структуру. Активный центр находится в расщелине между соприкасающимися поверхностями субъединиц.

Выше уже отмечалось, что ТПК катализирует биосинтез ThDP в клетках *P. denitrificans* [38]. Как и в случае с дрожжами и млекопитающими, активной является димерная форма фермента с м.м. 44 кДа [51]. Эта форма способна агрегировать, образуя низкоактивный тетрамер. Аналогичная склонность к ассоциации характерна также для ТПК из дрожжей *S. carlsbergensis*, которая в зависимости от pH среды может быть представлена различными олигомерными формами, находящимися в динамическом равновесии [52].

У кишечных бактерий *E. coli* и *S. typhimurium* синтез ThDP *de novo* протекает по альтернативному пути, включающему фосфорилирование ThMP без его предварительного гидролиза до свободного тиаминина [37, 53]. Тиаминмонофосфаткиназа (КФ 2.7.4.16) является продуктом *thiL* локуса, который кодирует белок с м.м. 35 кДа [37, 40].

ТПК характеризуется широкой специфичностью в отношении обоих субстратов [42, 54-55]. Как правило,  $K_m$  фермента для тиаминина находится в микромолярной (0,1-10 мкМ), а для АТФ – в миллимолярной области концентраций (0,38-5,9 мМ) [42-44, 51, 54, 56], что соответствует внутриклеточным физиологическим концентрациям этих соединений. ТПК-реакция проявляет абсолютную зависимость от катионов двухвалентных металлов; при этом истинным субстратом служит комплекс MeNTP. Методом сайт-направленного мутагенеза было показано, что в каталитическом механизме рекомбинантной ТПК человека важная роль принадлежит остаткам Asp-71, Asp-73, Gln-96, Thr-99, Asp-100, Arg-131 и Asp-133 [57].

В печени, энтероцитах и эритроцитах крысы ТПК локализована исключительно в цитозольной фракции клетки [15, 58]. При исследовании активности фермента в субклеточных фракциях из *Euglena gracilis* 9,2% активности обнаружено в хлоропластах, 15,7% в митохондриях и 65,7% в цитозоле [59].

ThDP, синтезированный *de novo*, занимает центральное положение в метаболизме фосфорных эфиров тиаминина в эукариотной клетке (рис. 1). Основная его масса транспортируется в митохондрии, где включается в пируват- и оксоглутаратдегидрогеназные комплексы (ПДГК и ОДГК), а также дегидрогеназный комплекс  $\alpha$ -кетокислот с разветвленной цепью. Другая часть

связывается с цитозольной транскетолазой (ТК) (КФ 2.2.1.1). По некоторым оценкам, в состав ThDP-зависимых ферментов нервной ткани включено 90-95% от общего внутриклеточного содержания ThDP; этот белковосвязанный кофермент формирует пул, скорость оборота которого колеблется в пределах 6-20 ч [60-62]. Однако в гепатоцитах на долю свободного ThDP может приходиться до 60% [63].

Транспорт ThDP в митохондриях печени крыс опосредован белком-переносчиком с  $K_m$  20 мкМ [64]. В матриксе митохондрий свободный кофермент может гидролизироваться ThDPазой, а образующийся при этом ThMP транспортируется обратно в цитозоль, где подвергается дальнейшему расщеплению до тиамин – субстрата ТПК. Возможно, перенос ThMP из митохондрий осуществляется в обмен на ThDP [65].

Lindhurst et al. [66] идентифицировали митохондриальный переносчик ThDP в модели на нокаутных мышах. Им оказался белок Slc25a19 – ортолог SLC25A19-транспортера человека, известного также под названием DNC и, как считалось ранее, ответственного за транспорт дезоксинуклеотидов в митохондрии [67]. Нуль-мутантные мыши проявляли признаки врожденной летальной Амиш-микроцефалии (МСРНА) – рецессивного аутосомного заболевания, характеризующегося пороками развития центральной нервной системы и 10-100-кратным возрастанием уровня  $\alpha$ -кетоглутарата (АКГ-урия) [68].

Аминокислотная последовательность SLC25A19 на 28% идентична последовательности Trc1p – митохондриального переносчика в клетках дрожжей *S. cerevisiae* [69]. Trc1p представляет собой мономерный белок внутренней мембраны с м.м. 35,5 кДа, способный, хотя и с меньшей эффективностью, наряду с ThDP и ThMP осуществлять транспорт нуклеотидов. В зависимости от физиологических условий Trc1p работает по механизму унипорта либо антипорта, обменивая митохондриальный ThMP на цитозольный ThDP.

У бактерий генетический контроль регуляции биосинтеза ThDP во многом реализуется благодаря механизму “рибопереключателей” (riboswitch). Было показано, что мРНК генов, кодирующих ферменты тиаминового пути, содержат консервативную нуклеотидную последовательность в 5'-UTR регионе (*thi* box-домен), способную специфическим образом связывать производные тиамин [70]. Следствием этого являются перестройки вторичной структуры молекулы мРНК в области последовательности Шайна-Далгарно, “распаривание” которой необходимо для эффективной трансляции у прокариот. В частности, по такому механизму регулируется экспрессия белков *thiC* и *thiM* в *E. coli*, причем сродство *thi*-box рибопереключателя к ThDP ( $K_d = 100-600$  нМ) более чем в 1000 раз выше, чем к ThMP или тиамину [71]. ThDP-связывающие сенсорные домены обнаружены также в мРНК эукариот [72].

Кристаллическая структура комплексов ThDP-рибопереключатель установлена для нескольких мРНК [73-75]. В случае *thiM E. coli* соответствующий участок мРНК сложен в виде двух субдоменов. Один из них формирует интеркаляционный “карман” для 4-амино-5-гидроксиметил-2-пиримидинового кольца ThDP, а другой – более широкий “карман” для ионов двухвалентного металла и молекул воды, призванных обеспечить связывание пирофосфатного хвоста. Центральное тиазоловое кольцо молекулой мРНК не распознается [74].

### 3.3. Биосинтез ThTP.

Имеющиеся в настоящее время сведения о механизмах биосинтеза ThTP противоречивы и порой взаимоисключают друг друга, так что ситуация в решении данного вопроса выглядит довольно запутанной.

Оригинальный механизм биосинтеза ThTP был предложен в 1964 г. Eckert и Möbus [76], которые проводили эксперименты на экстрактах из спинного мозга свиньи. Фермент, катализирующий фосфорилирование ThDP в реакции  $\text{ThDP} + \text{ATP} \leftrightarrow \text{ThTP} + \text{ADP}$ , получил название ThDP-киназа (ThDP:ATP

фосфотрансфераза, КФ 2.7.4.15). Itokawa и Cooper [77], изучая распределение ThDP-киназы в субклеточных фракциях мозга крысы, пришли к заключению о митохондриальной локализации этого фермента.

В 1977 г. Ruenwongsa и Cooper [78] обнаружили ThDP-киназную активность не в субклеточных частицах, а в цитозольной фракции печени крысы, при этом оказалось, что вторым субстратом реакции служит не свободный, а белковосвязанный эндогенный ThDP. Довольно странная цифра приведена для количества синтезированного супернатантом ThTP – 21,2 нмоль•мг<sup>-1</sup> белка. В связи с этим можно лишь отметить, что общее содержание ThDP, примерно 1/3 которого протеинизирована (в основном в составе ThDP-зависимых ферментов), в печени крысы составляет всего 0,117-0,155 нмоль•мг<sup>-1</sup> белка [79].

В 1982-1983 гг. были опубликованы результаты очистки ThDP-киназы из ацетонового порошка митохондриальной фракции головного мозга быка [80, 81]. Фермент катализировал реакцию белок-ThDP + АТР ↔ белок-ThTP + АDР, проявляющую абсолютную зависимость от ионов двухвалентных металлов и присутствия низкомолекулярного кофактора, источником которого служила отфильтрованная цитозольная фракция из печени крысы. Белковосвязанный ThDP – субстрат для определения активности – также выделяли из цитозоля печени крысы.

Для идентификации макромолекулярного субстрата ThDP-киназы Воскобоев и Черникевич [82] провели специальное исследование, результаты которого показали, что единственным белком, связывающим ThDP в гиалоплазме клеток печени крысы, является ТК, и, по крайней мере, в печени этот фермент не может служить субстратом для биосинтеза ThTP.

Препараты ThDP-киназы, использующей в качестве субстрата свободный ThDP, были получены из цитозоля печени крысы [83] и пивных дрожжей *S. carlsbergensis* [84]. Оба белка проявляли кинетические свойства, характерные для аллостерических ферментов. При гель-хроматографии фермент из дрожжей элюировался двумя пиками, соответствовавшими м.м. 162 кДа и 81 кДа, что может указывать на его принадлежность к ассоциирующим-диссоциирующим ферментным системам. По данным электрофореза в ПААГ м.м. субъединиц дрожжевой ThDP-киназы равны 12,5 кДа и 14 кДа.

В 1985 г. Kouyama et al. [85] частично очистили (в 150 раз) ThDP-киназу из цитозольной фракции головного мозга морской свинки. Фермент проявлял абсолютную зависимость от ионов Mg<sup>2+</sup> и низкомолекулярного термостабильного кофактора, несколько позднее идентифицированного как креатин [86]. Было показано, что ThDP-киназа локализована в цитозольной фракции клетки и широко распространена в органах и тканях, причем самая высокая активность наблюдалась в скелетных мышцах. Фермент обладал низким кажущимся сродством к ThDP ( $K_M = 1,11$  мМ) и высоким к АТР ( $K_M = 10$  мкМ) [85]. Впоследствии, однако, выяснилось, что при очистке цитозольной ThDP-киназы из мышцы свиньи по мере удаления креатинкиназы потребность в креатине в качестве кофактора для синтеза ThTP отпадает. Очищенный в 68,2 раза электрофоретически гомогенный белок катализировал реакцию ThDP + АDР ↔ ThTP + АМР. Таким образом, ThTP-синтезирующий фермент был идентифицирован как изофермент 1 аденилаткиназы (АК1) (КФ 2.7.4.3).

По мнению Miyoshi et al. [87] и Shioda et al. [88], основная масса ThTP в мышцах синтезируется именно под действием АК1. Однако исследования, проведенные на АК-дефицитных (knockout) химерных мышцах, противоречат данной точке зрения, поскольку органы и ткани контрольных животных и мышей, у которых ген АК1 “выключен” в результате генетических манипуляций, не различаются по содержанию ThTP [89]. Эксперименты на АК-термочувствительных клетках *E. coli* (штамм CV2) также показали, что при 37°C в минимальной среде в присутствии глюкозы количество синтезированного бактериями ThTP достигает 0,25 нмоль•мг<sup>-1</sup> белка несмотря на полную инактивацию АК [90]. Исходя из этого, участие АК1 в биосинтезе ThTP *in vivo* представляется весьма сомнительным.

#### 4. ФЕРМЕНТЫ ГИДРОЛИЗА ФОСФОРНЫХ ЭФИРОВ ТИАМИНА.

##### 4.1. Гидролиз ThTP.

Ещё в начале 1970-х было установлено, что ThTPазная активность гомогенатов различных органов и тканей крысы обусловлена аддитивным действием двух фосфатаз, отличающихся рН-оптимумами и локализацией во внутриклеточных структурах [91, 92]. В соответствии со способностью экстрагироваться водными буферными растворами эти ферменты получили названия “растворимой” и “мембрано-ассоциированной” ThTPаз.

Растворимая цитозольная ThTPаза (КФ 3.6.1.28) была впервые очищена из головного мозга быка в 1992 г. [93]; спустя 9 лет были описаны свойства гомогенного фермента из почек [94]. ThTPаза быка –  $Mg^{2+}$ -зависимый белок, проявляющий максимальную активность в щелочной области рН (рН-оптимум 8,9), абсолютную специфичность и высокое сродство к субстрату ( $K_M = 43-46$  мкМ). В настоящее время осуществлено клонирование ThTPазы нескольких видов животных и сверхэкспрессия фермента человека в *E. coli* [95, 96]. Ферменты различных видов отличаются друг от друга по количеству аминокислотных остатков в полипептидной цепи (от 218 у быка до 229 у человека) и каталитическим свойствам (значение  $K_M$  варьирует в пределах 16-126 мкМ). Трёхмерное строение ThTPазы мыши установлено методом ЯМР [97].

Растворимая ThTPаза широко представлена в тканях млекопитающих, однако данный фермент не обнаружен у представителей других классов живых организмов [3, 95, 98]. Вместе с СуаВ-подобной аденилатциклазой ThTPаза входит в суперсемейство белков, содержащих СУТН домен, общий эволюционный предок которых, по-видимому, участвовал в метаболизме нуклеотидов и органических полифосфатов [99].

Анализ аминокислотной последовательности растворимой ThTPазы указывает на наличие в её структуре потенциальных сайтов для посттрансляционных модификаций, в т. ч. участков фосфорилирования [95]. Экспериментально было установлено, что рекомбинантная ThTPаза человека фосфорилируется казеинкиназой-2 *in vitro* [100]. Обратимое фосфорилирование, вероятно, служит основным механизмом регуляции активности этого фермента и одной из причин существования его множественных форм в почках быка [101].

Недавно была идентифицирована митохондриальная изоформа растворимой ThTPазы [102, 103]. Этот факт наряду с данными по распределению ThTP во внутриклеточных структурах [60] свидетельствует о компартментации метаболизма ThTP.

В отличие от растворимого фермента, ThTPаза, локализованная в мембранах клеток животных, проявляет максимальную активность при нейтральных или слабнокислых значениях рН [91, 104, 105]. По данным Barchi и Braun [91], фермент ядерной фракции из мозга крысы активируется катионами двухвалентных металлов, такими как  $Mg^{2+}$  или  $Ca^{2+}$ , и обладает низким кажущимся сродством к ThTP ( $K_M = 1,5$  мМ). Вопрос о специфичности этой фосфатазы остается открытым, поскольку ее даже не удалось солиubilизировать из мембран.

Характерное свойство мембрано-связанных ThTPаз мышц крысы и электрического органа электрического угря (*Electrophorus electricus*) состоит в их высокой чувствительности к моновалентным анионам, обладающим выраженным эффектом активации [104, 106]. Идентификация продуктов реакции, катализируемой мембранами из электрического органа, свидетельствует о протекании каскадной реакции дефосфорилирования ThTP до тиамина [105]. Солиubilизированная при помощи детергентов ThTPаза *E. electricus* отличалась низкой стабильностью. Дезинтеграция также приводила к заметным изменениям её кинетических свойств [107].

Фермент, катализирующий гидролиз ThTP в экстрактах из листьев петрушки, очищен до гомогенного состояния и идентифицирован как неспецифичная кислая фосфатаза [108]. Это гетеродимерный белок с м.м. субъединиц 62,9 кДа и 53,5 кДа.  $K_M$  фермента для ThTP составляет 49,8 мкМ, рН-оптимум – 4,0-4,5.

В клетках *E. coli* гидролиз ThTP предположительно осуществляется мембрано-связанной NTPазой [109], хотя вероятно и участие других неспецифичных фосфатаз, локализованных в цитозоле [3].

Помимо рассмотренных выше ферментов, ThTPазной активностью обладают миозин [110] и щелочная фосфатаза [111], однако можно с уверенностью говорить о том, что данные белки не имеют отношения к регуляции метаболизма ThTP в клетке.

#### 4.2. Гидролиз ThDP.

В тканях крысы идентифицированы два типа ThDPазы, которые обладают широкой субстратной специфичности и обозначаются как NDPаза В-типа (brain) и NDPаза L-типа (liver) [112].

NDPаза В-типа, очищенная до гомогенного состояния из мембран головного мозга крысы, имеет м.м. 75 кДа и катализирует гидролиз ThDP ( $K_m = 0,66$  мМ), GDP, UDP, CDP и IDP [113]. В присутствии катионов  $Mg^{2+}$  и с ThDP в качестве субстрата фермент проявлял максимальную активность при pH 6,0-6,5; ATP, ADP и пиридоксаль-5'-фосфат ингибировали его ThDPазную активность по конкурентному типу [112, 113].

Было показано, что NDPаза L-типа по свойствам идентична микросомальной NDPазе из печени быка [114]. Это белок с м.м. 130-140 кДа, построенный из двух идентичных субъединиц. При нейтральных pH NDPаза L-типа проявляла слабую ThDPазную активность ( $\approx 4\%$  по сравнению с IDP [112]). ThDPазная активность фермента максимальна при pH 8,8-9,0 и сильно возрастает под влиянием ATP.

При изоэлектрофокусировании (ИЭФ) частично очищенных препаратов из мозга крысы обнаружено 9 изоформ NDPазы В-типа, pI которых варьировали от 5,4 до 7,1; фермент L-типа давал только одну полосу, соответствовавшую pI 4,6 [112].

Sano et al. [115] исследовали локализацию NDPаз В- и L-типов в гепатоцитах крысы. В результате ИЭФ ThDPазная активность экстракта аппарата Гольджи разделялась на 6 полос с pI между 5,4 и 6,3. Частично очищенный фермент проявлял свойства, характерные для В-типа NDPазы головного мозга в отношении субстратной специфичности, pH-оптимума и ингибирования ATP. В то же время при ИЭФ солиubilизированной микросомальной фракции и последующем прокрашивании геля при pH 7,2 с IDP выявлялась лишь одна полоса активности (pI 4,6), которая, однако, не детектировалась, если в качестве субстрата применяли ThDP. Эти результаты позволили заключить, что NDPаза В-типа локализована в аппарате Гольджи, а фермент L-типа – в эндоплазматическом ретикулуме. Данный вывод подтверждается гистохимическими исследованиями [116].

Однако тот факт, что ThDPазная активность достаточно равномерно распределена во фракциях субклеточных частиц из мозга [117, 118] и выявляется гистохимически в различных мембранных структурах [119], не может найти адекватного объяснения, если предполагать, что в клетке присутствуют только NDPазы В- и L-типов. Действительно, Cooper и Kini [118] описали частичную очистку ThDPазы из микросом мозга кролика, которая, в отличие от NDPазы L-типа, катализовала гидролиз ADP. Еще одна ThDPаза, растворимая в 0,5 М NaCl, была очищена в 1043 раза из мозга овцы [120]. Этот фермент, как и NDPаза В-типа, проявляет pH-оптимум при pH 6,0, но в отличие от последней характеризуется высокой ADPазной активностью. Barile et al. [65] с помощью титрования дигитонином показали, что растворимый фермент с ThDPазной активностью локализован в матриксе митохондрий из печени крысы.

#### 4.3. Гидролиз ThMP.

ThMP гидролизует до тиамин под действием мембрано-связанных фосфатаз, активность которых обнаружена в мозге и других органах млекопитающих [119, 121]. Эти ферменты, вероятно, не обладают избирательностью к ThMP; по крайней мере, в настоящее время нет никаких данных, которые могли бы указать на существование специфичной ThMPазы.

По данным ультрацитохимического окрашивания срезов головного мозга крысы при pH 9,2 ThMPазная активность локализована в плазмалемме нейронов, синаптических мембранах и везикулах, пиноцитозных везикулах, апикальной и

базальной мембранах эндотелия капилляров [122]. При pH 5,5 ThМРаза визуализируется в плазматической мембране центральных окончаний сенсорных нейронов ганглий дорсальных корешков, очерчивая *substantia gelatinosa* по всей длине спинного мозга [119]. Эта специфическая локализация ThМРаза идентична локализации фторидустойчивой нелизосомальной кислой фосфатазы [123]. Кроме того, позитивная реакция имеет место в цистернах эндоплазматической сети и ретикулярной части аппарата Гольджи перикариона, откуда траффик фермента осуществляется в аксональные окончания [119, 123]. Фторидустойчивая “кислая ThМРаза” не выявляется цитохимически в структурах головного мозга. Следовательно, “кислая” ThМРазная активность, обнаруживаемая во фракции глиальных клеток, но не нейронов, выделенных из головного мозга крысы [124], должна быть обусловлена действием другой фосфатазы.

### 5. Аденилированный ThTP.

Недавно в биологических объектах идентифицировано новое производное тиамин – AThTP [4] (рис. 2). Биосинтез AThTP в бактериях и клетках млекопитающих осуществляется из ADP(ATP) и ThDP под действием растворимого фермента, который проявляет абсолютную зависимость от катионов двухвалентных металлов ( $Mn^{2+}$  или  $Mg^{2+}$ ) и присутствия низкомолекулярного активатора [125].  $K_M$  ThDP-аденилилтрансферазы для ThDP составляет 7,1 мМ,  $S_{0,5}$  для ADP – 0,08 мМ. В катаболизме AThTP участвует мембрано-связанная гидролаза, расщепляющая его до ThDP и AMP [4]. Тот факт, что у *E. coli* AThTP синтезируется в больших масштабах лишь при определенных обстоятельствах, например, на фоне углеродного голода, быстро исчезая при внесении в культуральную среду подходящего источника углерода, может указывать на участие данного соединения в каком-то пока еще неизвестном регуляторном процессе. Нельзя также исключать и такой вариант, что AThTP служит формой сохранения ThDP (и AMP) в периоды, когда процессы распада превалируют над конструктивным метаболизмом.

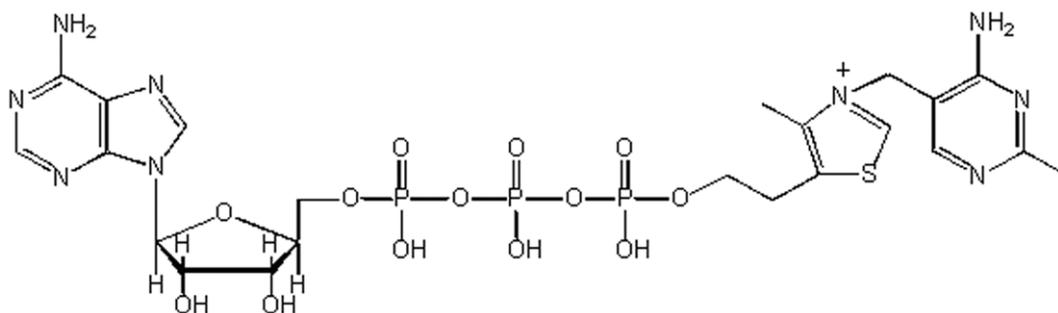


Рис. 2.  
Структурная формула AThTP.

## 6. БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ ВИТАМИНА В<sub>1</sub>.

### 6.1. Коферментная функция ThDP.

Коферментная функция тиамин была открыта в 1937 г., когда Lohmann и Schuster [126] обнаружили, что ThDP является кофактором окислительного декарбоксилирования пирувата дрожжевой пируватдекарбоксилазой (КФ 4.1.1.1). На сегодня известно 28 ThDP-зависимых фермента с присвоенными индивидуальными шифрами ([www.expasy.ch](http://www.expasy.ch)); 4 из них занимают важные позиции в промежуточном обмене. Это пируватдегидрогеназа (КФ 1.2.4.1),  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназа (КФ 1.2.4.2) и дегидрогеназа  $\alpha$ -кетокислот с разветвленной цепью (КФ 1.2.4.4), которые входят в состав локализованных в

## ВИТАМИН В<sub>1</sub>: МЕТАБОЛИЗМ И ФУНКЦИИ

митохондриях эукариотных клеток и цитозоле прокариот дегидрогеназных мультиферментных комплексов, а также цитозольная ТК.

ПДГК, содержащий помимо пируватдегидрогеназы (E1) ещё два каталитических компонента, дигидролипоил-ацетилтрансферазу (E2) (КФ 2.3.1.12) и дигидролипоилдегидрогеназу (E3) (КФ 1.8.1.4) катализирует окислительное декарбоксилирование пирувата с образованием ацетил-КоА и таким образом обеспечивает вхождение в цикл Кребса продуктов многих специфических путей катаболизма сахаров и аминокислот. Реакция образования ацетил-КоА является ключевой для всего метаболизма, и поэтому активность ПДГК находится под строгим контролем [127, 128]. Мутация ПДГК, выражающаяся в замене *Arg-263* на *Gly* в E1 $\alpha$ -субъединице, является одной из причин подострой некротизирующей энцефалопатии (болезнь Лея). Поскольку ген E1 $\alpha$ -субъединицы локализован в X-хромосоме, синдром Лея, связанный с дефектом ПДГК, представляет собой сцепленное с полом заболевание [129].

Структурно-функциональная организация ПДГК млекопитающих детально изучена. Известно, что 60 субъединиц E2 формируют его сердцевину, с которой связаны 30  $\alpha_2\beta_2$ -гетеротетрамерных молекул E1 и 12  $\alpha_2$ -гомодимерных молекул E3. Активные центры всех субъединиц комплекса плотно “пригнаны” друг к другу в местах контакта, что обеспечивает эффективное протекание последовательности катализируемых реакций [130, 131].

ОГДГК – один из регуляторных ферментов цикла Кребса – и дегидрогеназный комплекс  $\alpha$ -кетокислот с разветвленной цепью, участвующий в катаболизме валина, лейцина и изолейцина, построены сходным образом, но различаются количеством субъединиц. Кроме того, E1-компонент ОГДГК представляет собой  $\alpha_2$ -гомодимер [127, 132, 133]. Нарушения активности дегидрогеназного комплекса  $\alpha$ -кетокислот с разветвленной цепью вследствие разнообразных мутаций в его каталитических компонентах лежат в основе аутосомного рецессивного заболевания, известного как “моча с запахом кленового сиропа” (MSUD) [132]. Интересно отметить, что при тиамин-зависимой форме MSUD мутациями затронуты не E1 $\alpha$  или E1 $\beta$ , а E2 субъединицы комплекса [134].

ТК – ключевой фермент неокислительной ветви пентозофосфатного пути и фотосинтеза – переносит двухуглеродные фрагменты с кето- на альдосахара. Метаболическая роль ТК заключается в том, что она обратимо связывает гликолиз с пентозофосфатным путем. У фотосинтезирующих организмов ТК обеспечивает взаимодействие цикла Кальвина с метаболизмом углеводов, с одной стороны, и анаболическими путями, ведущими к образованию нуклеиновых кислот, аминокислот и их многочисленных производных – с другой [135]. В геноме человека помимо гена ТК (*TKT*) выявлено еще 2 транскетолазоподобных гена (*TKTL1* и *TKTL2*). Согласно одной из гипотез, повышенная экспрессия *TKTL1* имеет прямое отношение к канцерогенезу [136].

В 1999 г. в печени крысы открыт новый ThDP-зависимый фермент – 2-гидроксифитаноил-КоА-лиаза (не внесён в Список ферментов). Этот фермент, локализованный в пероксисомах, осуществляет расщепление С-С связи в процессе  $\alpha$ -окисления 3-метил жирных кислот [137].

В клетках эубактерий, зеленых водорослей и хлоропластах растений экспрессируется 1-дезоксид-Д-ксилоулозо-5-фосфатсинтаза (КФ 2.2.1.7), катализирующая образование этого продукта из пирувата и глицеральдегид-3-фосфата на пути ацетат/мевалонат-независимого биосинтеза изопентенилдифосфата – общего метаболического предшественника всех изопреноидов [138]. Кроме того, 1-дезоксид-Д-ксилоулозо-5-фосфат участвует в биосинтезе витаминов В<sub>1</sub> и В<sub>6</sub> [139, 140].

Такие ферменты, как сульфиацетальдегидсульфо-лиаза (КФ 2.3.3.15) [141], фосфокетолаза (КФ 4.1.2.9) [142], бензоилформатдекарбоксилаза (КФ 4.1.1.7) [143], ацетолактат-синтаза (КФ 2.2.1.6) [144] и пируватоксидаза (КФ 1.2.2.2) [145] выполняют специализированные функции в метаболических путях определенных групп организмов, преимущественно бактерий.

В настоящее время клонированы кДНК практически всех известных ThDP-зависимых ферментов. Для многих из них методом рентгеноструктурного анализа получена трёхмерная структура [146-156].

## 6.2. Некоферментная функция тиамин.

### 6.2.1. Специфическая функция тиамин в нервной ткани.

В 1938 г. Minz [157] обнаружил, что тиамин высвобождается в инкубационную среду при электростимуляции изолированного блуждающего нерва быка. Это наблюдение послужило основой для гипотезы об особой роли витамина В<sub>1</sub> в нервной проводимости, которая не связана с его метаболической функцией в качестве кофактора ThDP-зависимых ферментов [158]. Позднее данный феномен, казалось, нашел новые подтверждения, при этом из экспериментов следовало, что выход тиамин сопряжен с гидролизом его фосфорных эфиров [159, 160]. Одновременно появились сообщения об эффектах пиритиамин *in vitro* на скорость роста потенциала действия и время реполяризации в перехвате Ранвье изолированного седалищного нерва лягушки [161]. Кроме того, электрофизиологические опыты указывали на способность тиамин частично восстанавливать потенциал действия в облученном УФ светом блуждающем нерве кролика [162]. Исходя главным образом из этих фактов, было сформировано представление об участии тиамин в регуляции проницаемости возбудимых мембран для ионов Na<sup>+</sup>.

Вера в существование специфической функции витамина В<sub>1</sub> в нервной ткани окрепла в еще большей степени, когда Itokawa и Cooper [163, 164] опубликовали результаты экспериментов по высвобождению тиамин, сопровождавшемся гидролизом его фосфорных эфиров, из интактных нервных волокон и мембранных фрагментов под действием нейроактивных соединений, таких как тетродотоксин (ТТХ), ацетилхолин (АХ) и уабаин. Эта гипотеза об участии тиамин в проведении нервного импульса все еще обсуждается в научной литературе [165-168]. Однако, несмотря на внешнюю привлекательность, её неадекватность достаточно очевидна. Некоторые из упомянутых выше фактов не подтвердились другими исследователями, иные нашли объяснение вне рамок рассматриваемой гипотезы. Так, например, Fox [169] не обнаружил восстановления потенциала действия в перехватах Ранвье облучённых УФ светом волокон из нервов лягушки. Verman и Fishman [170] не наблюдали высвобождения тиамин срезами коры головного мозга крысы под влиянием электрической стимуляции, ТТХ, АХ и уабаина. Точно также, ни деполяризация, ни ТТХ не оказывали эффекта на высвобождение витамина В<sub>1</sub> в возбудимых клетках нейробластомы [171]. Следует отметить, что пиритиамин и другие антиметаболиты, влияющие на электрические характеристики изолированных нервов и нейрональных клеток, проявляют своё действие лишь при миллимолярных концентрациях [165, 172], при этом проводимость мембраны может изменяться как для ионов Na<sup>+</sup>, так и K<sup>+</sup>. Исходя из того, что концентрация свободных производных витамина В<sub>1</sub> (не связанных с белками) в нервной ткани как минимум на два порядка ниже, едва ли можно говорить о каком-либо их физиологическом значении для нервной проводимости. По мнению Goldberg et al. [172], антагонисты тиамин неспецифическим образом стабилизируют аксональную мембрану. К числу других представлений относительно возможного механизма действия антагонистов на возбудимые мембраны относятся результаты, полученные Matsuda et al. [173], которые свидетельствуют о специфичном ингибировании Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-АТФазы пиритиамином.

Альтернативная гипотеза о том, что витамин В<sub>1</sub> принимает участие не в распространении импульса, а в передаче возбуждения в холинергических синапсах, была предложена Eder et al. [174], обнаружившими влияние тиамин и окситиамин на амплитуду и продолжительность потенциала в электрических пластинках электрического органа *Torpedo marmorata*. Важно отметить, что действие тиамин зависело от концентрации: относительно низкие его концентрации (1 мМ) вызывали усиление электрического разряда, тогда как в концентрации 10 мМ тиамин снижал разряд. Аналогичные разнонаправленные эффекты наблюдались при исследовании передачи импульса в нервно-мышечных

соединениях. Так, Romanenko [175] обнаружил потенцирование действия АХ тиамином. По данным же Enomoto и Edwards [176], тиамин блокирует нервно-мышечную передачу. В связи с этим интересно, что в своё время препараты тиамин (в высоких дозах) даже предлагалось использовать для анестезии [177].

Вероятно, существует простое и рациональное объяснение этих и многочисленных других [178] противоречий. Всё может легко объясняться двумя причинами – способностью молекулы тиамин подобно АХ связываться с АХ-рецептором и свойствами самого рецептора. Действительно, Waldenlind et al. [179] показали, что тиамин взаимодействует с изолированным из *T. marmorata* АХ-рецептором ( $K_d = 30-50$  мкМ). Главная проблема, однако, состоит в том, насколько специфично это взаимодействие. При ближайшем рассмотрении периферических миорелаксантов, вне зависимости от того, обладают ли они деполаризующим (дитилин) или курареподобным механизмом действия (d-тубокурарин, диплацин, павулон, анатруксоний), оказывается, что единственный совершенно необходимый для их активности элемент структуры – два атома четвертичного азота, находящиеся друг от друга на расстоянии 1,4-1,5 нм. Именно благодаря этим атомам названные вещества конкурируют с АХ за участки связывания [180, 181]. По-видимому, способность тиамин связываться с рецептором также определяется наличием в его молекуле катионного центра – четвертичного азота тиазола. С другой стороны, сам рецептор при длительном действии высоких концентраций АХ переходит в инактивированное состояние и в дальнейшем не открывается даже в его присутствии [182]. Отсюда можно ожидать, что в зависимости от концентрации тиамин и его аналоги способны оказывать противоположные эффекты, взаимодействуя с участками связывания АХ на рецепторе. Исходя из сказанного, наличие у тиамин специфической нейротрансмиттерной функции также представляется весьма проблематичным.

Помимо специфических некоферментных функций тиамин в нервной ткани, рассматриваются и другие возможные механизмы его участия во внутриклеточных процессах. Было, например, показано, что молекула тиамин может служить ловушкой пероксинитрита, защищая тем самым тирозиновые остатки белков от инактивации (нитрования) [183]. Более того, тиамин способен высвобождать NO из его эндогенных депо, таких как S-нитрозоглутатион, или восстанавливать до NO нитриты. Всеми этими свойствами тиамин, могут объясняться его вазопротекторные эффекты при диабете и атеротромбозе [184].

#### 6.2.2. Биологическая роль ThTP.

В 1969 г. Cooper et al. [185] высказали мысль о том, что нейроактивной формой витамина В<sub>1</sub> является ThTP. Развивая эту идею, Schoffeniels [186] предложил модель, в которой ThTP отводилась роль регулятора Na<sup>+</sup>-канала аксональной мембраны. Однако, как обсуждалось выше, предположения о взаимосвязи между тиамином и Na<sup>+</sup>-каналом едва ли имеют под собой серьёзную почву. Тиаминфосфаты действительно были обнаружены в частично очищенном препарате Na<sup>+</sup>-канала из электрического органа *E. electricus* [187], но при дальнейшей очистке выяснилось, что фосфорилированные производные тиамин имеют иное место локализации [171]. В связи с этим удивительно, что в учебнике по нейрохимии “Basic Neurochemistry: molecular, cellular and medical aspects”, изданном в 1999 г. [188], об участии ThTP в регуляции Na<sup>+</sup>-канала говорится как о почти общепризнанном научном факте. Между тем, существует единственная экспериментальная работа, в которой было продемонстрировано влияние тиаминфосфатов на электрические характеристики аксональной мембраны: Fox и Dupprel [189] в 1975 г. показали, что ThTP и ThDP в концентрации 2 мМ предотвращают экспоненциальное затухание натриевых и калиевых токов в перехвате Ранвье волокон из седалищного нерва лягушки *Rana esculenta*, при этом наблюдаемый эффект, по мнению авторов, обусловлен стабилизацией тиаминфосфатами электрического поля мембраны в состоянии покоя. Здесь необходимо отметить, что в клетке столь высокая концентрация

исследуемых соединений в физиологических условиях не может быть достигнута ни при каких обстоятельствах.

Yamashita et al. [190] методом микродиализа *in vivo* обнаружили высвобождение дофамина под влиянием ThTP в присутствии ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в стриатуме мозга крысы. Опять же, заметный эффект наблюдался лишь при концентрации ThTP  $> 0,1$  мМ. Поскольку высвобождение дофамина – процесс, опосредуемый током ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в клетку через потенциалзависимый  $\text{Ca}^{2+}$ -канал N-типа, а ThTP проявлял свое действие при инактивации этого канала  $\omega$ -конотоксином, очевидно, что в данном случае имеет место неспецифическая активация АТР-связывающего  $\text{P}_2$ -пуринорецептора, сопряженного с ионным каналом, проницаемым для ионов  $\text{Ca}^{2+}$ .

В экспериментах с мембранными везикулами (грубая ядерная и синаптосомальная фракции) из головного мозга крысы Bettendorff et al. [191, 192] выявили взаимосвязь между ThTP и транспортом ионов хлора. Исследование механизма транспорта показало, что он осуществляется через потенциалзависимый анионный канал [193, 194]. Этот канал обладал необычно высокой проводимостью (350-400 пС), низкой селективностью к анионам ( $\text{P}_{\text{Cl}}/\text{P}_{\text{глюконат}} = 3$ ) и продолжительным временем пребывания в открытом состоянии – свойствами, которые характерны для макси-Cl-каналов, обнаруженных в клетках различной специализации. Тот факт, что активация канала под влиянием ThTP наблюдалась в среднем лишь через 4 мин, а после удаления субстрата канал оставался открытым, может свидетельствовать о его фосфорилировании. В связи с этим интерес представляют данные о фосфорилировании *in vitro* рапсина – белка постсинаптической мембраны нервно-мышечного соединения – эндогенной протинкиназой, способной использовать в качестве субстрата ThTP [195].

Таким образом, имеются указания на участие ThTP в активации макси-Cl-канала плазматических мембран нервных клеток путем фосфорилирования. С другой стороны, существуют данные, свидетельствующие о том, что в клетках нейробластомы C1300 мышцы в фосфорилированном состоянии макси-Cl-канал закрыт, а его активация сопряжена с дефосфорилированием PP2A-подобной фосфатазой; в данном случае роль ThTP в качестве возможного модулятора активности канала не рассматривается вообще [196].

Если все же ThTP активирует макси-Cl-канал, является ли эта функция единственной? По всей видимости – нет. Широкое распространение ThTP в организмах различных уровней сложности – от бактерий до млекопитающих, указывает на его фундаментальную роль в биологии клетки, не связанную с явлениями биоэлектрогенеза [3]. Недавно в экспериментах на относительно простых объектах, таких как *E. coli* и листья резуховидки Таля (*Arabidopsis thaliana*), выявлен динамический характер изменений внутриклеточной концентрации ThTP в зависимости от физиологического состояния организма. Так, в клетках *E. coli* практически невозможно обнаружить данное соединение при выращивании культуры в LB-среде в присутствии кислорода. В то же время, резкий подъем уровня ThTP наблюдался в условиях энергодифицита при анаэробном культивировании, а также при переносе культуры из богатой питательной среды в минимальную, содержащую глюкозу или некоторые другие источники углерода [3, 197]. В листьях *A. thaliana* содержание ThTP возрастает при высушивании, достигая максимума через 2 ч после извлечения растения из почвы. В таких условиях устьица закрываются из-за потери влаги, что приводит к гипоксии вследствие нарушения газообмена [198]. После того, как растение вновь высаживали в почву и обильно поливали, восстанавливая тургор листьев, концентрация ThTP возвращалась к исходному (практически нулевому) значению. Результаты этих экспериментов позволили сформулировать гипотезу об участии ThTP в адаптации к действию стрессорных факторов [199]. В рамках этой гипотезы возникает ряд концептуальных вопросов, касающихся специфики метаболизма ThTP у различных филогенетических форм, эволюции ферментных

## ВИТАМИН В<sub>1</sub>: МЕТАБОЛИЗМ И ФУНКЦИИ

систем, обеспечивающих его биосинтез и деградацию, регуляторных механизмов контроля внутриклеточного уровня и их совершенствования в ходе исторического процесса видообразования. Можно надеяться, что дальнейшие исследования в указанных направлениях позволят найти ответ на самый главный вопрос – каковы же молекулярные механизмы участия ThTP в процессах жизнедеятельности.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Хотя фосфорные эфиры тиамин – ThMP, ThDP и ThTP – являются универсальными компонентами клеток разных типов, в настоящее время известна лишь функция ThDP, выступающего в качестве кофактора более чем 25 ферментов. Биологическое значение ThMP и ThTP все еще остается предметом дискуссий.

С начала 1970-х годов ThTP рассматривался как носитель особой некоферментной функции тиамин в мембранах возбудимых тканей. Однако результаты последних исследований, продемонстрировавших, что концентрация ThTP в различных клетках возрастает под действием стрессорных факторов, указывают на его фундаментальную роль в процессах жизнедеятельности, возможно, связанную с молекулярными механизмами адаптации. Совсем недавно в объектах живой природы было идентифицировано ранее неизвестное производное тиамин – AThTP, биосинтез которого в бактериях запускается в ответ на углеродный голод. Эти новые данные могут служить свидетельством многогранности функций тиамин, подчеркивая ограниченность существующих сегодня взглядов на его биологическую роль.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Haas R.H. (1988) *Ann. Rev. Nutr.*, **8**, 483-515.
2. Jansen B.C.T., Donath W.F. (1926) *Proc. Kon. Ned. Acad. Wet.*, **29**, 1390.
3. Makarchikov A.F., Lakaye B., Gulyai I.E., Czerniecki J., Coumans B., Wins P., Grisar T., Bettendorff L. (2003) *Cell. Mol. Life Sci.*, **60**, 1477-1488.
4. Bettendorff L., Witzerschild B., Makarchikov A.F., Mazzucchelli G., Frédéricich M., Gigliobianco T., Gandolf M., De Pauw E., Angelot L., Wins P. (2007) *Nat. Chem. Biol.*, **3**, 211-212.
5. Nosaka K. (2006) *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **72**, 30-40.
6. Spenser I.D., White R.L. (1997) *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **36**, 1032-1046.
7. Rodionov D.A., Vitreschak A.G., Mironov A.A., Gelfand M.S. (2002) *J. Biol. Chem.*, **277**, 48949-48959.
8. Rindi G., Laforenza U. (2000) *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **224**, 246-255.
9. Said H.M., Ortiz A., Subramanian V.S., Neufeld E.J., Moyer M.P., Dudeja P.K. (2001) *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, **281**, G144-G150.
10. Laforenza U., Orsenigo M. N., Rindi G. (1998) *J. Membrane Biol.*, **161**, 151-161.
11. Casirolo D., Patrini C., Ferrari G., Rindi G. (1990) *J. Membrane Biol.*, **118**, 11-18.
12. Said H.M., Reidling J.C., Ortiz A. (2002) *Biochim. Biophys. Acta*, **1567**, 106-112.
13. Grassl S.M. (1998) *Biochim. Biophys. Acta*, **1371**, 213-222.
14. Gastaldi G., Cova E., Verri A., Laforenza U., Faelli A., Rindi G. (2000) *Kidney Int.*, **57**, 2043-2054.
15. Gusaro G., Rindi G., Sciorelli G. (1977) *Int. J. Vit. Nutr. Res.*, **47**, 99-106.
16. Yoshioka K. (1984) *Biochim. Biophys. Acta*, **778**, 201-209.
17. Patrini C., Reggiani C., Laforenza U., Rindi G. (1988) *J. Neurochem.*, **50**, 90-93.
18. Zhao R., Gao F., Goldman I.D. (2002) *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, **282**, C1512-C1517.
19. Rajgopal A., Edmondson A., Goldman I.D., Zhao R. (2001) *Biochim. Biophys. Acta*, **1537**, 175-178.
20. Dutta B., Huang W., Molero M., Kekuda R., Leibach F.H., Devoe L.D., Ganapathy V., Prasad P.D. (1999) *J. Biol. Chem.*, **274**, 31925-31929.
21. Oishi K., Hirai T., Gelb B.D., Diaz G.A. (2001) *Mol. Genet. Metab.*, **73**, 149-159.

22. *Ganapathy V., Smith S.B., Prasad P.D.* (2004) *Pflug. Arch.*, **447**, 641-646.
23. *Ashokkumar B., Vaziri N.D., Said H.M.* (2006) *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*, **291**, F796-F805.
24. *Diaz G.A., Banikazemi M., Oishi K., Desnick R.J., Gelb B.D.* (1999) *Nat. Genet.*, **22**, 309-312.
25. *Labay V., Raz T., Baron D., Mandel H., Williams H., Barrett T., Szargel R., McDonald L., Shalata A., Nosaka K., Gregory S., Cohen N.* (1999) *Nat. Genet.*, **22**, 300-304.
26. *Oishi K., Hofmann S., Diaz G.A., Brown T., Manwani D., Ng L., Young R., Vlassara H., Ioannou Y.A., Forrest D., Gelb B.D.* (2002) *Hum. Mol. Genet.*, **11**, 2951-2960.
27. *Keating E., Lemos C., Azevedo I., Martel F.* (2006) *J. Biochem. Mol. Biol.*, **39**, 383-393.
28. *Iwashima A., Nishino H., Nose Y.* (1973) *Biochim. Biophys. Acta*, **330**, 222-234.
29. *Enjo F., Nosaka K., Ogata M., Iwashima A., Nishimura H.* (1997) *J. Biol. Chem.*, **272**, 19165-19170.
30. *Webb E., Claas K., Downs D.* (1998) *J. Biol. Chem.*, **273**, 8946-8950.
31. *Hollenbach A.D., Dickson K.A., Washabaugh M.W.* (2002) *Biochim. Biophys. Acta*, **1564**, 421-428.
32. *Nosaka K., Nishimura H., Kawasaki Y., Tsujihara T., Iwashima A.* (1994) *J. Biol. Chem.*, **269**, 30510-30516.
33. *Kawasaki Y.* (1993) *J. Bacteriol.*, **175**, 5153-5158.
34. *Backstrom A.D., Austin R., McMordie S., Begley T.P.* (1995) *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 2351-2352.
35. *Mizote T., Nakayama H.* (1989) *J. Bacteriol.*, **171**, 3228-3232.
36. *Iwashima A., Nishino H., Nose Y.* (1972) *Biochim. Biophys. Acta*, **258**, 333-336.
37. *Webb E., Downs D.* (1997) *J. Biol. Chem.*, **272**, 15702-15707.
38. *Sanemori H., Egi Y., Kawasaki T.* (1976) *J. Bacteriol.*, **126**, 1030-1036.
39. *Melnick J., Lis E., Park J.H., Kinsland C., Mori H., Baba T., Perkins J., Schyns G., Vassieva O., Osterman A., Begley T.P.* (2004) *J. Bacteriol.*, **186**, 3660-3662.
40. *Imamura N., Nakayama H.* (1982) *J. Bacteriol.*, **151**, 708-717.
41. *Mitsuda H., Takii Y., Iwami K., Yasumoto K.* (1975) *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **21**, 19-26.
42. *Воскобоев А.И., Черникевич И.П.* (1987) Биосинтез, деградация и транспорт фосфорных эфиров тиамин, Наука и техника, Мн.
43. *Wakabayashi Y.* (1978) *Vitamins*, **52**, 223-228.
44. *Egi Y., Koyama S., Shioda T., Yamada K., Kawasaki T.* (1992) *Biochim Biophys Acta*, **1160**, 171-178.
45. *Nosaka K., Onozuka M., Nishino H., Nishimura H., Kawasaki Y., Ueyama H.* (1999) *J. Biol. Chem.*, **274**, 34129-34133.
46. *Zhao R., Gao F., Goldman D.* (2001) *Biochim. Biophys. Acta*, **1517**, 320-322.
47. *Nosaka K., Onozuka M., Kakazu N., Hibi S., Nishimura H., Nishino H., Abe T.* (2001) *Biochim. Biophys. Acta*, **1517**, 293-297.
48. *Timm D.E., Liu J., Baker L.J., Harris R.A.* (2001) *J. Mol. Biol.*, **310**, 195-204.
49. *Nosaka K., Kaneko Y., Nishimura H., Iwashima A.* (1993) *J. Biol. Chem.*, **268**, 17440-17447.
50. *Baker L.-J., Dorocke J. A., Harris R.A., Timm D.E.* (2001) *Structure*, **9**, 539-546.
51. *Sanemori H., Kawasaki T.* (1980) *J. Biochem.*, **88**, 223-230.
52. *Черникевич И.П., Воскобоев А.И., Островский Ю.М.* (1988) *Биохимия*, **52**, 1728-1737.
53. *Nakayama H., Hayashi R.* (1972) *J. Bacteriol.*, **109**, 936-938.
54. *Molin W.T., Fites R.C.* (1980) *Plant Physiol.*, **66**, 308-312.
55. *Liu J.Y., Timm D.E., Hurley T.D.* (2006) *J. Biol. Chem.*, **281**, 6601-6607.
56. *Mitsuda H., Takii Y., Iwami K., Yasumoto K.* (1975) *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **21**, 103-115.
57. *Onozuka M., Nosaka K.* (2003) *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **49**, 156-162.

## ВИТАМИН В<sub>1</sub>: МЕТАБОЛИЗМ И ФУНКЦИИ

58. *Deus B., Blum H.* (1970) *Biochim. Biophys. Acta*, **219**, 489-492.
59. *Shigeoka S., Onishi T., Kishi N., Maeda K., Ochi H., Nakano Y., Kitaoka S.* (1987) *Agr. J. Biol. Chem.*, **51**, 2811-2813.
60. *Bettendorff L., Wins P., Lesourd M.* (1994) *Biochim. Biophys. Acta*, **1222**, 1-6.
61. *Bettendorff L.* (1994) *Biochim. Biophys. Acta*, **1222**, 7-14.
62. *Rindi G., Comincioli V., Reggiani C., Patrini C.* (1984) *Brain Res.*, **293**, 329-342.
63. *Виноградов В.В.* (1984) Гормональные механизмы метаболического действия тиамина, Наука и техника, Мн.
64. *Barile M., Passarella S., Quagliariello E.* (1990) *Arch. Biochem. Biophys.*, **280**, 352-357.
65. *Barile M., Valenti D., Brizio C., Quagliariello E., Passarella S.* (1998) *FEBS Lett.*, **435**, 6-10.
66. *Lindhurst M.J., Fiermonte G., Song S., Struys E., De Leonardis F., Schwartzberg P.L., Chen A., Castegna A., Verhoeven N., Mathews C.K., Palmieri F., Biesecker L.G.* (2006) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 15927-15932.
67. *Dolce V., Fiermonte G., Runswick M.J., Palmieri F., Walker J.E.* (2001) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 2284-2288.
68. *Kelley R.I., Robinson D., Puffengerger E.G., Strauss K.A., Morton D.H.* (2002) *Am. J. Med. Genet.*, **112**, 318-326.
69. *Marobbio C.M., Voza A., Harding M., Bisaccia F., Palmieri F., Walker J.E.* (2002) *EMBO J.*, **21**, 5653-5661.
70. *Miranda-Rios J., Navarro M., Soberon M.* (2001) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 9736-9741.
71. *Winkler W., Nahvi A., Breaker R.R.* (2002) *Nature*, **419**, 952-956.
72. *Sudarsan N., Barrick J.E., Breaker R.R.* (2003) *RNA*, **9**, 644-647.
73. *Edwards T.E., Ferre-D'Amare A.R.* (2006) *Structure*, **14**, 1459-1468.
74. *Serganov A., Polonskaia A., Phan A.T., Breaker R.R., Patel D.J.* (2006) *Nature*, **441**, 1054-1055.
75. *Thore S., Leibundgut M., Ban N.* (2006) *Science*, **312**, 1208-1211.
76. *Eckert T., Möbus W.* (1964) *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.*, **B338**, 286-288.
77. *Itokawa Y., Cooper J.R.* (1968) *Biochim. Biophys. Acta*, **158**, 180-182.
78. *Ruenwongsa P., Cooper J.R.* (1977) *Biochim. Biophys. Acta*, **482**, p. 64-70.
79. *Iwata H., Matsuda T., Tonomura H.* (1988) *J. Chromatogr.*, **450**, 317-327.
80. *Cooper J. R., Nishino K., Nishino N., Piros K.* (1982) *Ann. NY Acad. Sci.*, **378**, 177-187.
81. *Nishino K., Itokawa Y., Nishino N., Piros K., Cooper J.R.* (1983) *J. Biol. Chem.*, **258**, 11871-11878.
82. *Воскобоев А.И., Черникевич И.П.* (1985) *БИОХИМИЯ*, **50**, 1421-1427.
83. *Воскобоев А.И., Лучко В.С.* (1980) *Вопр. мед. хим.*, **26**, 564-568.
84. *Voskoboyev A.I., Chernikevich I.P., Luchko V.S.* (1987) *Biomed. Biochim. Acta*, **46**, 3-13.
85. *Koyama S., Egi Y., Shikata H., Yamada K., Kawasaki T.* (1985) *Biochem. Int.*, **11**, 371-380.
86. *Shikata H., Koyama S., Egi Y., Yamada K., Kawasaki T.* (1986) *FEBS Lett.*, **201**, 101-104.
87. *Miyoshi K., Egi Y., Shioda T., Kawasaki T.* (1990) *J. Biochem.*, **108**, 267-270.
88. *Shioda T., Egi Y., Yamada K., Yamada M., Nakazawa A., Kawasaki T.* (1991) *Biochim. Biophys. Acta*, **1115**, 36-41.
89. *Makarchikov A.F., Wins P., Janssen E., Wieringa B., Grisar T., Bettendorff L.* (2002) *Biochim. Biophys. Acta*, **1592**, 117-121.
90. *Gigliobianco T., Lakaye B., Makarchikov A.F., Wins P., Bettendorff L.* (2008) *BMC Microbiol.*, **8**, 16.
91. *Barchi R.L., Braun P.E.* (1972) *J. Biol. Chem.*, **247**, 7668-7673.
92. *Hashitani Y., Cooper J.R.* (1972) *J. Biol. Chem.*, **247**, 2117-2119.
93. *Makarchikov A.F., Chernikevich I.P.* (1992) *Biochim. Biophys. Acta*, **1117**, 326-332.

94. Makarchikov A.F. (2001) *J. Biochem. Mol. Biol. Biophys.*, **5**, 75-82.
95. Lakaye B., Makarchikov A.F., Fernandes Antunes A., Zorzi W., Coumans B., De Pauw E., Wins P., Grisar T., Bettendorff L. (2002) *J. Biol. Chem.*, **277**, 13771-13777.
96. Lakaye B., Makarchikov A.F., Wins P., Margineanu I., Roland S., Lins L., Aichour R., Lebeau L., Moualij B.E., Zorzi W., Coumans B., Grisar T., Bettendorff L. (2004) *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, **36**, 1348-1364.
97. Song J., Bettendorff L., Tonelli M., Markley J.L. (2008) *J. Biol. Chem.*, **283**, 10939-10948.
98. Макарчиков А.Ф., Беттендорфф Л. (2005) *Новости мед.-биол. наук*, **2**, 55-60.
99. Iyer L.V., Aravind L. (2002) *BMC Genomics*, **3**, 33.
100. Lakaye B., Verlaet M., Dubail J., Czerniecki J., Bontems S., Makarchikov A.F., Wins P., Piette J., Grisar T., Bettendorff L. (2004) *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, **36**, 2032-2041.
101. Макарчиков А.Ф., Русина И.М. (2003) *Весці НАН Беларусі. Сер. мед.-біял. навук*, **4**, 76-79.
102. Русина И.М., Макарчиков А.Ф. (2003) *Укр. биохим. журнал*, **75(5)**, 6367.
103. Русина И.М., Макарчиков А.Ф. (2004) *Новости мед.-биол. наук*, **1**, 103-107.
104. Matsuda T., Tomomura H., Baba A., Iwata H. (1991) *Int. J. Biochem.*, **23**, 1111-1114.
105. Bettendorff L., Michel-Cahay C., Grandfils C., De Rycker C., Schoffeniels E. (1987) *J. Neurochem.*, **49**, 495-502.
106. Bettendorff L., Wins P., Schoffeniels E. (1988) *Biochim. Biophys. Res. Commun.*, **154**, 942-947.
107. Bettendorff L., Longree I., Wins P., Schoffeniels E. (1991) *Biochim. Biophys. Acta*, **1073**, 69-76.
108. Гуляй И.Э., Макарчиков А.Ф. (2002) *Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук*, **4**, 78-81.
109. Nishimune T., Ito S., Abe M., Kimoto M., Hayashi R. (1987) *Biochim. Biophys. Acta*, **923**, 74-82.
110. Murai A., Katsura E. (1975) *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **21**, 169-181.
111. Penttinen H.K., Uotila L. (1981) *Med. Biol.*, **59**, 177-184.
112. Sano S., Matsuda Y., Miyamoto S., Nakagawa H. (1984) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **118**, 292-298.
113. Sano S., Matsuda Y., Nakagawa H. (1988) *Eur. J. Biochem.*, **171**, 231-236.
114. Yamazaki M., Hayashi R. (1968) *J. Biol. Chem.*, **243**, 2934-2942.
115. Sano S., Matsuda Y., Nakagawa H. (1988) *J. Biochem.*, **103**, 678-681.
116. Goldfischer S., Essner E., Schiller B. (1971) *J. Histochem. Cytochem.*, **19**, 349-360.
117. Barchi R.L., Braun P.E. (1972) *J. Neurochem.*, **19**, 1039-1048.
118. Cooper J.R., Kini M.M. (1972) *J. Neurochem.*, **19**, 1809-1811.
119. Ogawa K., Sakai M. (1982) *Ann. NY Acad. Sci.*, **378**, 188-214.
120. Shetty K.T., Veeranna ?. (1991) *Neurochem. Int.*, **19**, 33-37.
121. Kiessling K.-H. (1960) *Acta Chem. Scand.*, **14**, 1669-1670.
122. Ogawa K., Ago Y., Tanaka T. (1976) in: Thiamine (Gubler C.J., Fujiwara M., Dreyfus P.M., eds.) John Wiley & Sons, pp. 179-190.
123. Knyihar-Csillik E., Bezzegh A., Boti S., Csillik B. (1986) *J. Histochem. Cytochem.*, **34**, 363-371.
124. Laforenza U., Patrini C., Rindi G. (1988) *J. Neurochem.*, **51**, 730-735.
125. Makarchikov A.F., Brans A., Bettendorff L. (2007) *BMC Biochem.*, **8**, 17.
126. Lohmann K., Schuster P. (1937) *Biochem. Z.*, **294**, 188-214.
127. Harris R.A., Hawes J.W., Popov K.M., Zhao Y., Shimomura Y., Sato J., Jaskiewicz J., Hurley T.D. (1997) *Advan. Enzyme Regul.*, **37**, 271-293.
128. Strumilo S. (2005) *Acta Biochim. Pol.*, **52**, 759-764.
129. Naito E., Ito M., Yokota I., Saou T., Matsuda J., Osaka H., Kimura S., Kuroda Y. (1997) *J. Inher. Metab. Dis.*, **20**, 539-548.
130. Reed L.J. (2001) *J. Biol. Chem.*, **276**, 38329-38336.

## ВИТАМИН В<sub>1</sub>: МЕТАБОЛИЗМ И ФУНКЦИИ

131. *Patel M.S., Korotchkina L.G.* (2003) *Biochem. Mol. Biol. Education*, **31**, 5-15.
132. *Patel M.S., Harris R.A.* (1995) *FASEB J.*, **9**, 1164-1172.
133. *Harris R.A., Joshi M., Jeoung N.H., Obayashi M.* (2005) *J. Nutr.*, **135**, 1527S-1530S.
134. *Ellerine N.P., Herring W.J., Elsas L.J.II., McKean M.C., Klein P.D., Danner D.J.* (1993) *Biochem. Med. Met. Biol.*, **49**, 363-374.
135. *Schenk G., Duggleby R.G., Nixon P.F.* (1998) *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, **30**, 1297-1318.
136. *Coy J.F., Dressler D., Wilde J., Schubert P.* (2005) *Clin. Lab.*, **51**, 257-273.
137. *Foulon V., Antonenkov V.D., Croes K., Waelkens E., Mannaerts G.P., Van Veldhoven P.P., Casteels M.* (1999) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 10039-10044.
138. *Lange B.M., Wildung M.R., McCaskill D., Croteau R.* (1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**, 2100-2104.
139. *Sprenger G.A., Schorken U., Wiegert T., Grolle S., De Graaf A.A., Taylor S.V., Begley T.P., Bringer-Meyer S., Sahm H.* (1997) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**, 12857-12862.
140. *Lois L.M., Campos N., Putra S.R., Danielsen K., Rohmer M., Boronat A.* (1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**, 2105-2110.
141. *Denger K., Ruff J., Rein U., Cook A.M.* (2001) *Biochem. J.*, **357**, 581-586.
142. *Miele L., Rohr L.M., Geissmann T., Herensperger M., Teuber M.* (2001) *J. Bacteriol.*, **183**, 2929-2936.
143. *Wilcocks R., Ward O.P., Collins S., Dewdney N.J., Hong Y., Prosen E.* (1992) *Appl. Environ. Microbiol.*, **58**, 1699-1704.
144. *Pang S.S., Duggleby R.G.* (1999) *Biochemistry*, **38**, 5222-5231.
145. *Grabau C., Cronan Jr J.E.* (1986) *Nucleic Acids Res.*, **14**, 5449-5460.
146. *Xiang S., Usunow G., Lange G., Busch M., Tong L.* (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 2676-2682.
147. *Arjunan P., Umland T., Dyda F., Swaminathan S., Furey W., Sax M., Farrenkopf B., Gao Y., Zhang D., Jordan F.* (1996) *J. Mol. Biol.*, **256**, 590-600.
148. *Hasson M.S., Muscate A., McLeish M.J., Polovnikova L.S., Gerlt J.A., Kenyon G.L., Petsko G.A., Ringe D.* (1998) *Biochemistry*, **37**, 9918-9930.
149. *Lindqvist Y., Schneider G., Ermler U., Sundström M.* (1992) *EMBO J.*, **11**, 2373-2379.
150. *Müller Y.A., Schulz G.E.* (1993) *Science*, **259**, 965-967.
151. *Li J., Wynn R.M., Machius M., Chuang J.L., Karthikeyan S., Tomchick D.R., Chuang D.T.* (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 32968-32978.
152. *Chabriere E., Charon M. H., Volbeda A., Pieulle L., Hatchikian E.C., Fontecilla-Camps J.C.* (1999) *Nat. Struct. Biol.*, **6**, 182-190.
153. *Pang S.S., Duggleby R.G., Schowen R.L., Guddat L.W.* (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 2242-2253.
154. *Schutz A., Sandalova T., Ricagno S., Hubner G., Konig S., Schneider G.* (2003) *Eur. J. Biochem.*, **270**, 2312-2321.
155. *Chandrasekhar K., Arjunan P., Sax M., Nemeria N., Jordan F., Furey W.* (2006) *Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr.*, **62**, 1382-1386.
156. *Berthold C.L., Moussatche P., Richards N.G., Lindqvist Y.* (2005) *J. Biol. Chem.*, **280**, 41645-41654.
157. *Minz B.* (1938) *C.R. Soc. Biol. (Paris)*, **127**, 1251-1253.
158. *Von Muralt A.* (1947) in: *Vitamins and Hormones* (Harris R.S., Thimann K.V., ред.). Academic Press, New York, **5**, 93-118.
159. *Gurtner H.P.* (1961) *Helv. Physiol. Acta., Suppl.* **XI**, 1-47.
160. *Cooper J.R., Roth R.H., Kini M.M.* (1963) *Nature*, **108**, 609-610.
161. *Kunz H.A.* (1956) *Helv. Physiol. Acta*, **14**, 411-423.
162. *Eichenbaum J.W., Cooper J.R.* (1971) *Brain Res.*, **32**, 258-260.
163. *Itokawa Y., Cooper J.R.* (1970) *Biochem. Pharmacol.*, **19**, 985-992.
164. *Itokawa Y., Cooper J.R.* (1970) *Biochim. Biophys. Acta*, **196**, 274-284.

165. Houzen H., Kanno M. (1998) *Neuropharmacology*, **37**, 313-322.
166. Bettendorff L., Wins P. (1999) *Recent Res. Devel. Neurochem.*, **2**, 37-62.
167. Lonsdale D. (2006) *eCAM*, **3**, 49-59.
168. Пархоменко Ю.М., Донченко Г.В., Протасова З.С. (1996) *Укр. биохим. журн.*, **68**(2), 3-14.
169. Fox J.M. (1972) *Brain Res.*, **44**, 271-272.
170. Berman K., Fishman R.A. (1975) *J. Neurochem.*, **24**, 457-465.
171. Bettendorff L. (1994) *Metab. Brain Dis.*, **9**, 183-209.
172. Goldberg D.J., Begevisich T.B., Cooper J.R. (1975) *J. Neurobiol.*, **6**, 453-462.
173. Matsuda T., Cooper J.R. (1983) *Biochemistry*, **22**, 2209-2213.
174. Eder L., Hirt L., Dunant Y. (1976) *Nature*, **264**, 186-188.
175. Romanenko A.V. (1990) *Muscle Motil.*, **2**, 151-153.
176. Enomoto K.-I., Edwards C. (1985) *Brain Res.*, **358**, 316-323.
177. Galzigna L. (1969) *Biochem. Pharmacol.*, **18**, 2485-2493.
178. Ngai S.H., Ginsburg S., Katz R. L. (1961) *Biochem. Pharmacol.*, **7**, 256-264.
179. Waldenlind L., Elfman L., Rydqvist B. (1978) *Acta Physiol. Scand.*, **103**, 154-159.
180. Нил М. Дж. (1999) *Наглядная фармакология*. ГЭОТАР Медицина, М.
181. Овчинников Ю.А. (1987) *Биоорганическая химия*. Просвещение, М.
182. Альбертс Б., Брей Д., Льюис Дж., Рэфф М., Робертс К., Уотсон Дж. (1994) *Молекулярная биология клетки*. Мир, М.
183. Степура И.И., Чайковская Н.А., Виноградов В.В., Водоевич В.П. (1999) *Биохимия*, **64**, 86-90.
184. Stepuro I.I. (2005) *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, **72**, 115-127.
185. Cooper J.R., Itokawa Y., Pincus J.H. (1969) *Science*, **164**, 74-75.
186. Schoffeniels E. (1983) *Arch. Int. Physiol. Biochim.*, **91**, 233-242.
187. Schoffeniels E., Dandrifosse G., Bettendorff L. (1984) *J. Neurochem.*, **43**, 269-271.
188. Gibson G.E., Blass J.P. (1999) in: *Basic Neurochemistry. Molecular, cellular and medical aspects* (Segel G.J., Agranoff B.W., Albers R.W., Fisher S.K., Uhler M.D., ред.). Lippincott Williams & Wilkins, pp. 691-709.
189. Fox J.M., Duppel W. (1975) *Brain Res.*, **89**, 287-302.
190. Yamashita H., Zhang Y.-X., Nakamura S. (1993) *Neurosci. Lett.*, **158**, 229-231.
191. Bettendorff L., Peeters M., Wins P., Schoffeniels E. (1993) *J. Neurochem.*, **60**, 423-434.
192. Bettendorff L., Hennuy B., De Clerck A., Wins P. (1994) *Brain Res.*, **652**, 157-160.
193. Bettendorff L., Henneuy B., Wins P., Schoffeniels E. (1993) *Neuroscience*, **52**, 1009-1017.
194. Bettendorff L., Kolb H.-A., Schoffeniels E. (1993) *J. Membrane Biol.*, **136**, 281-288.
195. Nghiem H.-O., Bettendorff L., Changeux J.-P. (2000) *FASEB J.*, **14**, 543-554.
196. Diaz M., Bahamonde M.I., Lock H., Munoz F.J., Hardy S.P., Posas F., Valverde M.A. (2001) *J. Physiol.*, **536**, 79-88.
197. Lakaye B., Wirtzfeld B., Wins P., Grisar T., Bettendorff L. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 17142-17147.
198. Лебедев С. И. (1988) *Физиология растений*. Агропромиздат, М.
199. Макарчи́ков А.Ф. (2006) XI съезд Белорус. об-ва физиол., Минск, сс. 81-82.

Поступила: 26. 03. 2008.

VITAMIN B<sub>1</sub>: METABOLISM AND FUNCTIONS

*A.F. Makarchikov<sup>1,2</sup>*

<sup>1</sup>Grodno State Agricultural University, Tereshkova Street 28, Grodno, 230008 Belarus;

tel.: (152)720575; fax: (0152)721365; e-mail: a\_makarchikov@yahoo.com

<sup>2</sup>Institute of Pharmacology and Biochemistry, National Academy of Sciences of Belarus, BLK 50, Grodno, 230009 Belarus; tel.: (0152)436301; fax: (0152)434121

The review highlights metabolism and biological functions of vitamin B<sub>1</sub> (thiamine). Thiamine transport systems, enzymes of its biosynthesis and degradation in various organisms, as well as molecular basis of thiamine-dependent hereditary pathologies are considered. A special emphasis is given to discuss the role of thiamine triphosphate and adenylated thiamine triphosphate, a new thiamine derivative recently discovered in living cells.

**Key words:** vitamin B<sub>1</sub>, thiamine, thiamine phosphates, transport, metabolism, biological role.