

## ЭЛЕКТРОФИЛЬНАЯ СИГНАЛИЗАЦИЯ: РОЛЬ АКТИВНЫХ КАРБОНИЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

©2019 г. О. В. КОСМАЧЕВСКАЯ, К. Б. ШУМАЕВ,  
А. Ф. ТОПУНОВ

*Институт биохимии им. А.Н.Баха,  
Федеральный исследовательский центр  
«Фундаментальные основы биотехнологии»  
Российской академии наук, Москва*

I. Введение. II. Типы сигнальных молекул и специфичность их действия. III. Электрофильные метаболиты. IV. Гормезисное действие электрофилов. V. Окислители и электрофилы в роли неспецифических факторов универсальной клеточной реакции. VI. Окислители и электрофилы как факторы стресс-индуцированного мутагенеза. VII. Заключение.

### I. ВВЕДЕНИЕ

Сигнальная функция или функция рецепции является неотъемлемым свойством живых систем. Она появилась одновременно с возникновением первых организмов и в ходе дальнейшей эволюции развивалась и совершенствовалась. Долгое время в биологической науке бытовал взгляд на химические сигнальные процессы в клетках, как на катализируемые ферментами, а сам фермент рассматривался как преобразователь молекулярных сигналов [1]. В основу передачи сигнала была положена присущая функционированию ферментов специфичность, основанная на пространственном соответствии структур фермента и субстрата. По такому принципу работают классические рецепторные системы. Когда стало известно, что в

---

*Принятые сокращения:* АКС – активные карбонильные соединения; АФА – активные формы азота; АФК – активные формы кислорода; ДНКЖ – динитрозильные комплексы железа; AGEs – конечные продукты гликирования (Advanced Glycation End products); ALEs – конечные продукты перекисного окисления липидов (Advanced Lipid peroxidation End products); 4-HNE – 4-гидрокси-2-ноненаль; 4-ONE – 4-оксо-2-ноненаль; MG – метилглиоксаль (methylglyoxal).

*Адрес для корреспонденции:* aftopunov@yandex.ru

клеточной сигнализации участвуют активные формы кислорода (АФК), которые благодаря высокой химической активности спонтанно реагируют с биомолекулами, представления о механизмах формирования и передачи биологического сигнала были пересмотрены.

При различных стрессовых воздействиях на организм происходит стимуляция свободнорадикальных процессов, которые приводят к образованию редокс-активных метаболитов: активных форм кислорода, азота, серы, галогенов и активных карбонильных соединений (альдегидов и кетонов). Эти метаболиты объединяет одно свойство – они являются активными формами вещества. В живых системах молекулы могут существовать в трех химически активных состояниях: 1) электрофилы и нуклеофилы (ионы и диполи ( $R^+R^-$ )), 2) свободные радикалы ( $R\cdot$ ) и 3) электронные возбужденные состояния ( $R^*$ ) [2]. Для того, чтобы молекулы вступили в биохимические реакции, их нужно перевести в одно из этих состояний, т.е. активировать. В клетке вещества активируются в результате взаимодействия с активным центром фермента или с физико-химическими факторами среды. Факторами активации могут быть и сами активные формы вещества. Например, АФК могут приводить к образованию электрофильных молекул – альдегидов и кетонов.

На протяжении длительного периода в биологической науке доминировал взгляд на редокс-активные метаболиты как на токсичные, повреждающие биомакромолекулы агенты, функционирование которых не подчинено принципам молекулярной логики живого и даже противоречит этой логике. Поэтому эти реакции считали лишними, но «неизбежными спутниками метаболизма» [3, 4]. После того, как на различных экспериментальных моделях было показано участие этой группы соединений в сигнальной трансдукции, координирующей многие физиологические процессы, «лишним» реакциям нашлось объяснение и даже оправдание. В существовании таких спонтанных реакций нет ничего удивительного, ведь любые реакции, протекающие в живом организме, даже катализируемые ферментами, детерминированы законами физики и химии.

В данном обзоре мы попытаемся приблизиться к пониманию логики функционирования в качестве системы сигнализации и регуляции особой группы редокс-активных соединений – электрофилов, которые в клетке в основном представлены активными карбонильными соединениями.

## II. ТИПЫ СИГНАЛЬНЫХ МОЛЕКУЛ И СПЕЦИФИЧНОСТЬ ИХ ДЕЙСТВИЯ

Специфичность или избирательность действия – это одно из важнейших биологических явлений, без которого невозможен упорядоченный обмен веществ в живом организме. Однако далеко не все процессы, протекающие в клетке, являются строго специфичными, а некоторые и вовсе случайны. Биологическая наука развивалась таким образом, что специфическое исследовано лучше, чем неспецифическое.

Выделяют три типа биологической специфичности [5]. Специфичность первого типа основана на комплементарных нековалентных взаимодействиях медиаторов (белок–субстрат, лиганд–рецептор, антиген–антитело) и обеспечивает линейную и адресную передачу информации. На тех же принципах основана специфичность второго типа, только в этом случае посредники диффундируют к разным мишеням, включая или выключая разные пути, которые не связаны (неколокализированы) с путем, который их генерирует. Специфичность третьего типа основана на ковалентных взаимодействиях медиаторов, которые рассеиваются в пространстве, действуя сразу на несколько неколокализированных мишеней (диффузная передача сигнала). На рисунке 1 схематично представлены основные пути передачи сигнала внутри клетки через посттрансляционные модификации. В таблице 1 приведены вещества – эндогенные метаболиты, обеспечивающие внутриклеточную передачу сигнала в соответствии с одним из типов специфичности. Принцип действия медиаторов первой и второй группы хорошо описан в научной литературе. В фокусе нашего интереса медиаторы, работающие в соответствии со специфичностью третьего типа. Эту группу образуют активные формы кислорода (АФК), азота (АФА), серы (АФС), галогенов (АФГ) и активные карбонильные соединения (АКС) (табл. 2). Отметим, что иногда они могут работать и как медиаторы первой и второй группы. Также они могут взаимодействовать друг с другом и конкурировать за общие реакционные центры на белках, создавая перекрестные помехи в проведении сигнала (crosstalk) [6].

Основные представители этой группы медиаторов в условиях клетки ведут себя как сильные окислители или электрофилы по отношению к белкам и липидам. Именно с электроноакцепторными свойствами и связана их высокая реакционная активность. Принципы функционирования АФК и АФА в качестве вторичных мессенджеров достаточно полно описаны в ряде обзоров [5, 7]. Поэтому особое внимание мы уделим сигнальным свойствам электрофильных соединений. Все последующие рассуждения главным образом будут

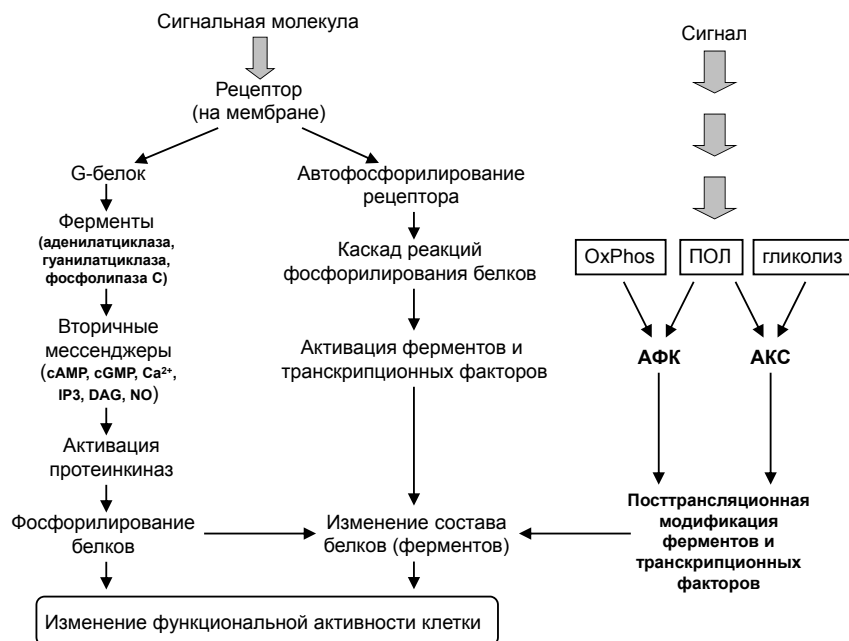


Рис. 1. Основные пути передачи сигнала через посттрансляционные модификации: специфическое фосфорилирование (катализируемое ферментами киназами) и сайт-специфическое окисление, алкилирование (неферментативные реакции с участием АФК и АКС). сАМР и сGMP – циклический аденозинмонофосфат и гуанозинмонофосфат, IP<sub>3</sub> – инозитолтрифосфат, DAG – диацилглицерин, OхPhos – окислительное фосфорилирование, ПОЛ – перекисное окисление липидов, АФК – активные формы кислорода, АКС – активные карбонильные соединения.

Таблица 1. Сигнальные молекулы (вторичные мессенджеры), различающиеся по типу избирательности действия на мишени.

Вторичные посредники адресной передачи сигнала (первый тип специфичности)	Вторичные посредники диффузной передачи сигнала	
	(второй тип специфичности)	(третий тип специфичности)
Киназы, фосфатазы	сАМР, сGMP, Ca <sup>2+</sup> инозитолтрифосфат (IP <sub>3</sub> ), диацилглицерин (DAG)	Активные метаболиты кислорода, азота, серы, галогенов и активные карбонильные соединения (см. таблицу 2)

Таблица 2. Представители активных форм кислорода, азота, серы, галогенов и активных карбонильных соединений

кислорода	Активные формы			Активные карбонильные соединения
	азота	серы	галогенов	
$O_2^{\cdot-}$	$ONOO^-$	$H_2S$	$HOCl$	метилглиоксаль
$OH^{\cdot}$	$NO_2^{\cdot}$	$R-S^{\cdot}$	$HOBr$	глиоксаль
$H_2O_2$	$NO^+$	$R-S^-$	$R-NHCl$	малоновый диальдегид
$O_2^*$	$NO^-$	$R-SS-R_1$	$R-NCl_2$	формальдегид
	$NO^*$	$R-SOH$	$R-NCl-C(O)-R_1$	акролеин
	$NO_2-FAs$	$R-S(O)S-R_1$	$R-NHBr$	4-гидрокси-2-ноненаль
	$8-NO_2-cGMP$	$R-S(O)_2S-R_1$	$R-NBr_2$	3-дезоксиглюкозон
		$S_2^*$	$R-NBr-C(O)-R_1$	4-оксо-2-ноненаль

относиться к эукариотическим клеткам млекопитающих, хотя они с некоторыми оговорками применимы по отношению к растениям, грибам и прокариотам.

Несмотря на структурные различия этих веществ, все они являются редокс-активными соединениями и участвуют в принципиально ином виде внутриклеточной сигнализации – редок-сигнализации, частным выражением которой является электрофильная сигнализация.

### III. ЭЛЕКТРОФИЛЬНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ

Понятие «электрофил» было введено в 1934 г. Ингольдом [8]. Напомним, что электрофилы – это катионы или молекулы, имеющие незаполненную электронную орбиталь или сильнополярную связь. Они являются так называемыми кислотами Льюиса. На возможную регуляторную роль электрофильных соединений в жизнедеятельности клетки впервые указал Сент-Дьердьи в книге «Биоэлектроника»: *«равновесие между акцепторами и донорами электронов, обладающими разными биопотенциалами, – один из основных параметров жизни; изменение этого равновесия используется для регуляции как различных функций, так и физического состояния клетки»* [9, с. 71].

Среди эндогенных электрофильных соединений главными акцепторами в клетке являются карбонилы (альдегиды, кетоны, кетоальдегиды), которые образуются в процессах перекисного окисления липидов (ПОЛ), окисления глюкозы и некоторых аминокислот [10–14], при этом в разных метаболических путях образуются различные по структуре и свойствам альдегиды [15, 16]. Наибольшее биологическое значение имеют  $\alpha,\beta$ -ненасыщенные альдегиды семейства 4-гидроксиалкеналей [17, 18]. Основным источником эндогенных альдегидов является процесс свободнорадикального окисления полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК), входящих в состав мембранных фосфолипидов (табл. 3). Среди интермедиатов окисления жирных кислот наибольшая доля приходится на 4-гидрокси-2-ноненаль (4-HNE) [29]. Еще одним важным для клетки карбонильным соединением является  $\alpha$ -кетоальдегид – метилглиоксаль (MG), который, как правило, образуется как побочный продукт гликолиза при спонтанном гидролизе фосфатной группы дигидроксиацетонфосфата [13, 19] (табл. 3).

К эндогенным электрофильным соединениям можно отнести фумарилацетоацетат, накапливающийся при тирозинемии типа I [30], и нитрованные производные cGMP и ненасыщенных жирных кислот. Нитролипиды – NO<sub>2</sub>-ЖК [31] и 8-нитрогуанозин-3',5'-цикломонофосфат – 8-нитро-cGMP [32] эндогенно образуются в результате реакции нитрования биомолекул пероксинитритом или диоксидом азота. Нитрованное производное cGMP реагирует с сульфгидрильными группами белков, образуя Cys-cGMP-аддукты (*S*-гуанилирование) [32]. В частности, через *S*-гуанилирование регулируется активность белка Keap1, участвующего в сигнализации редокс-условий и экспрессии белков второй фазы инактивации ксенобиотиков. Электрофильное соединение 8-нитро-cGMP обладает высокой избирательностью по отношению к SH-группам Keap1 и активирует их даже при 1000-кратном молярном избытке глутатиона [33]. Нитролипиды также образуют обратимые аддукты с белковыми SH-группами через реакцию присоединения Михаэля и регулируют ключевые адаптивные сигнальные пути, участвующие в клеточном гомеостазе и воспалительном ответе [31].

Еще одним представителем группы АКС является акролеин (пропеналь), значительные количества которого образуются в условиях окислительного стресса [27] (табл. 3). В организм человека акролеин попадает с продуктами питания, подвергнутыми интенсивной термической обработке, а также в результате частого курения табачных изделий [27, 28].

Таблица 3. Пути образования активных карбонильных соединений в организме

Активные карбонильные соединения	Эндогенное образование	Источник
Метилглиоксаль (MG)	Неферментативно при автоокислении глюкозы и деградации оснований Шиффа (усиливается ионами $Fe^{3+}$ и $Cu^{2+}$ ), гликированных белков (AGEs), при спонтанном гидролизе фосфатной группы от тризофосфатных интермедиатов гликолиза дигидроксиацетонфосфата. Полуферментативно при окислении аминокетона, ацетона и треонина. Ферментативно при участии фермента метилглиоксальсинтазы (этот путь существует только у прокариот).	[10, 13, 19, 20, 21]
Глиоксаль	Неферментативно при автоокислении углеводов и аскорбата (усиливается ионами $Fe^{3+}$ и $Cu^{2+}$ ), деградации гликированных белков (AGEs) и гидропероксидов (продуктов ПОЛ).	[13, 22]
Малоновый диальдегид (MDA)	Неферментативно при свободнорадикальном окислении липидов в присутствии $Fe^{2+}$ . Как побочный продукт ферментативного синтеза из арахидоновой кислоты (и других ПНЖК) тромбоксана A <sub>2</sub> и 12- <i>l</i> -гидрокси-5,8,10-гептадекатриеновой кислоты.	[23]
4-гидрокси-2-ноненаль (4-HNE)	Неферментативно при свободнорадикальном окислении липидов. Конечный продукт ферментативного окисления n-6 ПНЖК (арахидоновой и линолевой кислот с помощью 15-липоксигеназы (15-LOX). Ферментативные пути в растениях включают липоксигеназу (LOX), гидропероксилиазу (HPL), алкенальную оксигеназу (АКО) и пероксигеназы.	[23]
Формальдегид	Катализируемое цитохромом P450 деметилирование соединений, содержащих $CH_3N$ или $CH_3O$ группы. В реакциях, катализируемых семикарбазид-чувствительной аминоксидазой (SSAO) и метанолдегидрогеназой (MDH).	[24–26]
Акролеин (пропеналь)	При окислении треонина миелопероксидазой, спермина и спермидина аминоксидазой, а также при перекисном окислении липидов ненасыщенных жирных кислот.	[27, 28]
3-дезоксиглюкозон	Неферментативно при автоокислении глюкозы и оснований Шиффа (особенно в присутствии $Fe^{3+}$ и $Cu^{2+}$ ), деградации гликированных белков (AGEs).	[13]

К электрофильным метаболитам относятся галогенсодержащие соединения, образующиеся в реакциях с участием миелопероксидазы [34]. Гипогалогениты (НОСl, НOBr) являются сильными двухэлектронными окислителями, вступающими в реакцию с большинством аминов и амидов, включая таурин, нуклеотиды, гликозаминогликаны, NH<sub>2</sub>-группы полярных головок фосфолипидов, α-аминогруппы аминокислот, остатки боковых цепей лизина и гистидина, пептидную связь.

Для поддержания безопасной для клетки стационарной концентрации электрофилов существует эффективная система их удаления или нейтрализации, которая представлена различными альдегиддегидрогеназами, альдегидредуктазами, альдозоредуктазами и глутатион-S-трансферазами. Если образование электрофилов превышает утилизирующую способность защитных систем, то развивается состояние, называемое *электрофильным стрессом*, частным случаем которого является *карбонильный стресс*.

История изучения биологических свойств карбониллов напоминает историю обнаружения сигнальных и регуляторных свойств у активных форм кислорода. Сначала было открыто токсическое действие АКС на клеточные компоненты, обусловленное выраженной электрофильными свойствами карбонильной группы. Эти соединения взаимодействуют с нуклеофильными центрами на белках, липидах и нуклеиновых кислотах [35, 36, 16]. В белках такими сильными нуклеофильными центрами являются сульфгидрильные и первичные аминогруппы, остатки гистидина и гидроксильные группы тирозина, в нуклеиновых кислотах – атомы азота и кислорода пуриновых и пиримидиновых оснований. В биологических системах наиболее распространена реакция взаимодействия альдегидов и кетонов с SH-группами белков с образованием тиогемиацеталей (реакция Михаэля). Данная посттрансляционная модификация является обратимой и регулируется соотношением [GSH]/[GSSG], т.е. зависит от редокс-условий внутри клетки. Для белков, активность которых модулируется электрофильными соединениями, даже был предложен специальный термин – электрофил-чувствительный протеом (electrophile-responsive proteome) [16].

В начале развития этого направления трудно было представить, что карбонилы, образующиеся в неконтролируемых реакциях, могут функционировать в качестве вторичных мессенджеров в передаче сигналов (т.е. в электрофильной сигнализации). Однако за длительную историю изучения влияния эндогенных АКС на биологические системы накопилось достаточное количество фактов,



явно свидетельствующих об участии этих метаболитов в регуляции обмена веществ и внутриклеточных сигнальных путей. Сигнально-регуляторное действие метилглиоксаля в про- и эукариотических клетках было нами рассмотрено в статьях [37, 38]. Информация о сигнальных свойствах липидных электрофилов представлена в обзорных статьях [16, 18, 23, 29, 39].

#### IV. ГОРМЕЗИСНОЕ ДЕЙСТВИЕ ЭЛЕКТРОФИЛОВ

Высокая реакционная способность электрофильных соединений наделяет их, с одной стороны, биологической активностью, а, с другой, выраженными токсическими свойствами. И в этом нет ничего удивительного. Неоднозначность оказываемого на биологические системы действия присуща всем редокс-активным соединениям [40–42]. Так сложилось, что только за молекулой NO закрепилось сравнение с двуликим богом Янусом, хотя оно справедливо и для других редокс-активных соединений. Разнонаправленное действие электрофилов можно объяснить, исходя из представлений об универсальной клеточной реакции [43–45], которая также известна как «*неспецифический адаптационный синдром клеточной системы*» [46]. В общем виде она представляет собой двухфазный ответ на внешнее воздействие. В первой фазе происходит активация, а во второй угнетение функции клетки.

Для обозначения двухфазного ответа биологической системы в современной литературе употребляется термин «гормезис» [41, 42]. Этот термин был введен Зонтманом и Эрлихом еще в 1943 г. для обозначения эффекта стимулирующего воздействия низких доз какого-либо фактора. Графическим выражением эффекта гормезиса является U-образная или перевернутая U-образная кривая в координатах доза–ответ. Существование двухфазного ответа было показано на разных объектах и для разных воздействий. Постепенно двухфазное реагирование трансформировалось в фундаментальный закон, в основу которого положены общие для всего живого принципы взаимодействия с окружающей средой, направленные на формирование адаптивной структурно-функциональной перестройки [48]. Как следствие, любая форма клеточной активности (генерация электрохимического потенциала, сокращение, секреция, пролиферация и др.) может стимулироваться или ингибироваться в зависимости от силы приложенного воздействия или дозы химического вещества.

Несмотря на большое количество работ, посвященных двухфазной реакции, выполненных как в нашей стране школой Д.Н. Насонова

[43–47], так и за рубежом [42, 48–51], молекулярные механизмы дозозависимого парадоксального ответа до конца не выяснены. Можно лишь констатировать, что за реализацию гормезисного ответа ответственны и цитоплазматические механизмы, связанные со структурными превращениями белков, и механизмы регуляции экспрессии генов с участием лиганд-белковой рецепции и последующей внутриклеточной трансдукции сигнала.

Адаптивный гормезисный ответ клетки включает фазу стимулирования роста и увеличения антиоксидантной активности и фазу апоптоза – повреждения клетки (рис. 2). Сигнальные пути, вызывающие гормезисный ответ, достаточно полно описаны в научной литературе. Благоприятное действие электрофильных соединений на клеточный метаболизм связано с активации генов, кодирующих ферменты, участвующих в детоксикации активных форм кислорода, электрофильных соединений и ксенобиотиков. Главными участниками электрофильной сигнализации, регулирующими защитные системы, являются белковые факторы Keap1/Nrf2, AhR, PPAR $\gamma$ , NF $\kappa$ B, SIRT-FOXO [48] и белки теплового шока [52]. Электрофильные соединения активируют также экспрессию генов белков множественной лекарственной устойчивости (MRP – multidrug-resistant proteins). Биологические эффекты электрофилов могут быть обусловлены подавлением экспрессии генов индуцибельной NO-синтазы (iNOS) и циклооксигеназы-2 (COX2).

Гормезисное действие электрофилов можно объяснить их способностью в низких концентрациях избирательно модифицировать SH-группы в транскрипционном факторе Keap1 (Kelch-like ECH associating protein 1) путем алкилирования или окисления, вызывая индукцию экспрессии защитных генов и повышение устойчивости клеток к окислительному стрессу. В умеренно высоких концентрациях электрофилов активируют транскрипционные факторы (Nrf2 – nuclear factor erythroid 2-related factor; AP-1 – Activator protein 1, NF- $\kappa$ B – nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, PPARs – peroxisome proliferator-activated receptors) и MAP киназы (JNK и p38) [33, 53, 54]. При дальнейшем увеличении концентрации избирательность электрофилов снижается, модификации подвергаются нецелевые белки, содержащие реакционные SH-группы. Это вносит помехи в процессы внутриклеточной сигнальной трансдукции, стимулирует производство АФК, приводит к истощению уровня глутатиона и вызывает снижение устойчивости клеток к цитотоксическим воздействиям, что в конечном итоге приводит к их гибели (рис. 2) [33].



Рис. 2. Дозозависимый двухфазный (гормезисный) эффект электрофильных метаболитов на уровне клетки. Незначительное повышение концентрации электрофилов приводит к модификации транскрипционных факторов: Nrf2; AP-1; NF-κB; PPARs.

Особого внимания заслуживает транскрипционный фактор Nrf2, который регулирует экспрессию генов, содержащих в своих промоторах антиоксидант-респонсивный элемент (ARE), который часто называют электрофил-респонсивным элементом EpRE (electrophile response element). Nrf2 находится под постоянным контролем репрессорного белка Keap1, являющегося молекулярным сенсором редокс-баланса внутри клетки. Эти белки связаны между собой и действуют как составные части единой редокс-чувствительной сигнальной системы Nrf2/Keap1/ARE [53, 54]. В клетках млекопитающих идентифицировано несколько сотен генов с ARE-контролируемой экспрессией. Большинство этих генов ответственны за синтез антиоксидантных ферментов и ферментов второй фазы инактивации ксенобиотиков. Считается, что хемо- и радиорезистентность раковых клеток обусловлена высокими уровнями Nrf2 [53].

Вещества, индуцирующие гормезисный ответ, получили название горметинов или адаптогенов. Горметины активно применяются в неспецифической терапии для увеличения общей резистентности

организма, защиты от ассоциированных с возрастом хронических расстройств и профилактики онкологических заболеваний [48, 50]. Благодаря способности в определенных дозах вызывать апоптоз у раковых клеток, горметины также находят применение в противораковой терапии. Наиболее известными горметинами являются природные соединения растительного происхождения: фенольные соединения (куркумин, кверцетин, кемпферол, ресвератрол, гесперидин, гингерол, шогоаол и другие), тритерпеноиды, производные олеаноловой кислоты (урсоловая кислота), изотиоцианаты (сульфорафан) [33, 48]. Среди веществ животного происхождения можно отметить вырабатываемый пчелами фенолэтиловый эфир кофейной кислоты, а также эндогенные фенольные соединения (катехольные эстрогены, дофамин и L-DOPA) [33]. Все эти вещества в низкой наномолярной концентрации, на несколько порядков ниже токсической, являются активаторами сигнальной системы Keap1/Nrf2.

В последние годы точка зрения на механизм цитопротекторного действия фенольных соединений кардинально изменилась. Если раньше считали, что их биологическая активность связана со способностью выступать в роли ловушек свободных радикалов, то сейчас особое внимание уделяется их реакции с тиольными группами белка Keap1 (в реакции присоединения Михаэля), благодаря чему повышается экспрессия антиоксидантных ферментов [33, 55]. Эти идеи легли в основу концепции «парагормезиса», предложенной для объяснения полезных эффектов растительных антиоксидантов. Считается, что фенольные соединения поддерживают электрофильно-нуклеофильный фон на оптимальном для хорошего здоровья уровне [56]. В настоящее время пересматривается отношение к антиоксидантной терапии. Необходимо с осторожностью относиться к регулярному приему антиоксидантов: их высокие дозы могут вносить помехи в физиологические механизмы гормезиса, обеспечивающие активацию защитных систем.

АКС также могут действовать как горметины, что хорошо демонстрируют эксперименты с метилглиоксалем [38]. Индуцировать адаптивные и защитные реакции карбонилы могут как посредством прямого взаимодействия с компонентами пути передачи сигнала (через посттрансляционные модификации), так и через взаимодействие с определенными рецепторами клеточной поверхности. Обычно с рецепторами взаимодействуют метаболиты АКС – конечные продукты перекисного окисления липидов (ALEs) [14] и конечные продукты гликирования (AGEs) [57]. Приведем показательный пример участия электрофильного метаболита – 4-гидроксиалкеналя

в формировании адаптивного полезного ответа. На ранней стадии диабета этот метаболит в низких (нецитотоксических) концентрациях активирует рецепторные белки PPAR $\delta$  (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor) [58–60]. PPAR $\delta$  индуцирует экспрессию генов, кодирующих ферменты метаболизма жирных кислот и углеводов, что позволяет клеткам сосудов и бета-клеткам поджелудочной железы, испытывающим перегрузку питательными веществами, нормально функционировать в условиях гипергликемии.

Подведем итог. В низких концентрациях электрофильные метаболиты создают эндогенный физиологический стресс, поддерживающий защитные системы организма на определенном уровне. Иными словами, рост и нормальное развитие организма возможны лишь в условиях постоянного действия физиологических раздражителей: активных форм метаболитов. Возможно, что в некоторых случаях электрофилы могут быть полезны и в высоких концентрациях, например, как факторы стресс-индуцируемого мутагенеза прокариот или как факторы борьбы с чужеродными организмами. Целенаправленно изменяя электрофильный фон, особенно в критические периоды жизни, можно индуцировать перестройки в эпигеноме, ответственные за долгосрочные последствия в виде увеличения продолжительности жизни организма и повышения его общей резистентности.

## **V. ОКИСЛИТЕЛИ И ЭЛЕКТРОФИЛЫ В РОЛИ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ УНИВЕРСАЛЬНОЙ КЛЕТОЧНОЙ РЕАКЦИИ**

### **МЕДИАТОРЫ СТРЕССА**

В последнее время для повышения общей резистентности организма и увеличения продолжительности жизни много внимания уделяется неинвазивным методам. Показано благотворное влияние на организм периодического воздействия холода, физических нагрузок и ограничения калорийности питания. Все виды воздействия на клетку тем или иным способом вызывают изменения в окислительно-восстановительном и электрофильно-нуклеофильном фонах. Поэтому не исключено, что молекулярные механизмы воздействий холодом, голодом и стрессом могут быть связаны с гормезисным эффектом окислителей и электрофилов, тем более, что, как известно, к положительному результату приводят лишь умеренные воздействия, не вызывающие стрессовую реакцию.

О том, что АФК являются первичными медиаторами стресса, известно давно. Сигнально-регуляторное действие АФК может реализовываться не только напрямую, но и опосредованно через другие редокс-активные молекулы, продукты свободнорадикального окисления липидов (альдегиды и кетоны), а также через продукты реакции липидов с АФА (нитролипиды). Реакции перекисного окисления липидов носят универсальный характер, поскольку происходят в любых живых системах, а интенсивность их выраженности зависит от баланса про- и антиоксидантных систем. Существует точка зрения, что, воздействуя на скорость процессов ПОЛ, можно влиять на функциональные свойства клеток, повышать или понижать их резистентность к действию неблагоприятных факторов [2, 61].

Если концентрация АФК прямо зависит от интенсивности окислительного метаболизма [62], т.е. от уровня потребления кислорода, то АКС могут накапливаться и в отсутствие кислорода, например, в результате активации гликолиза. В любом случае, динамика образования АФК и АКС является отражением напряженности энергетических систем клетки. Поскольку усиление энергетического метаболизма сопровождается любой вид клеточной активности, то интегральное количество редокс-активных метаболитов (АФК и АКС) можно рассматривать как функцию метаболического состояния клетки. Увеличение уровня этих метаболитов является биологическим сигналом, запускающим механизмы адаптационного ответа. Существующая связь между окислительным метаболизмом и внутриклеточной генерацией АКС наводит на мысль, что электрофильные метаболиты являются главным звеном в реализации биологических функций АФК, особенно тех, которые связаны с эпигенетическим перепрограммированием. Таким образом, и АФК и АКС выступают в роли факторов неспецифического адаптационного синдрома клеточной системы, отражением которого и является двухфазный гормезисный ответ. Подробно этот вопрос будет рассмотрен ниже.

В литературе давно обсуждается точка зрения, что каждому стационарному физиологическому состоянию клетки соответствует свое соотношение концентраций эндогенных антиоксидантов и свободных радикалов [2, 61, 63]. Какое-либо неспецифическое воздействие изменяет это соотношение и переводит систему в новое стационарное состояние. При снижении антиоксидантной активности до критического уровня происходит разрушение этого состояния и развитие патологического процесса [63]. Участие АФК в развитии, старении и гибели клетки давно уже является доказанным фактом. Электрофильные метаболиты также могут регулировать многие аспекты жизнедеятельности клетки. Наиболее хорошо это показано для активного карбонильного соединения – метилглиоксаля.

На участие альдегидов и кетонов в регуляции клеточного деления еще в 1960-х годах указал А. Сент-Дьердьи [64]. Согласно его взглядам, метилглиоксаль рассматривался как ингибитор клеточного деления [65, 66]. Впоследствии было доказано, что MG может оказывать также и стимулирующее действие на рост клеток благодаря активации протеинкиназ Akt1 и ERK1/2. Однако он может также вызывать остановку клеточного цикла и апоптоз, активируя сигнальные пути PI3K/Akt и MAPK (ERK1/2, JNK и p38) [67]. Противоречивая роль метилглиоксаля по отношению к клеточным функциям отмечалась в разных работах с клеточными линиями. Наглядно дозозависимое действие MG было продемонстрировано в экспериментах на сенсорных нейронах мыши [68]. В диапазоне концентраций 0–150 мкМ MG повышал их жизнеспособность и возбудимость, при более высоких концентрациях (250–750 мкМ) обнаруживалось цитотоксическое действие. Недавно было показано двойственное действие MG на метаболизм раковых клеток [69], в низких дозах он стимулировал рост опухоли, в высоких – подавлял. Эти работы явились первым четким экспериментальным свидетельством наличия у MG гормезисного потенциала, проявляющегося в переключении состояния клеток от роста к смерти.

Для группы электрофильных молекул – производных липидов (4-гидрокси-2-ноненаль, глиоксаль, малоновый диальдегид, акролеин) также показана возможность модификации белков, участвующих в сигнальной трансдукции, энергетическом обмене, митохондриальном дыхании и апоптозе [14, 16, 23]. Низкие уровни липидных метаболитов активируют пути передачи сигналов, которые регулируют концентрацию внутриклеточных антиоксидантов, глутатиона и гем-оксигеназы-1.

Дозозависимый биологический эффект оказывает 4-гидрокси-2-ноненаль [14, 23]. В физиологических и умеренно высоких концентрациях (<1 мкМ и 1–10 мкМ, соответственно) 4-HNE индуцирует клеточную пролиферацию за счет устойчивой активации тирозинкиназ рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) и рецептора фактора роста тромбоцитов (PDGFR). При высоких концентрациях (>10 мкМ) 4-HNE ингибирует клеточную пролиферацию, усиливая при этом транскрипцию генов «раннего ответа» (c-fos) [70].

#### УНИВЕРСАЛЬНАЯ КЛЕТочНАЯ РЕАКЦИЯ

Вторая половина XX века ознаменовалась расшифровкой генетического кода и формулировкой центральной догмы молекулярной биологии (ДНК↔РНК→белок). ДНК рассматривали как универсальный



носитель информации, детерминирующий все происходящие в клетке процессы. Однако появляются факты и в поддержку существования негенетических механизмов формирования и передачи информации в клетке, например, обнаружение циркадных ритмов у безъядерных эритроцитов [71] и гипергликемической памяти [72, 73]. Сегодня мы еще не можем с достаточной ясностью объяснить эти феномены, поэтому ограничимся высказыванием гипотез, которые могут послужить мотивом для последующей экспериментальной проверки.

Еще в первой половине прошлого столетия Д.Н. Насоновым и В.Я. Александровым на основании многих экспериментов был сделан вывод, что белки являются главными универсальными рецепторами различных воздействий и их обратимые изменения лежат в основе универсальной клеточной реакции [44, 48]. Благодаря работам В.В. Матвеева идеи Насонова получили современное развитие в виде формулировки понятия о протореакции [45]. Под протореакцией понимаются обратимые фазовые переходы белков цитоплазмы (золь–гель переходы), являющиеся результатом изменения зарядных и гидрофобно-гидрофильных свойств белковых молекул. Показано, что белки способны отвечать специфическими конформационными изменениями на адекватные (гормоны, медиаторы, коферменты, активаторы ферментов) воздействия и неспецифическими на низкие дозы неадекватных воздействий.

Исходя из этих представлений, неспецифическим «рецептором» воздействий является вся совокупность белков цитоплазмы. Под действием различных факторов (рН, электростатическое поле, АФК и др.) белки переходят в состояние, промежуточное между нативным и полностью развернутым, которое получило название «расплавленной глобулы» [74]. Это активированная функциональная форма белка с сохраненной третичной структурой. Переход в промежуточное состояние сопровождается увеличением доступности и реакционной способности нуклеофильных центров в белке, то есть такой белок становится более восприимчив к электрофильной атаке.

Ключевая роль в вышеописанных процессах принадлежит SH-группам белков. Именно обратимые переходы состояния этих групп составляют основу молекулярно-биологического механизма универсальной клеточной реакции. Для обозначения всего спектра состояний SH-групп белков введено понятие *цистеиновый протеом* (иногда употребляется термин «цистеиновый код») [75]. Цистеиновый протеом составляют все белки с реакционноспособными SH-группами: рецепторы, белки цитоскелета, гистоны, белки теплового шока, ферменты, факторы транскрипции, компоненты сигнальных путей, а также белки внеклеточного матрикса.



Цистеиновый протеом включает свыше 200 тысяч остатков редокс-активных белковых цистеинов, подверженных обратимым и необратимым посттрансляционным модификациям [76–79]. Обратимыми модификациями являются образование дисульфидов (R-S-S-R'), персульфидов (R-S-SH), сульфеновой кислоты (R-SOH), а также S-тиолирование (глутатионилирование и цистеинилирование) и гомоцистеинилирование [80, 81]. Необратимыми – образование сульфиновых (R-SO<sub>2</sub>H) и сульфоновых (R-SO<sub>3</sub>H) кислот [80]. Уникальность SH-групп состоит в том, что они наделены тремя свойствами: 1) высокой нуклеофильностью, 2) способностью к обратимому окислению-восстановлению, 3) способностью к связыванию металлов. К тому же тиолы являются мишенями для всех редокс-активных метаболитов, включая и АКС [6, 82]. При этом может существовать несколько механизмов сопряжения редокс-чувствительных цистеинов с функциональными механизмами клетки: через редокс-чувствительные белки (тиоредоксины, пероксиредоксины и глутаредоксины) и через посттрансляционные модификации компонентов сигнальных путей [76–79, 83, 84].

Цистеинсодержащие белки, посттрансляционная модификация которых приводит к изменению функциональных свойств, получили название «цистеиновые переключатели» [82]. К цистеиновым переключателям относят рецепторные и нерцепторные протеинкиназы (киназы семейства MAP и Src [14, 85–88]), протеинфосфатазы [89–91], транскрипционные факторы (NF-κB, p53, Ets-1, Nif-1α, Egr-1, SP-1, AP-1, OxyR, PARP, FoxO [92–95]), стрессовые белки (шапероны, белок DJ-1 [96]), ферменты (α-кетоглутаратдегидрогеназа, орнитин-δ-аминотрансфераза, глицеральдегидфосфатдегидрогеназа, пируваткиназа, фосфолипазы, NO-синтазы – NOS, простаглицинсинтазы, сиртуин-SIRT-6, каспазы, пероксиредоксины, ацетилаза гистонов – HDAC [97–101]), ионные каналы (Ca<sup>2+</sup>-каналы, K<sup>+</sup>-каналы [102, 103]), белки клеточного цикла (циклины, циклин-зависимые киназы – CDK [105]), рецепторы инсулина и IGF1 [106], регуляторные белки (Keap1 [54]).

Цистеиновые переключатели-ферменты, как правило, регулируются через глутатионилирование и окисление, сигнальные белки через окисление, глутатионилирование и алкилирование.

Обратимую модификацию SH-групп по влиянию на физиологию клетки сравнивают с фосфорилированием. Посредством изменения редокс-состояния тиолов можно модулировать такие свойства белков, как фосфорилирование [107], способность к образованию ассоциатов и внутриклеточную локализацию [93]. В таблице 4 представлены реакции, приводящие к посттрансляционным модификациям цистеи-

Таблица 4. Основные посттрансляционные модификации цистеиновых остатков белков и способы их устранения \*

1 Способ модификации (неферментативные пути)	2 Устранение или обращение модификаций (ферментативные и неферментативные пути)
<p><b>Окисление до дисульфидов (PrS-SPr') и S-тиолирование (PrS-S-Cys)</b></p> <p>1. Двухэлектронное окисление остатков цистеина радикальными АФК (пероксидом водорода и хлорноватистой кислотой) через образование сульфеновой кислоты:  <math>PrSH + O_2 \rightarrow PrSOH + O_2^{\cdot}</math>  <math>PrSOH + Pr'SH \rightarrow PrS-SPr'</math></p> <p>2. Одноэлектронное окисление остатков цистеина радикальными АФК (супероксидным анион-радикалом, гидроксильным радикалом, пероксинитритом) через образование тиольного радикала или сульфеновой кислоты:  <math>Pr-SH + O_2^{\cdot} \rightarrow Pr-S^{\cdot} + O_2</math>  <math>Pr-S^{\cdot} + RSH \rightarrow PrS-SR^{\cdot}</math>  <math>PrS-SR^{\cdot} + O_2 \rightarrow PrS-SR + O_2^{\cdot}</math>  <math>PrSOH + RSH \rightarrow PrS-SR + H_2O</math></p> <p>3. В реакции с HOCl через образование сульфенилхлорида:  <math>PrSH + HOCl \rightarrow PrSCl + H_2O</math>  <math>PrSCl + RSH \rightarrow PrS-SR</math></p> <p>4. Реакции дисульфидного обмена с участием глутатиона или S-нитрозотиолов:  <math>PrSH + GSSG \rightarrow PrS-GS + GSH</math>  <math>PrS-NO + GSSG \rightarrow PrS-GS + GS-NO</math></p> <p>5. Реакция с конъюгатом глутатиона с нитроолеиновой кислотой (GS-OA-NO<sub>2</sub>):  <math>PrSH + GS-OA-NO_2 \rightarrow PrSSG + OA-NO_2</math></p>	<p>1. Восстановление дисульфидоксидоредуктазами.          2. GSH-зависимое восстановление глутатионредуктазой и тиоредоксином.          3. Неферментативное восстановление аскорбиновой кислотой.          4. Фотолиз дисульфидной связи при облучении УФ-светом.          5. Восстановление цианидом, дитиотреитолом (DTT), 2-меркаптоэтанолом, алкилфосфинами (например, трибутилфосфином).</p>
<p><b>S-гомоцистеинилирование (PrS-S-Hcy)</b></p>	
<p>Взаимодействие гомоцистеина с белковыми SH-группами.</p>	<p>Гидролиз гомоцистеинового аллукта, катализируемый гомоцистеин-тиолактоназой (Pgaohopase 1 – PONI).</p>

\* PrSH – тиолсодержащий белок, RSH – глутатион или другой низкомолекулярный тиол, Et – электрофильный метаболит. (Информация представлена в упрощенном виде. В некоторых случаях описанные превращения представляют собой многостадийные процессы, отдельные реакции которых до сих пор являются спорными. Особенно это касается механизмов S-нитрозилирования.)

Окончание табл. 4. см. на сл. стр.

Окончание табл. 4.

1	2
<p><b>S-нитрозилирование (PrS-O)</b></p> <p>1. Нитрозилирование в реакции с продуктами окисления NO (ONOO<sup>-</sup>, NO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>). В биологических системах наиболее вероятной считается реакция: PrSH + N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> → PrS-NO + NO<sub>2</sub> + H<sup>+</sup>.</p> <p>2. Нитрозилирование в реакции катиона нитрозония с тиолят-анионом: PrS<sup>-</sup> + NO<sup>+</sup> → PrS-NO.</p> <p>Донорами NO<sup>+</sup> могут быть динитрозильные комплексы железа или N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.</p> <p>3. Нитрозилирование в реакции рекомбинации тиольных радикалов с NO<sup>•</sup>: PrS<sup>•</sup> + NO → PrS-NO.</p> <p>Образование тиольных радикалов катализируется ионами Fe<sup>3+</sup> и Cu<sup>2+</sup>. Эти радикалы образуются также в реакциях тиолов с продуктами окисления NO.</p> <p>4. Нитрозилирование катализируемое ферриформой гема: порфирин-Fe<sup>3+</sup> + NO + RSH → порфирин-Fe<sup>2+</sup> + RS-NO + H<sup>+</sup>.</p> <p>5. Транснитрозилирование с участием низко- и высокомолекулярных нитрозотиолов: PrSH + RS-NO → PrS-NO + RSH.</p>	<p>1. Денитрозилиазная реакция, катализируемая различными ферментами: S-нитрозоглутатин редуктазой, тиоредоксином, дисульфидизомеразой, глутатионпероксидазой, γ-глутамилтранспептидазой, ксантиноксидазой, Cu, Zn-супероксид дисмутазой.</p> <p>2. Восстановление в реакции, катализируемой «GSNO-редуктазой» (глутатин-зависимой формальдегид-дегидрогеназой).</p> <p>3. Неферментативный распад нитрозотиолов, катализируемый низкомолекулярными восстановителями (дигидролипоевой кислотой, ионами металлов, супероксид анионом, аскорбиновой кислотой, тиолами, бидиурбином).</p> <p>4. Фотохимический или термический гомолиз связи RS-NO.</p>
<p><b>Образование гидроксисульфенамида (Pr-SNHOH) и сульфенамида (Pr-S(O)NH<sub>2</sub>)</b></p> <p>В реакции остатков цистеина с нитроксидом (HNO): PrSH + HNO → PrSNHOH. (N-гидроксисульфенамид)</p> <p>Pr-SNHOH → PrS(O)NH<sub>2</sub> (сульфенамид)</p>	<p>1. Формирование дисульфида в реакции N-гидроксисульфенамида с тиолом: Pr-SNHOH + RSH → Pr-SSR + NH<sub>2</sub>OH.</p> <p>2. Сульфенамид распадается с образованием сульфеновой (Pr-SOH) и сульфеновой (PrSO<sub>2</sub>H) кислот, которые далее могут восстанавливаться до тиолов.</p>
<p><b>Образование перисульфидистеина (PrS-SH) и полисульфидистеина (Pr-S(S)n-SH)</b></p> <p>1. Реакция с H<sub>2</sub>S (сульфидирование).</p> <p>2. Реакция с перисульфидами (GSSH) и полисульфидами (GS(S)nSH).</p>	<p>Восстановление, катализируемое системой тиоредоксина (Trx) с глутатионом (GSH).</p>
<p><b>Образование тиогетимацеталей (S-алкилирование)</b></p> <p>Реакция тиолят-аниона с электрофильными соединениями (реакция Михаэля). E1: 4-тироксикалкенали (4-HNE, 4-ONE), нитрожирные кислоты (NO<sub>2</sub>-FAs), малоновый диальдегид (MDA), метилглиоксаль (MG), различные хиноны.</p>	<p>Снятие конъюгата 4-HNE катализируется глутатион S-трансферазой (GST). Реакция конъюгатов белков с NO<sub>2</sub>-FA с GSH. Окисление с помощью H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> и ONOO<sup>-</sup> конъюгатов белков с NO<sub>2</sub>-FA с высвобождением PrSOH и NO<sub>2</sub>-FAs.</p>

новых остатков белков, и способы их устранения. Приведенные модификации могут регулировать функции белковых молекул, важных для различных клеточных процессов, включая трансдукцию сигнала.

Посттрансляционные модификации цистеиновых остатков можно рассматривать не только как способ регуляции активности и функции белков, но и как способ временной защиты чувствительных к окислению тиолов. Одним из таких способов временной стабилизации и защиты белковых SH-групп являются динитрозильные комплексы железа (ДНКЖ) [108].

Интересно, что гомоцистеин наряду с S-тиолированием может модифицировать свободные аминокислотные группы белка. Такая модификация (N-гомоцистеинирование) происходит благодаря превращению гомоцистеина в тиолактон, карбонильная группа которого реагирует с ε-аминогруппами остатков лизина с образованием производных гомоцистамида [81]. В отличие от S-гомоцистеинирования, реакция лизина с тиолактоном практически необратима и может оказывать значительное воздействие на активность медленно обменивающихся белков.

Мы сфокусировали наше внимание на роли цистеиновых остатков в белках как редокс-датчиков. Другие аминокислотные остатки, в частности гистидин, лизин и аргинин, также могут быть компонентами цепи передачи редокс-сигнала, хотя и в меньшей степени.

#### СПЕЦИФИЧНОСТЬ ЭЛЕКТРОФИЛЬНОЙ СИГНАЛИЗАЦИИ

Поскольку трансдукция сигнала с помощью электрофилов и окислителей осуществляется за счет простой химической реакции, может возникнуть впечатление, что этот процесс стохастический (не кодируемый), в отличие от систем сигнализации, состоящих из белков-рецепторов, белков-преобразователей и белков-усилителей, структуры которых предопределены геномом. Это не совсем так. Электрофильная сигнализация основана на иных принципах кодирования, отличных от генетического кода (ДНК ↔ РНК → белок). Джонс и Сайз высказали мнение, что таким кодом является редокс-код [79], который представлен пространственно-временными редокс-циклами и редокс-сетями, объединяющими различные уровни организации живой материи от белков до целостного организма.

Электрофильные метаболиты, в совокупности с цистеиновым протеомом, рассматривают как системы перекодирования действующих факторов в код белкового фолдинга и, в конечном итоге, в эпигенетический код. В работе [16] для обозначения суммы всех внешних воздействий предложен термин «экспозом». Электрофил-

чувствительный протеом в сочетании с электрофильными метаболитами образует интерфейс между геномом и экспозомом. Клеточный ответ, адаптация или патология, определяется совокупным поведением всего электрофил-чувствительного протеома, а не какой-либо отдельно взятой белковой мишенью [16].

На возможность существования в клетке способа передачи сигнала с помощью электрофилов указал еще в 1988 г. Талалай с коллегами [109]. Механизм этой сигнализации основывается на химической реактивности электрофилов, а именно на их способность участвовать в реакции Михаэля. Эти работы не нашли должного отклика, поскольку в то время еще не были обнаружены специализированные белки, реагирующие на электрофильный фон. Эпоха «электрофильной сигнализации» началась с изучения белка Keap1, содержащего большое количество реакционноспособных остатков цистеина, взаимодействующих с широким спектром окислителей и электрофилов. Модификация цистеинов Keap1 окислением или алкилированием приводит к накоплению Nrf2, его транслокации в ядро и транскрипции генов цитопротекторных белков. Следует отметить, что ковалентная модификация цистеинов Keap1, как правило, обратима, что имеет важное значение для сигнализации.

Специфичность белков по отношению к активным формам связана с донорно-акцепторными свойствами аминокислотных остатков, которые во многом определяют белковым микроокружением. Наличие в клетке ферментов и транскрипционных факторов с SH-группами, отличающимися по биопотенциалу, создает предпосылки для формирования дифференцированного ответа в зависимости от пороговой концентрации активных форм (АФК, АФА и АКС). Иными словами, в белках имеются определенные реакционные центры (chemical signature), по которым осуществляется атака окислителями и электрофилами. Иногда говорят о сайт-специфическом действии редокс-активных метаболитов по отношению к тиоловым группам. Сайт-специфичность может проявляться и по отношению к аминокислотным остаткам лизина и аргинина.

Так, содержащиеся в белке Keap1 человека 27 остатков цистеина в разной степени реакционноспособны [110]. Определенные цистеиновые остатки в Keap1 могут образовывать дискретные датчики, которые реагируют на различные типы электрофилов. Было обнаружено три таких датчика, один из которых «датчик цинка». Иными словами, различные окислители и электрофилы модифицируют специфические комбинации цистеинов, таким образом управляя чувствительностью системы Keap1/Nrf2 к стрессу. Эти идеи легли в основу гипотезы о существовании «цистеинового кода» [79].

## ЭЛЕКТРОФИЛЫ КАК КОМПОНЕНТЫ ПРОТОСИГНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

Неспецифическая реакция клетки обеспечивается филогенетически древними механизмами саморегуляции живых систем, одним из которых является обратимый переход белков из растворимого в мембрано-связанное состояние. Такое изменение является основой особого уровня регуляции клеточного метаболизма – адсорбционного, концепция которого была предложена Б.И. Кургановым [111] (согласно терминологии А.С. Капрельянца – топодинамическая регуляция [112]). Обратимая адсорбция ферментов может регулировать их каталитическую активность и стабильность.

Комплексы белков с компонентами мембраны – один из самых низших уровней структурной организации биологических систем, которому присущи особые механизмы регуляции, которые должны удовлетворять как минимум трем условиям. Они должны быть связаны с посттрансляционной модификацией белка и последующей конформационной перестройкой, предрасполагающей белок к иммобилизации. Изменение белка должно быть обратимым. И, наконец, внутриклеточный уровень модификаторов должен коррелировать с определенными метаболическими сдвигами (нарушениями). На роль таких модификаторов подходят метаболиты с выраженными окислительными и электрофильными свойствами, которые на заре эволюции живых систем могли выступать в роли неспецифических регуляторов стабильности белков в условиях нарушенного метаболизма.

Как мы уже неоднократно упоминали, наиболее вероятными мишенями в белках для окислительной и электрофильной атаки являются SH-группы (табл. 4). Посттрансляционная модификация тиолов может снижать или увеличивать конформационную подвижность белков и, тем самым, уменьшать или увеличивать их биохимическую активность. Известно, что образование дисульфидных связей является временным способом защиты белков от необратимой модификации и подавления их реакционных свойств. Увеличение количества S–S-связей, стабилизирующих белок, происходит при адаптации к окислительному стрессу или при переживании неблагоприятных условий: диапаузы насекомых, тепловой закалки растений, образования спор у бактерий и др. [48]. После временной инактивации такие белки способны реактивироваться при увеличении концентрации глутатиона, т.е. при нормализации метаболизма и восстановлении редокс-состояния клетки. Иллюстрацией данного тезиса являются изменения в белке кардиомиоцитов титине, наблюдаемые при старении или сердечной недостаточности. В условиях сильного окислительного стресса в титине образуются дополнительные дисульфидные связи, с одной

стороны, стабилизирующие белок, а, с другой, повышающие жесткость клеток [113]. Образование дисульфидных связей с целью стабилизации внутриклеточных белков происходит у термофильных организмов при участии фермента дисульфид-оксидоредуктазы [114].

Роль цистеинов в метаболизме клетки вполне объяснима в рамках описанной выше концепции цистеинового кода [79], которая впоследствии была преобразована в концепцию «цистеиновой сигнальной сети» (Soft Cysteine Signaling Network – SCSN). Эта сеть включает реакционноспособные цистеины ключевых (узловых) белков биохимических процессов, окислительная или электрофильная модификация которых приводит к перестройке метаболизма на время, пока окислительный или электрофильный стресс не будет нейтрализован. Функционирование цистеиновой сигнальной сети основывается на многоуровневой реакционной способности цистеинов, что позволяет гибко и градуально реагировать на внутриклеточные стрессы. При низких концентрациях окислителей или электрофилов первыми реагируют белки с наиболее реакционноспособными остатками цистеина (с наименьшим pKa), модификация которых запускает основные реакции, необходимые для борьбы со стрессом. При среднем уровне стресса модифицируются белки, содержащие остатки цистеина с pKa вблизи физиологического значения pH. При сильном стрессе задействуются белки с уровнем pKa SH-групп, близкой к свободному цистеину. Модификация таких цистеинов не является целевой, а происходит лишь в результате увеличения их нуклеофильных свойств в изменившихся условиях (окислительный редокс-сдвиг и алкалитический сдвиг) и поэтому приводит к повреждению белка и запуску программ клеточной смерти. Как видно, уже в многоуровневой реактивности цистеинов заключена способность к гормезисному ответу биологической системы.

Можно предположить, что в предбиологической системе цистеины грубо модулировали физико-химические свойства белковой молекулы: зарядные характеристики, степень гидрофобности, способность к ассоциации и иммобилизации. Спонтанное образование внутри- и межмолекулярных дисульфидных связей позволяло на период ухудшения редокс-условий стабилизировать белки и снизить вероятность необратимого окисления других аминокислотных остатков. Обратимую модификацию белковых цистеинов можно рассматривать как регуляцию, присущую низшему уровню структурной организации биологических систем – индивидуальным белкам. С усложнением структурной организации этот неспецифический механизм регуляции был взят под контроль и приобрел специфичность. Неспецифическое изменение конформации белка послужило основой для появления



целенаправленных изменений, индуцированных связыванием лигандов с аллостерическим или активным центрами белков, а адсорбционный механизм стал основой для гормональной регуляции активности фермента [115].

Электрофильная регуляция существует в тандеме с окислительной, поскольку основной пул электрофильных метаболитов составляют продукты свободнорадикального окисления липидов. Если мягкое окисление цистеинов носит обратимый характер, то ковалентная модификация аминокислотных остатков с помощью АКС является уже стабильной модификацией, которая лишь на начальной стадии может быть элиминирована энзиматически (амодариазами у прокариот [116], фруктозамин-3-киназами у человека [117]). Таким образом, АФК вызывают лабильные модификации белков, которые за счет электрофильных метаболитов трансформируются в долгосрочные. Иными словами, электрофилы в биологических системах обеспечивают пролонгацию сигнала от короткоживущих АФК. Также, в отличие от свободнорадикальных соединений, альдегиды и кетоны являются стабильными метаболитами и, следовательно, возможно их дистанционное действие на молекулы-мишени.

Стабильно модифицированные белки являются своего рода молекулярными свидетелями истории клетки. К числу таких белков относятся и гистоны, посттрансляционная модификация которых вызывает перепрограммирование эпигенетического кода.

#### ДЕЙСТВИЕ ЭЛЕКТРОФИЛОВ НА ЭПИГЕНОМ

Ген функционирует в среде, которая может оказывать влияние на характер его экспрессии, поэтому реализация информации, заключенной в геноме, во многом зависит от внешних условий, состояния хроматина, модификаций ДНК и ее транскриптов, то есть находится под эпигенетическим контролем.

Окислители и электрофилы могут изменять характеристики эпигенома и других детерминант цитоплазмы, формируя негенетические формы клеточной памяти (метаболическую память), наблюдаемую в клинических испытаниях и исследованиях на животных. Яркой иллюстрацией существования метаболической памяти является феномен появления гипергликемической памяти, когда последствия длительной гипергликемии сохраняются у больных сахарным диабетом даже после нормализации уровня сахара [72, 73]. Другой пример: в клеточной культуре нейроны, извлеченные из старого мозга, сохраняют ряд фенотипических признаков старых клеток [118].

Эпигенетическими регуляторами являются деацетилазы гистонов (сиртуины), фосфорилазы, цитозиндеметилазы, метилтранс-



феразы. Все эти ферменты, включая и сами гистоны, подвержены посттрансляционной модификации электрофилами. Наиболее уязвимым звеном эпигенома по отношению к электрофилам являются именно гистоны, богатые остатками лизинов. В ряде работ показана способность MG образовывать аддукты с аминокислотными остатками лизина и аргинина гистонов четырех типов [119]. Обработка метилглиоксалем гистонов H1A и H2A *in vitro* приводила к образованию лизиновых аддуктов (N<sup>ε</sup>-карбоксиэтиллизина) и конденсированных поперечных структур. В результате такой модификации возникали аморфные белковые агрегаты с измененными характеристиками по связыванию ДНК, высокими иммуногенными свойствами и высокой термической стабильностью [120, 121]. Другие электрофильные метаболиты – 4-HNE, 4-OHE и акролеин также образуют аддукты с гистонами, вызывая изменение их конформации и способности взаимодействовать с ДНК [28, 119, 122]. Считается, что такая модификация гистонов делает их более уязвимыми к окислению [122, 123]. Ковалентная модификация остатков лизина и аргинина вновь синтезированных свободных гистонов блокирует их ацетилирование, что препятствует их транслокации в ядро и включению в хроматин [123].

Модификация гистонов также возможна и по радикальному механизму. В системе ONOO<sup>-</sup>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в присутствии α-дикарбониллов – MG и диацетила образуется ацетильный радикал, участвующий в ацетилировании лизинов [124, 125]. Вносить помехи в работу генома может еще одно эндогенно образующееся активное карбонильное соединение – формальдегид, который, являясь хорошим донором метильной группы, может вызывать метилирование ДНК [24]. Нитролипиды образуют ковалентные аддукты с лизиндеацетилазой гистонов SIRT1, участвующей в регуляции выживаемости в условиях стресса и увеличении продолжительности жизни.

Вполне возможно, что некоторые модификации гистонов электрофильными метаболитами являются специфическими метками, стимулирующими транскрипцию [123, 126]. Эти эпигенетические метки распознаются эффекторными белками, которые опосредуют функциональный ответ.

#### ИОНЫ МЕТАЛЛОВ КАК МОДУЛЯТОРЫ ЭЛЕКТРОФИЛЬНОЙ СИГНАЛИЗАЦИИ

Активные карбонильные соединения образуют аддукты с остатками цистеина по механизму присоединения Михаэля. Реакционная способность цистеина по отношению к электрофилам определяется степенью его ионизации. В форме тиолят-аниона (R-S<sup>-</sup>) цистеин примерно в 20 раз более реакционноспособен, чем в форме сульфгид-

рила (R-SH), поэтому ионизированные цистеины являются наиболее предпочтительными центрами модификации в белках. На константу ионизации остатка цистеина влияет: 1) изменение конформации белка; 2) изменение pH цитозоля; 3) образование комплекса с ионами металлов.

Известно, что SH-группы легко образуют координационную связь с ионами металлов (Cu, Fe, Mo, Zn, Cd, Ni, Hg, Pb). Стабильность образуемых комплексов определяется редокс-условиями в клетке. Примером влияния металлов на активность SH-групп является белок Keap1, цистеины которого образуют комплекс с цинком [54, 56, 110]. В составе комплекса нуклеофильные свойства цистеинов усиливаются, что делает их чрезвычайно чувствительными к окислению и алкилированию. Окисление цистеиновых лигандов цинкового сайта Keap1 приводит к высвобождению металла, разворачиванию домена, димеризации, что ведет к потере репрессорной функции и накоплению Nrf2.

Образование координационного комплекса с металлом может блокировать цистеиновые остатки, препятствуя их «гиперреактивности» в нормальных условиях (basal conditions) однако в условиях электрофильного/окислительного стресса тиолы в составе комплекса находятся в состоянии повышенной готовности к реакции с активными формами, поскольку они уже находятся в активном тиолятном состоянии и не нуждаются в предварительном депротонировании.

По такому сценарию могут действовать и ионы железа, которые, как известно, образуют комплексы с остатками цистеина (железосерные кластеры и динитрозильные комплексы железа). По аналогии с цинковыми сайтами, ДНКЖ могут модулировать активность SH-групп: блокировать их при низком уровне окислителей и электрофилов и сенсibiliзировать их при высоком. В этом может заключаться еще один механизм их биологического действия. Обычно биологическую активность ДНКЖ объясняют их способностью связывать, транспортировать и передавать NO на мишени [127]. Отметим, что при взаимодействии MG с остатками цистеина или лизина образуются новые сайты формирования ДНКЖ [128, 129].

## VI. ОКИСЛИТЕЛИ И ЭЛЕКТРОФИЛЫ КАК ФАКТОРЫ СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННОГО МУТАГЕНЕЗА

Редокс-активные молекулы в высоких концентрациях могут способствовать накоплению aberrантных белков и оказывать мутагенное действие на ДНК, способствуя появлению фенотипического полиморфизма. В неблагоприятных условиях у мутантных клеток могут

появиться преимущества, благодаря которым они могут стать родоначальниками более приспособленных клонов. Фенотипический полиморфизм может быть как результатом проявления «скрытых» мутаций (cryptic variations) белков-рецепторов, так и результатом спонтанных мутаций ДНК (*de novo mutations*).

По мнению авторов статей [130, 131], проявление скрытых мутаций, ведущее к устойчивым адаптивным изменениям, является одним из важнейших молекулярных механизмов эволюции. Обычно «помощниками» эволюции считают эндогенные АФК (АФК как инструменты окислительного мутагенеза) [132], хотя нельзя исключить участие в этом процессе АКС [37]. Стресс-индуцированный мутагенез широко распространен у микроорганизмов, особенно обитающих в изменчивых условиях. Посредством этого же механизма может происходить усиление роста и выживаемости раковых клеток [133, 134]. В опухолевых клетках молочной железы повышенные уровни МГ усиливают рост и метастатический потенциал клеточной популяции. Один из путей связан с гликированием шаперона Hsp90.

Ронер с соавторами показали, что и у многоклеточных эукариотов в ответ на длительный экологический стресс может работать механизм программируемого стресс-индуцированного мутагенеза, при котором возможно появление более приспособленного к данным условиям фенотипа [131]. Это находит объяснение в рамках теории «HSP90-зависимого канализования» (HSP90-mediated canalization) [135]. Стрессовый белок HSP90 (Heat Shock Protein 90) обеспечивает поддержание правильной конформации белков, участвующих в трансдукции сигнала [136]. Обычно этот белок присутствует в более высоких концентрациях, чем кажется необходимым, поскольку является буфером, защищающим организм от фенотипических последствий, вызванных физиологическими эффектами мутантных и модифицированных белков. При определенных условиях, например, когда образуются высокие концентрации «активных форм», и, как следствие, возрастает количество модифицированных белков, буферная емкость HSP90 исчерпывается, что и приводит к возникновению белковых полиморфных вариантов (рис. 3). Как известно, отбирается то, что проявляется в фенотипе. В неблагоприятных условиях незащищенные белком HSP90 полиморфные варианты могут стать материалом для естественного отбора и закрепиться в качестве адаптивных модификаций в эпигеноме.

Мы можем сделать заключение, что реакционноспособные молекулы, образуемые самими клетками, выступая как мутагены, являются одновременно и активным фактором эволюции.

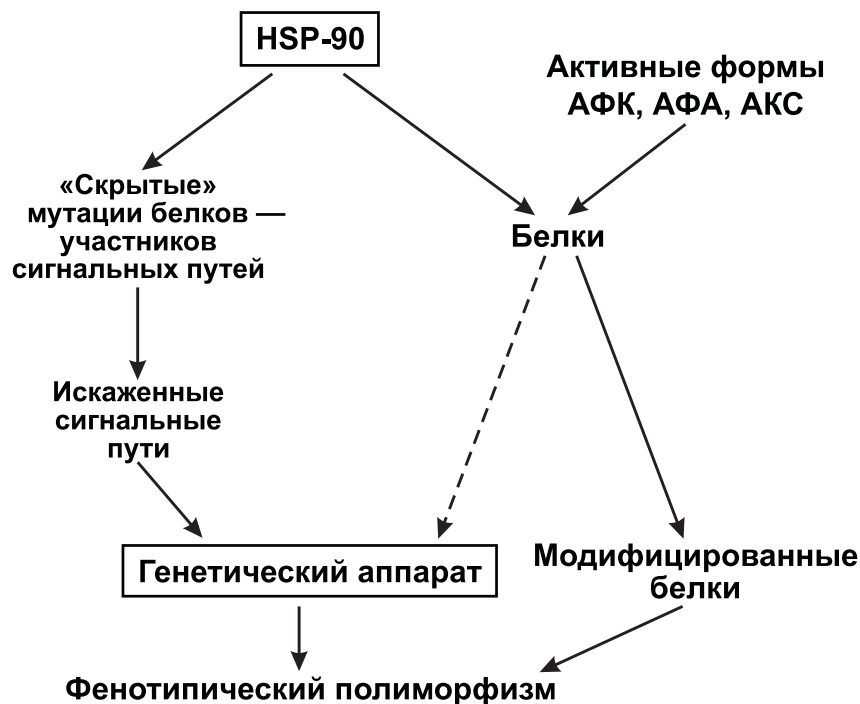


Рис. 3. Роль редокс-активных соединений (АФК, АФА и АКС) в стресс-индуцируемом мутагенезе. В условиях метаболических стрессов возрастает содержание модифицированных белков, что требует большего участия содержащихся в клетке молекул HSP90 для поддержания нормальной конформации белков.

## VII. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение молекулярных механизмов эндогенных электрофильных соединений поможет пониманию основных путей эволюции сигнальных систем клетки. Возникновение каждой новой метаболической системы связано с энергетическими затратами на ее содержание. Сигнальная трансдукция, базирующаяся на ферментативных реакциях (рецепторы-киназы-фосфоорилазы), требует определенных энергетических вложений для поддержания системы контроля качества белка (протеостаза), для регуляции его активности и для синтеза кофакторов (ATP, NADH, NAD(P)H, GSH, AcCoA и др). Использовать в целях сигнализации метаболиты, спонтанно образующиеся и также спонтанно реагирующие с молекулами-мишенями, намного экономичнее. В этом случае затраты необходимы лишь для поддержания систем утилизации, контролируемых их кон-

центрацию, и для устранения посттрансляционных модификаций. Вполне вероятно, что такой способ передачи сигнала использовался еще первичной клеткой, и потому он может претендовать на роль протосигнального пути, соответственно, редокс-активные молекулы-мессенджеры – на роль протосигнальных молекул.

Протосигнальные молекулы, как правило, мобилизуют комплексную адаптивную программу, которая нацелена на выживание клеток за счет усиления антиоксидантной и электрофильной защиты, а в условиях стресса – апоптотической гибели клеток. Дополнение протосигнальных путей системами с каналированной передачей сигнала повысило степень дифференцировки возможных ответов клетки.

Основная сигнальная роль альдегидов и кетонов могла быть связана с пищевыми потребностями организмов, поскольку эти вещества являются промежуточными метаболитами окисления различных органических соединений – пищевых субстратов. Увеличение их внутриклеточной стационарной концентрации несет информацию о загруженности катаболических путей [137]. В отличие от многих гормонов, информация о которых содержится в геноме, информация об электрофильных медиаторах напрямую нигде не закодирована.

Подводя итоги, заключим, что электрофильная регуляция могла быть древнейшим механизмом управления метаболическими процессами, предшествовавшим регуляции с помощью рецепторных аппаратов, воспринимающих сигналы от нервных и эндокринных систем.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Волькенштейн М.В. (1970) Регуляция ферментами и регуляция ферментов, *Биофизика*, **15**, 215–224.
2. Журавлев А.И. (2011) Квантовая биофизика животных и человека: учебное пособие. М.: БИНОМ. 398 с.
3. Голубев А.Г. (1996) Изнанка метаболизма, *Биохимия*, **61**, 2018–2039.
4. Голубев А.Г. (2015) Биология продолжительности жизни и старения. СПб.: Л–Н. 384 с.
5. Nathan, C. (2003) Specificity of a third kind: reactive oxygen and nitrogen intermediates in cell signaling, *J. Clin. Invest.*, **111**, 769–778.
6. Basudhar, D., Ridnour, L.A., Cheng, R., Kesarwala, A.H., Heinecke, J., Wink, D.A. (2016) Biological signaling by small inorganic molecules, *Coordination Chemistry Reviews*, **306**, 708–723.
7. Thomas, D.D. (2015) Breathing new life into nitric oxide signaling: A brief overview of the interplay between oxygen and nitric oxide, *Redox Biol.*, **5**, 225–233.
8. Ingold, C.K. (1934) Principles of an electronic theory of organic reactions, *Chem. Rev.*, **15**, 225–274.
9. Сент-Дьёрдьи А. (1971) Биоэлектроника. Исследование в области клеточной регуляции, защитных механизмов и рака. М.: Мир. 80 с.
10. Ray, M., Ray, S. (1985) L-Threonine dehydrogenase from goat liver. Feedback inhibition by methylglyoxal, *J. Biol. Chem.*, **260**, 5913–5918.
11. Poli, G., Schaur, R.J., Siems, W.G., Leonarduzzi, G. (2008) 4-Hydroxynonenal: a membrane lipid oxidation product of medicinal interest, *Med. Res. Rev.*, **28**, 569–631.

12. Uchida, K. (2000) Role of reactive aldehyde in cardiovascular diseases, *Free Radical Biol. Med.*, **28**, 1685–1696.
13. Thornalley, P.J., Langborg, A., Minhas, H.S. (1999) Formation of glyoxal, methylglyoxal and 3-deoxyglucosone in the glycation of proteins by glucose, *Biochem J.*, **344**, 109–116.
14. Negre-Salvayre, A., Coatrieux, C., Ingueneau, C., Salvayre, R. (2008) Advanced lipid peroxidation end products in oxidative damage to proteins. Potential role in diseases and therapeutic prospects for the inhibitors, *Br. J. Pharmacol.*, **153**, 6–20.
15. Давыдов В.В., Божков А.И. (2003) Метаболизм эндогенных альдегидов: участие в реализации повреждающего действия оксидативного стресса и его возрастные аспекты, *Биомедицинская химия*, **49**, 374–387.
16. Higdon, A.N., Landar, A., Barnes, S., Darley-Usmar, V.M. (2012) The electrophile responsive proteome: integrating proteomics and lipidomics with cellular function, *Antioxid.Redox. Signal.*, **17**, 1580–1589.
17. Cohen, G., Riahi, Y., Sunda, V., Deplano, S., Chatgililoglu, C., Ferri, C., Kaiser, N., Sasson, S. (2013) Signaling properties of 4-hydroxyalkenals formed by lipid peroxidation in diabetes, *Free Radic. Biol. Med.*, **65**, 978–987.
18. Csala, M., Kardon, T., Legeza, B., Lizák, B., Mandl, J., Margittai, É., Puskás, F., Száraz, P., Szelényi, P., Bánhegyi, G. (2015) On the role of 4-hydroxynonenal in health and disease, *Biochim. Biophys. Acta*, **1852**, 826–838.
19. Thornalley, P. (2005) Dicarbonyl intermediates in the Maillard reaction, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **1043**, 111–117.
20. Dutra, F., Knudsen, F.S., Curi, D., Bechara, E.J.H. (2001) Aerobic oxidation of aminoacetone, a threonine catabolite: iron catalysis and coupled iron release from ferritin, *Chem. Res. Toxicol.*, **14**, 1323–1329.
21. Cooper, R.A. (1984) Metabolism of methylglyoxal in microorganisms, *Annu. Rev. Microbiol.*, **38**, 49–68.
22. Lange, J.N., Wood, K.D., Knight, J., Assimios, D.G., Holmes, R.P. (2012) Glyoxal formation and its role in endogenous oxalate synthesis, *Hindawi Publishing Corporation Advances in Urology*, **2012**, Article ID e819202. doi:10.1155/2012/819202.
23. Ayala, A., Munoz, M.F., Arguelles, S. (2014) Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal, lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal, *Oxidative Med. Cell. Longev.*, Article ID 360438. doi:10.1155/2014/360438.
24. Cao, Y., Lu, Z.S., Qiao, Y., Wang, L., He, H.J., Yang, X., Li, C.M. (2005) A new hypothesis of endogenous formaldehyde as novel signaling molecule, *Proceedings: Indoor Air*, 3822–3826.
25. Yu, P.H., Wright, S.W., Fan, E.H., Lun, Z.R., Gubisne-Harberle, D. (2003) Physiological and pathological implications of semicarbazide-sensitive amine oxidase, *Biochim. Biophys. Acta*, **1647**, 193–199.
26. Anthony, C., Williams, P. (2003) The structure and mechanism of methanol dehydrogenase, *Biochim. Biophys. Acta*, **1647**, 18–23.
27. Stevens, J.F., Maier, C.S. (2008) Acrolein: sources, metabolism, and biomolecular interactions relevant to human health and disease, *Mol. Nutr. Food Res.*, **52**, 7–25.
28. Chen, D., Fang, L., Li, H., Tang, M., Jin, C. (2013) Cigarette smoke component acrolein modulates chromatin assembly by inhibiting histone acetylation, *J. Biol. Chem.*, **288**, 21678–21687.
29. Zhang, H., Forman, H.J. (2017) 4-hydroxynonenal-mediated signaling and aging, *Free Radic. Biol. Med.*, **111**, 219–225.
30. Held, K. (2006) Disorders of tyrosine catabolism, *Molecular Genetics and Metabolism*, **88**, 103–106.
31. Villacorta, L., Gao, Z., Schopfer, F.J., Freeman, B.A., Chen, Y.E. (2016) Nitro-fatty acids in cardiovascular regulation and diseases: characteristics and



- molecular mechanisms, *Front. Biosci. (Landmark Ed.)*, **21**, 873–889.
32. Sawa, T., Zaki, M.H., Okamoto, T., Akuta, T., Tokutomi, Y., Kim-Mitsuyama, S., Ihara, H., Kobayashi, A., Yamamoto, M., Fujii, S., Arimoto, H., Akaïke, T. (2007) Protein S-guanylation by the biological signal 8-nitroguanosine 3',5'-cyclic monophosphate, *Nat. Chem. Biol.*, **3**, 727–735.
  33. Омельчук С.Т., Великая Н.В., Залесский В.Н. (2015) Механизмы детоксикации ксенобиотиков: поддержка баланса детоксикации компонентами продуктов питания растительного происхождения, *Оригинальные исследования (Киев)*, № 1, 23–37.
  34. Spalteholz, H.; Panasenکو, O.M., Arnold, J. (2006) Formation of reactive halide species by myeloperoxidase and eosinophil peroxidase, *Arch. Biochem. Biophys.*, **445**, 225–234.
  35. Marnett, L.J., Riggins, J.N., West, J.D. (2003) Endogenous generation of reactive oxidants and electrophiles and their reactions with DNA and protein, *J. Clin. Invest.*, **111**, 583–593.
  36. Ланкин В.З., Тихазе А.К., Капелько В.И., Шепелькова Г.С., Шумаев К.Б., Панасенко О.М., Коновалова Г.Г., Беленков Ю.Н. (2007) Механизмы окислительной модификации липопротеидов низкой плотности при окислительном и карбонильном стрессе, *Биохимия*, **72**, 1330–1341.
  37. Космачевская О.В., Шумаев К.Б., Топунов А.Ф. (2015) Карбонильный стресс у бактерий: причины и последствия, *Успехи биологической химии*, **55**, 49–82. (Kosmachevskaya, O.V., Shumaev, K.B., Topunov, A.F. (2015). Carbonyl stress in bacteria: causes and consequences, *Biochemistry (Moscow)*, **80**, 1655–1671.)
  38. Космачевская О.В., Шумаев К.Б., Топунов А.Ф. (2017) Сигнальное и регуляторное действие метилглиоксала в эукариотических клетках, *Прикл. биохимия и микробиология*, **53**, 3, 253–270.
  39. Zimniak, P. (2011) Relationship of electrophilic stress to aging, *Free Radic. Biol. Med.*, **51**, 1087–1105.
  40. Beckman, J.S., Koppenol, W.H. (1996) Nitric oxide, superoxide and peroxynitrite: the good, the bad and the ugly, *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, **271**, 1424–C1437.
  41. Calabrese, E.J. (2014) Hormesis: a fundamental concept in biology, *Microbial Cell*, **1**, 145–149.
  42. Calabrese, E.J., Dhawan, G., Kapoor, R., Iavicoli, L., Calabrese, V. (2016) Hormesis: A Fundamental concept with widespread biological and biomedical applications, *Gerontology*, **62**, 530–535.
  43. Насонов Д.Н., Александров В.Я. (1940) Реакция живого вещества на внешние воздействия. М.–Л.: Изд-во АН СССР. 252 с.
  44. Насонов, Д.Н. (1962) *Местная реакция протоплазмы и распространяющееся возбуждение*. М.–Л.: Изд-во АН СССР. 426 с.
  45. Matveev, V.V. (2005) Protoreaction of protoplasm, *Cell. Mol. Biol.*, **51**, 715–723.
  46. Браун А.Д., Моженко Т.П. (1987) Неспецифический адаптационный синдром клеточной системы. Л.: Наука. 232 с.
  47. Бурлакова Е.Б., Конрадов А.А., Мальцева Е.Л. (2003) Действие сверхмалых доз биологически активных веществ и низкоинтенсивных физических факторов, *Химическая физика*, **22**, 2, 21–40.
  48. Bhakta-Guha, D., Efferth, T. (2015) Hormesis: decoding two sides of the same coin, *Pharmaceuticals (Basel)*, **8**, 865–883.
  49. Александров В.Я. (1985) Реактивность клеток и белки. Л.: Наука. 318 с.
  50. Vaiserman, A.M. (2010) Hormesis, adaptive epigenetic reorganization, and implications for human health and longevity, *Dose Response*, **8**, 16–21.
  51. Costantini, D. (2014) Oxidative stress and hormesis in evolutionary ecology and physiology. A marriage between mechanistic and evolutionary approaches. Springer, Luxembourg. 348 p.

52. Dattilo, S., Mancuso, C., Koverech, G., Mauro, P.D., Ontario, M.L., Petralia, C.C., Petralia, A., Maiolino, L., Serra, A., Calabrese, E.J., Calabrese, V. (2015) Heat shock proteins and hormesis in the diagnosis and treatment of neurodegenerative diseases, *Immun. Ageing*, **12**, Article ID e20. doi:10.1186/s12979-015-0046-8.
53. Taguchi, K., Yamamoto, M. (2017) The KEAP1–NRF2 system in cancer, *Front. Oncol.*, **7**, 85.
54. Ткачев В.О., Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К. (2011) Механизм работы сигнальной системы Nrf2/Keap1/ARE, *Биохимия*, **76**, 4, 502–519.
55. Forman, H.J., Ursinic, F. (2014) Para-hormesis: An innovative mechanism for the health protection brought by antioxidants in wine, *Nutrition and Aging*, **2**, 117–124.
56. Forman, H.J., Davies, K.J., Ursini F. (2014) How do nutritional antioxidants really work: nucleophilic tone and para-hormesis versus free radical scavenging *in vivo*, *Free Radic. Biol. Med.*, **66**, 24–35.
57. Ott, C., Jacobs, K., Haucke, E., Santos, A.N., Grune, T., Simm, A. (2014) Role of advanced glycation end products in cellular signaling, *Redox Biol.*, **2**, 411–429.
58. Cohen, G., Riahi, Y., Sunda, V., Deplano, S., Chatgililoglu, C., Ferreri, C., Kaiser, N., Sasson, S. (2013) Signaling properties of 4-hydroxyalkenals formed by lipid peroxidation in diabetes, *Free Radic. Biol. Med.*, **65**, 978–987.
59. Maulucci, G., Daniel, B., Cohen, O., Avrahami, Y., Sasson, S. (2016) Hormetic and regulatory effects of lipid peroxidation mediators in pancreatic beta cells, *Mol. Aspects Med.*, **49**, 49–77.
60. Sasson, S. (2017) 4-Hydroxyalkenal-activated PPAR $\delta$  mediates hormetic interactions in diabetes, *Biochimie*, **136**, 85–89.
61. Лю Б.Н. (2003) Старение, возрастные патологии и канцерогенез (Кислородно-перекисная концепция). Алматы: Med-Books.by. 706 с. <http://med-books.by/gerontologiya/9564-starenie-vozzrastnye-patologii-i-kanserogenez-kislородно-perekisnaya-koncepciya-lyu-bn-2003-god-706-s.html>.
62. Wong, H.S., Dighe, P.A., Mezera, V., Monternier, P.A., Brand, M.D. (2017) Production of superoxide and hydrogen peroxide from specific mitochondrial sites under different bioenergetic conditions, *J. Biol. Chem.*, **292**, 16804–16809.
63. Тарусов Б.Н. (1970) Авторегуляторная роль антиоксидантов при адаптации организмов к условиям внешней среды, *Биофизика*, **15**, 2, 324–332.
64. Együd, L.G., Szent-Györgyi, A. (1966) On the regulation of cell division, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **56**, 203–207.
65. Szent-Györgyi, A., Egyiid, L.G., McLaughlin, J.A. (1967) Ketoaldehydes and cell division. *Science*, **155**, 539–541.
66. Együd, L.G., Szent-Györgyi, A. (1968) Cancerostatic action of methylglyoxal, *Science*, **160**, 1140.
67. Chang, T., Wang, R., Olson, D.J., Mousseau, D.D., Ross, A.R., Wu, L. (2011) Modification of Akt1 by methylglyoxal promotes the proliferation of vascular smooth muscle cells, *FASEB J.*, **25**, 1746–1757.
68. Radu, B.M., Dumitrescu, D.I., Mustaciosu, C.C., Radu, M. (2012) Dual effect of methylglyoxal on the intracellular Ca<sup>2+</sup> signaling and neurite outgrowth in mouse sensory neurons, *Cell. Mol. Neurobiol.*, **32**, 1047–1057.
69. Nokin, M.-J., Durieux, F., Bellier, J., Peulen, O., Uchida, K., Spiegel, D.A., Cochrane, J.R., Hutton, C.A., Castronovo, V., Bellahcène, A. (2017) Hormetic potential of methylglyoxal, a side-product of glycolysis, in switching tumours from growth to death, *Scientific Reports*, **7**, 11722.
70. Kreuzer, T., Zarcovic, N., Grube, R., Schaur, R.J. (1997) Inhibition of HeLa cell proliferation by 4-hydroxynonenal is associated with enhanced expression of the c-fos oncogene, *Cancer Biother. Radiopharm.*, **12**, 131–136.



71. O'Neill, J.S., Reddy, A.B. (2011) Circadian clocks in human red blood cells, *Nature*, **469**, 498–503.
72. Targosz-Korecka, M., Brzezinka, G.D., Malek, K.E., Stepień E., Szymonski, M. (2013) Stiffness memory of EA.hy926 endothelial cells in response to chronic hyperglycemia, *Cardiovasc. Diabetol.*, **12**, Article ID e96. doi:10.1186/1475-2840-12-96.
73. Rajasekar, P., O'Neill, C.L., Eeles, L., Stitt, A.W., Medina, R.J. (2015) Epigenetic changes in endothelial progenitors as a possible cellular basis for glycemic memory in diabetic vascular complications, *J. Diabetes Res.*, **2015**, 436879–436896.
74. Бычкова В.Е., Басова Л.В., Балобанов В.А. (2014) Как мембранная поверхность воздействует на структуру белков, *Успехи биологической химии*, **54**, 133–202.
75. Yang, J., Carroll, K.S., Liebler, D.C. (2016) The Expanding landscape of the thiol redox proteome, *Mol. Cell. Proteomics.*, **15**, 1–11.
76. Paulsen, C.E., Carroll, K.S. (2013) Cysteine-mediated redox signaling: chemistry, biology, and tools for discovery, *Chem. Rev.*, **113**, 4633–4679.
77. Poole, L.B. (2015) The basics of thiols and cysteines in redox biology and chemistry, *Free Radic. Biol. Med.*, **80**, 148–157.
78. Yuan, K., Liu, Y., Chen, H.-N., Zhang, L., Lan, J., Gao, W., Dou, Q., Nice, E.C., Huang, C. (2015) Thiol-based redox proteomics in cancer research, *Proteomics*, **15**, 287–299.
79. Jones, D.P., Sies, H. (2015) The redox code, *Antioxid. Redox Signal.*, **23**, 734–746.
80. Gruhlke, M.C.H., Slusarenko, A.J. (2012) The biology of reactive sulfur species (RSS), *Plant Physiol. Biochem.*, **59**, 98–107.
81. Медведев Д.В., Звягина В.И. (2017) Молекулярные механизмы токсического действия гомоцистеина, *Кардиологический вестник*, **12**, 52–57.
82. Klomsiri, C., Karplus, P.A., Poole, L.B. (2011) Cysteine-based redox switches in enzymes, *Antioxid. Redox Signal.*, **14**, 1065–1077.
83. Hanschmann, E.M., Godoy, J.R., Berndt, C., Hudemann, C., Lillig, C.H. (2013) Thioredoxins, glutaredoxins, and peroxiredoxins-molecular mechanisms and health significance: from cofactors to antioxidants to redox signaling, *Antioxid. Redox Signal.*, **19**, 1539–1605.
84. Wadley, A.J., Aldred, S., Steven, J. (2016) An unexplored role for Peroxiredoxin in exercise-induced redox signalling? *Coles Redox Biology*, **8**, 51–58.
85. Wang, Y., Schattenberg, J.M., Rigoli, R.M., Storz, P., Czaja, M.J. (2004) Hepatocyte resistance to oxidative stress is dependent on protein kinase C mediated down-regulation of c-Jun/AP-1, *J. Biol. Chem.*, **279**, 31089–31097.
86. Jin, Q., Jhun, B.S., Lee, S.H., Lee, J., Pi, Y., Cho, Y.H., Baik, H.H. Kang I. (2004) Differential regulation of phosphatidylinositol 3-kinase/Akt, mitogen-activated protein kinase, and AMP-activated protein kinase pathways during menadione-induced oxidative stress in kidney of young and old rats, *Biochem. Biophys. Res. Commun*, **315**, 555–561.
87. Corcoran, A., Cotter, T.G. (2013) Redox regulation of protein kinases, *FEBS J.*, **280**, 1944–1965.
88. MacKay, C.E., Knock, G.A. (2015) Control of vascular smooth muscle function by Src-family kinases and reactive oxygen species in health and disease, *J. Physiol. (Lond.)*, **593**, 3815–3828.
89. Meng, T.-C., Buckley, D.A., Galic, S., Tiganis, S., Tonks, N.K. (2004) Regulation of insulin signaling through reversible oxidation of the protein-tyrosine phosphatases TC45 and PTP1B, *J. Biol. Chem.*, **279**, 37716–37725.
90. Chen, D., Fang, L., Li, H., Tang, M., Jin, C. (2013) Cigarette smoke component acrolein modulates chromatin assembly by future science group www.futuremedicine.com 859 Oxidative stress signaling to chromatin in health & disease Review inhibiting histone acetylation, *J. Biol. Chem.*, **288**, 21678–21687.

91. Tanner, J.J., Parsons, Z.D., Cummings, A.H., Zhou, H., Gates, K.S. (2011) Redox regulation of protein tyrosine phosphatases: structural and chemical aspects, *Antioxid. Redox. Signal.*, **15**, 77–97.
92. Claiborne, A., Miller, H., Parsonage, D., Ross, R.P. (1993) Protein-sulfenic acid stabilization and function in enzyme catalysis and gene regulation, *FASEB J.*, **15**, 1483–1490.
93. Liu, H., Colavitti, R., Rovira, I.I., Finkel, T. (2005) Redox-dependent transcriptional regulation, *Circulation Research*, **97**, 967–974.
94. Surh Y.-J., Kundu J.K., Na H.-K., Lee J.-S. Redox-sensitive transcription factors as prime targets for chemoprevention with anti-inflammatory and antioxidative phytochemicals, *The Journal of Nutrition*, **135**, 2993–3001.
95. Klotz, L.-O., Sánchez-Ramos, C., Prieto-Arroyo, I., Urbánek, P., Steinbrenner, H., Monsalve, M. (2015) Redox regulation of FoxO transcription factors, *Redox Biology*, **6**, 51–72.
96. Fernandez-Caggiano, M., Schröder, E., Cho, H.-J., Burgoyne, J., Barallobre-Barreiro, J., Mayr, M., Eaton, P. (2016) Oxidant-induced interprotein disulfide formation in cardiac protein DJ-1 occurs via an interaction with peroxiredoxin 2, *J. Biol. Chem.*, **291**, 10399–10410.
97. Aфанас'ев, I.B. (2006) Competition between superoxide and hydrogen peroxide signaling in heterolytic enzymatic processes, *Med. Hypotheses*, **66**, 1125–1128.
98. Zickus, M.A., Fonseca, F.V., Tummala, M., Black, S.M., Ryzhov, V. (2008) Identification of the tyrosine nitration sites in human endothelial nitric oxide synthase by liquid chromatography-mass spectrometry, *Eur. J. Mass Spectrom. (Chichester, Eng)*, **14**, 239–247.
99. Daiber, A., Daub, S., Bachschmid, M., Schildknecht, S., Oelze, M., Steven, S., Schmidt, P., Megner, A., Wada, M., Tanabe, T., Münzel, T., Bottari, S., Ullrich, V. (2013) Protein tyrosine nitration and thiol oxidation by peroxynitrite-strategies to prevent these oxidative modifications, *Int. J. Mol. Sci.*, **14**, 7542–7570.
100. Hu, S., Liu, H., Ha, Y., Luo, X., Motamedi, M., Gupta, M.P., Ma, J.X., Tilton, R.G., Zhang, W. (2015) Posttranslational modification of Sirt6 activity by peroxynitrite, *Free Radic. Biol. Med.*, **79**, 176–185.
101. Su, Y., Qadri, S.M., Wu, L., Liu, L. (2013) Methylglyoxal modulates endothelial nitric oxide synthase-associated functions in EA.hy926 endothelial cells, *Cardiovasc. Diabetol.*, **12**, 134–143.
102. Bogeski, I., Niemeyer, B.A. (2014) Redox regulation of ion channels, *Antioxid. Redox. Signal.*, **21**, 859–862.
103. Irie, T., Sips, P.Y., Kai, S., Kida, K., Ikeda, K., Hirai, S., Moazzami, K., Jiramongkolchai, P., Bloch, D.B., Doulias, P.T., Armoundas, A.A., Kaneki, M., Ischiropoulos, H., Kranias, E., Bloch, K.D., Stamler, J.S., Ichinose, F. (2015) S-Nitrosylation of calcium-handling proteins in cardiac adrenergic signaling and hypertrophy, *Circulation Research*, **117**, 793–803.
104. Cakir, Y., Ballinger, S.W. (2005) Reactive species-mediated regulation of cell signaling and the cell cycle: the role of MAPK, *Antioxid. Redox. Signal.*, **7**, 726–740.
105. Zhang, T., Kwiatkowski, N., Olson, C.M., Dixon-Clarke, S.E., Abraham, B.J., Greifenberg, A.K., Ficarro, S.B., Elkins, J.M., Liang, Y., Hannett, N.M., Manz, T., Hao, M., Bartkowiak, B., Greenleaf, A.L., Marto, J.A., Geyer, M., Bullock, A.N., Young, R.A., Gray, N.S. (2016) Covalent targeting of remote cysteine residues to develop CDK12 and 13 inhibitors, *Nat. Chem. Biol.*, **12**, 876–884.
106. Srivastava, A.K. (2005) Redox regulation of insulin action and signaling, *Antioxid. Redox. Signal.*, **7**, 1011–1013.
107. Rhee, S.G., Bae, Y.S., Lee, S.R., Kwon, J. (2000) Hydrogen peroxide: a key messenger that modulates protein phosphorylation through cysteine oxidation, *Science's STKE*, **2000**, Article ID pe1. doi:10.1126/stke.2000.53.pe1.

108. Shumaev, K.B., Kosmachevskaya, O.V., Timoshin, A.A., Vanin, A.F., Topunov, A.F. (2008) Dinitrosyl iron complexes bound with haemoglobin as markers of oxidative stress, *Methods in Enzymology*, **436**, 441–457.
109. Talalay, P., De Long, M.J., Prochaska, H.J. (1988) Identification of a common chemical signal regulating the induction of enzymes that protect against chemical carcinogenesis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **85**, 8261–8265.
110. Dinkova-Kostova, A.T., Kostov, R.V., Canning, P. (2017) Keap1, the cysteine-based mammalian intracellular sensor for electrophiles and oxidants, *Arch. Biochem. Biophys.*, **617**, 84–93.
111. Kurganov, B.I. (1985) Control of enzyme activity in reversibly adsorptive enzyme systems, in *Organized multienzyme systems*. Acad. Press., N.Y., pp. 241–270.
112. Капрельянц А.С. (1988) Пространственно-динамическая организация ферментов в клетке и регуляция метаболизма, *Биологические науки*, **6**, 5–13.
113. Grütznher, A., Garcia-Manyes, S., Kötter, S., Badilla, C.L., Fernandez, J.M., Linke, W.A. (2009) Modulation of titin-based stiffness by disulfide bonding in the cardiac titin N2-B unique sequence, *Biophys. J.*, **97**, 825–834.
114. Beeby, M., O'Connor, B.D., Ryttersgaard, C., Boutz, D.R., Perry, L.J., Yeates, T.O. (2005) The genomics of disulfide bonding and protein stabilization in thermophiles, *PLoS Biol.*, **3**, e309.
115. Гончарова Н.Ю., Зеленина Е.В. (1991) Влияние инсулина на каталитическую эффективность II изоэзима гексокиназы в скелетных мышцах крысы, *Биохимия*, **56**, 5, 913–922.
116. Monnier, V.M., Wu, X. (2003) Enzymatic deglycation with amadoriase enzymes from *Aspergillus* sp. as a potential strategy against the complications of diabetes and aging, *Biochem. Soc. Trans.*, **6**, 1349–1353.
117. Szwergold, B.S. (2005) Intrinsic toxicity of glucose, due to non-enzymatic glycation, is controlled by deglycation systems including: FN3K-mediated deglycation of fructosamines and transglycation of aldosesamines, *Med. Hypotheses*, **65**, 337–348.
118. Brewer, G.J. (2010) Epigenetic oxidative redox shift (EORS) theory of aging unifies the free radical and insulin signaling theories, *Exp. Gerontol.*, **45**, 173–179.
119. Galligan, J.J., Mitchener, M.M., Wauchope, O.R., Wang, T., Rose, K.L., Spiegel, D.A., Marnett, L.J. (2016) Histones are targets for modification by glucose-derived methylglyoxal, *The FASEB Journal.*, **30**, Suppl. 586.2.
120. Mir, A.R., Uddin, M., Khan, F., Alam, K., Ali, A. (2015) Dicarbonyl induced structural perturbations make histone H1 highly immunogenic and generate an auto-immune response in cancer, *PLoS One.*, **10**, Article ID e0136197. doi:10.1371/journal.pone.0136197.
121. Mir, A.R., Moinuddin, Habib, S., Khan, F., Alam, K., Ali, A. (2016) Structural changes in histone H2A by methylglyoxal generate highly immunogenic amorphous aggregates with implications in auto-immune response in cancer, *Glycobiology*, **26**, 129–141.
122. Drake, J., Petroze, R., Castegna, A., Ding, Q., Keller, J.N., Markesbery, W.R., Lovell, M.A. Butterfield, D.A. (2004) 4-Hydroxynonenal oxidatively modifies histones: implications for Alzheimer's disease, *Neurosci Lett.*, **356**, 155–158.
123. Kreuz, S., Fischle, W. (2016) Oxidative stress signaling to chromatin in health and disease, *Epigenomics*, **8**, 843–862.
124. Massari, J., Tokikawa, R., Zanolli, L., Tavares, M.F., Assunção, N.A., Bechara, E.J. (2010) Acetyl radical production by the methylglyoxal-peroxynitrite system: a possible route for L-lysine acetylation, *Chem. Res. Toxicol.*, **23**, 1762–1770.
125. Tokikawa, R., Loffredo, C., Uemi, M., Machini, M.T., Bechara, E.J. (2014) Radical acylation of L-lysine

- derivatives and L-lysine-containing peptides by peroxyxynitrite-treated diacetyl and methylglyoxal, *Free Radic. Res.*, **48**, 357–370.
126. Su, T., He, R. (2017) Formaldehyde playing a role in (de)methylation for memory. *Formaldehyde and Cognition (eBook)* / ed. R. He. Springer Science+Business Media, Luxembourg, 47–61. doi: 10.1007/978-94-024-1177-5\_3.
127. Vanin, A.F. (2016) Dinitrosyl iron complexes with thiol-containing ligands as a «working form» of endogenous nitric oxide, *Nitric Oxide*, **54**, 15–29.
128. Шумаев К.Б. (2010) Роль динитрозильных комплексов железа в защите биомолекул и клеточных структур от окислительного, нитрозативного и крабонильного стрессов. Дис. док. биол. наук. М.: Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН. 332 с.
129. Шумаев К.Б., Губкина С.А., Ванин А.Ф., Бурбаев Д.Ш., Мох В.П., Топунов А.Ф., Рууге Э.К. (2013) Образование нового типа динитрозильных комплексов железа, связанных с цистеином, модифицированным метилглиоксалем, *Биофизика*, **58**, 239–345.
130. Jarosz, D.F., Lindquist, S. (2010) Hsp90 and environmental stress transform the adaptive value of natural genetic variation, *Science*, **330**, 1820–1824.
131. Rohner, N., Jarosz, D.F., Kowalko, J.E., Yoshizawa, M., Jeffery, W.R., Borowsky, R.L., Lindquist, S., Tabin, C.J. (2013) Cryptic variation in morphological evolution: HSP90 as a capacitor for loss of eyes in cavefish, *Science*, **342**, 1372–1375.
132. Скулачев В.П. (1998) Альтернативные функции клеточного дыхания, *Соросовский Образовательный Журнал*, № 8, 2–7.
133. Bellahcene, A., Nokin, M.J., Castronovo, V., Schalkwijk, C. (2017) Methylglyoxal-derived stress: an emerging biological factor involved in the onset and progression of cancer, *Seminars in Cancer Biology*, pii:S1044-579X(17)30087-1. doi:10.1016/j.semcancer.2017.05.010.
134. Nokin, M.-J., Durieux, F., Bellier, J., Peulen, O., Uchida, K., Spiegel, D.A., Cochrane, J.R., Hutton, C.A., Castronovo, V., Bellahcene, A. (2017) Hormetic potential of methylglyoxal, a side-product of glycolysis, in switching tumours from growth to death, *Scientific Reports*, **7**, 11722.
135. Milton, C.C., Ulane, C.M., Rutherford, S. (2006) Control of canalization and evolvability by Hsp90, *PLoS ONE*, **1**, Article ID e75. doi:10.1371/journal.pone.0000075.
136. Кунин Е.В. (2014) Логика случая. О природе и происхождении биологической эволюции. М.: Центрполиграф. 527 с.
137. Stoka, A.M. (1999) Phylogeny and evolution of chemical communication: an endocrine approach, *J. Mol. Endocrinol.*, **22**, 207–225.