

DOI: 10.7868/S3034574X26030041
УДК 579.66

Оригинальная статья

ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ ОТВЕТ ГРИБА БЕЛОЙ ГНИЛИ *TRAMETES HIRSUTA* LE-BIN 072 НА ПРИСУТСТВИЕ ЭСТРОГЕНОВ В РОСТОВОЙ СРЕДЕ

О.С. Савинова^{1,*}, А.В. Шабаев¹, Т.В. Федорова¹

¹Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии»
Российской академии наук, Москва, Российская Федерация

*E-mail: savinova_os@rambler.ru

Аннотация. Загрязнение объектов окружающей среды ксенобиотиками, оказывающими негативное влияние на эндокринную систему животных и человека (т. н. «эндокринные разрушители», EDCs), представляет серьезную экологическую проблему из-за своей токсичности и устойчивости к деградации. Благодаря активному комплексу внутри- и внеклеточных ферментов, грибы белой гнили (WRF), в частности рода *Trametes*, могут рассматриваться как перспективные объекты для микоремедиации. Тем не менее, механизм микоремедиации эстрогенов грибами белой гнили изучен недостаточно. В настоящей работе с использованием протеомного подхода рассмотрен клеточный ответ WRF *Trametes hirsuta* LE-BIN 072 на присутствие в среде культивирования эстрогенов эстрадиона и эстрадиола (типичных EDCs). С помощью MALDI-TOF-TOF MS/MS было идентифицировано более 50 белков, продукция которых изменялась в присутствии эстрогенов. В частности, белки, участвующие в энергетическом обмене, метаболизме и транспорте липидов, углеводов и аминокислот, показали повышенную продукцию, среди которых алкогольдегидрогеназы (ADHs), альдегиддегидрогеназы (ALDHs), алкоголь оксидазы (AOX), бензохинон редуктазы и др. Процесс внутриклеточной биотрансформации эстрогенов сопровождался повышенной продукцией белков антиоксидантной защиты гриба (каталазы, супероксиддисмутазы, пероксиредоксинов и NAD(P)H-хиноноксидоредуктазы NQO1), а также белка теплового шока (HSP60) для противодействия окислительному стрессу и неправильному сворачиванию белков. Показано, что в присутствии эстрогенов также усиливалась продукция белков цикла Кребса, глиоксилатного шунта (GS) и пентозофосфатного пути (PPP).

Ключевые слова: *Trametes hirsuta*, микоремедиация, эстрогены, внутриклеточные белки, протеом

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант РНФ № 23-46-00018.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи.

Ссылка для цитирования: Савинова О.С., Шабаев А.В., Федорова Т.В. Внутриклеточный ответ гриба белой гнили *Trametes hirsuta* LE-BIN 072 на присутствие эстрогенов в ростовой среде. *Прикладная биохимия и микробиология / Applied biochemistry and microbiology*. 2026. Т. 62. № 3. С. 389–402. <https://doi.org/10.7868/S3034574X26030041>

© О. С. Савинова, А. В. Шабаев, Т. В. Федорова, 2026

INTRACELLULAR RESPONSE OF WHITE ROT FUNGI *TRAMETES HIRSUTA* LE-BIN 072 TO THE PRESENCE OF ESTROGENS

O.S. Savinova^{1,*}, A.V. Shabaev¹, T.V. Fedorova¹

¹*Bach Institute of Biochemistry, Fundamentals of Biotechnology Federal Research Center, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation*

**E-mail: savinova_os@rambler.ru*

Abstract. The contamination of environmental objects with xenobiotics that have a negative impact on the endocrine system of animals and humans (so-called ‘endocrine disruptors’, **EDCs**) poses a serious environmental problem due to their toxicity and resistance to degradation. Thanks to an active complex of intracellular and extracellular enzymes, white rot fungi (**WRF**), particularly those of the genus *Trametes*, can be considered promising candidates for mycoremediation. However, the mechanism of mycoremediation of oestrogens by white rot fungi has not been sufficiently studied. In this study, a proteomic approach was used to examine the cellular response of WRF *Trametes hirsuta* LE-BIN 072 to the presence of estrogens E1 and E2 (typical EDCs) in the culture medium. Using MALDI-TOF-TOF MS/MS, more than 50 proteins were identified whose production changed in the presence of estrogens. In particular, proteins involved in energy metabolism, metabolism and transport of lipids, carbohydrates and amino acids showed increased production, including alcohol dehydrogenases (ADHs), aldehyde dehydrogenases (ALDHs), alcohol oxidases (AOX), benzoquinone reductase, and others. The process of intracellular biotransformation of oestrogens was accompanied by increased production of antioxidant defence proteins of the fungus (catalase, superoxide dismutase, peroxiredoxins, and NAD(P)H-quinone oxidoreductase NQO1), as well as heat shock protein (HSP60) to counteract oxidative stress and protein misfolding. It has been shown that in the presence of oestrogens, the production of Krebs cycle, glyoxylate shunt (GS) and pentose phosphate pathway (PPP) proteins also increased.

Keywords: *Trametes hirsuta*, mycoremediation, estrogens, intracellular proteins, proteome

Funding. The work was carried out with the financial support of the Russian Science Foundation, RSF grant No. 23-46-00018.

Conflict of interests. The authors of this work declare that they have no conflict of interest.

Authors contribution. All authors made significant contributions to the development of the concept, the research, and the preparation of the article.

For Citation: Savinova O.S., Shabaev A.V., Fedorova T.V. Intracellular response of white rot fungi *Trametes hirsuta* LE-BIN 072 to the presence of estrogens. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya / Applied biochemistry and microbiology*. 2026;62(3): 389–402. (In Russ.) <https://doi.org/10.7868/S3034574X26030041>

ВВЕДЕНИЕ

Загрязнение окружающей среды ксенобиотиками стало серьезной проблемой мирового масштаба. Одними из опаснейших ксенобиотиков, нуждающихся в особом контроле, являются группы соединений, оказывающие активное влияние на работу эндокринной системы живых организмов, в т. ч. человека — так называемые «эндокринные разрушители» (EDCs). Особые опасения вызывают эстрогены (типичные EDCs) — группа стероидных половых гормонов. Наличие эстрогенов в окружающей среде, даже в крайне низких концентрациях, может не только неблагоприятно влиять на физиологию и поведение животных, растений и людей, но и вызывать развитие сердечно-сосудистых заболеваний и канцерогенез [7, 19, 30, 38].

Существует множество источников загрязнения окружающей среды стероидными гормонами. Население мира, составляющее сегодня около 7 миллиардов человек, выделяет в среднем 30 тонн/год природных стероидных эстрогенов — эстрона (E1), эстрадиола (E2) и эстриола (E3), и примерно 0,7 тонн/год синтетического 17- α -этинилэстрадиола (EE2) из-за практики приема противозачаточных таблеток. В животноводстве стероидные гормоны зачастую используются для повышения эффективности кормления и наращивания мышечной массы. Используемый для этого корм содержит синтетические стероиды, которые выделяются затем с экскрементами сельскохозяйственных животных, попадая в сточные воды и почву, а затем и в грунтовые воды [1]. Кроме того, стероидные гормоны в настоящее время чрезмерно используются большой группой людей для наращивания мышечной массы. Еще одним источником загрязнения эстрогенами являются больницы, в сточных водах которых обнаружен высокий уровень стероидных гормонов [2,3].

Эстрогены в отходах животных и человека представляют серьезный риск для окружающей среды, который еще больше усиливается широко распространенной сельскохозяйственной практикой внесения навоза животных в качестве альтернативного удобрения на полях сельскохозяйственных культур для органического земледелия [4]. Сегодня внесение навоза животных на поля сельскохозяйственного назначения определяют как основной источник эстрогена в почвах [17,24].

В окружающей среде эстрогены сорбируются в почвенных или водных матрицах, поглощаются растениями, подвергаются фототрансформации и микробной деградации [17, 20]. Среди этого микробная деградация имеет важное значение, поскольку эстрогены являются богатыми углеродом соединениями, которые могут быть использованы микроорганизмами в качестве источника углерода и энергии. И если механизмы бактериальной деградации эстрогенов в настоящее время довольно

хорошо изучены, то подобных сведений относительно грибов недостаточно.

Между тем проблему загрязнения сточных вод и почв можно решить с помощью грибов. Последние достижения в области микоремедиации свидетельствуют о том, что грибы являются перспективными объектами для недорогой, экологически безопасной детоксикации и минерализации различных загрязнителей окружающей среды [10, 33, 49]. Грибы, как правило, более устойчивы к токсичным соединениям и суровым условиям окружающей среды (таким как чрезвычайно кислые уровни pH, высокие температуры или наличие токсичных побочных продуктов), нежели бактерии. Эта устойчивость обусловлена прочными клеточными стенками, которые обеспечивают грибам защитный барьер от экологических стрессоров и способность адаптироваться к неблагоприятным условиям [49]. Кроме того, WRF обладают обширными мультиферментными секретруемыми комплексами с широкой субстратной специфичностью, позволяющими трансформировать различные ксенобиотики, их смеси и метаболиты вне клетки.

В ряде исследований были описаны возможности деструкции различных EDCs как лигнолитическими, так и нелигнолитическими видами грибов [8, 22, 34, 43, 53]. Однако отмечают, что именно лигнолитические грибы (в частности грибы белой гнили, WRF) являются уникальными микроорганизмами, которые обладают способностью к деградации широкого спектра токсичных соединений, поскольку важнейший механизм разложения ксенобиотиков связан с продукцией WRF комплекса лигнолитических ферментов, участвующих в разложении лигнина. Внеклеточные ферменты, модифицирующие лигнин (лакказы и пероксидазы), обладают широкой субстратной специфичностью, что позволяет разлагать большое количество структурно схожих с лигнином токсичных соединений [9, 28].

Немаловажным фактом является и то, что вклад в детоксификацию ксенобиотиков мицелиальными грибами вносит биосорбция ксенобиотиков и продуктов их трансформации на мицелии [5, 40, 43], тем самым улучшая эффективность процесса. Все больше исследований доказывают, что внутриклеточные или связанные с клеточной стенкой ферменты (intracellular or cell-bound enzymes) WRF также принимают непосредственное участие в деградации ксенобиотиков [23, 46].

Многие исследователи отмечают, что насущной необходимостью является исследование новых видов грибов и их ферментативных механизмов для потенциальной борьбы с загрязнителями окружающей среды.

Ранее была показана способность гриба белой гнили *Trametes hirsuta* LE-BIN 072 к деструкции различных EDCs в водных средах [41]. При

деструкции эстрогенов, таких как эстрон и эстрадиол [40], *T. hirsuta* LE-BIN 072 показал довольно высокий деградационный потенциал — более 95 % ксенобиотиков было трансформировано в течение первых 3 суток. Исследование секретомов *T. hirsuta* LE-BIN 072, полученных в присутствии E1 и E2, показало, что в процессе внеклеточной деструкции эстрогенов и их метаболитов участвуют лигнолитические пероксидазы (MnP5, MnP7 и VP2). Также была отмечена значительная роль биосорбции эстрогенов и продуктов их трансформации на мицелии. Это может означать, что процессы трансформации могут проходить не только под действием секретлируемых ферментов, но и внутри клетки [40].

К сожалению, на сегодняшний день информация о внутриклеточных белках, чувствительных к EDCs, в грибах белой гнили все еще очень ограничена. Данное исследование было сосредоточено на изучении внутриклеточного ответа (эндопротеом) *T. hirsuta* LE-BIN 072 на присутствие EDCs в ростовой среде на примере эстрогенов (E1 и E2), стремясь понять молекулярные события внутри клетки, вызванные этими ксенобиотиками у данного гриба.

МЕТОДИКА

Реактивы. В работе были использованы эстрон (3-гидроксиэстра-1,3,5(10)-триен-17-он, E1, C₁₈H₂₂O₂) и 17β-эстрадиол (3,17β-дигидроксиэстра-1,3,5(10)-триен, E2, C₁₈H₂₄O₂) фирмы Sigma-Aldrich (США), метанол (PanReac, Испания). Другие материалы и растворители квалификации «хч» и «чда» были приобретены у российских производителей.

Штаммы и условия культивирования. Штамм базидиомицета *Trametes hirsuta* LE-BIN 072 получен из Коллекции культур Ботанического института им. В.Л. Комарова (Санкт-Петербург, Россия).

Для получения инокулята гриб выращивали стационарно при 25 °С в течение 10–14 дней в колбах объемом 750 мл со стеклянными бусами на глюкозо-пептонной среде (ГП, GP) следующего состава (г/л): пептон, 3,0; глюкоза, 10; KH₂PO₄, 0,6; K₂HPO₄ · 3H₂O, 0,4; MgSO₄ · 7H₂O, 0,5; CaCl₂, 0,5; MnSO₄ · 5H₂O, 0,05; ZnSO₄, 0,001; FeSO₄, 0,0005 [40], после чего мицелий гомогенизировали на роторной качалке при 180 об./мин в течение 30 мин. Полученный инокулят в объеме 10 % засеивали для выращивания глубинным способом в ГП среду с целью получения мицелиальных пеллет и культивировали при 180 об./мин и 27 °С в течение 7 сут. Полученные грибные пеллеты отделяли фильтрованием и промывали стерильной водой, после чего 10 г грибной биомассы стерильно переносили в качалочные колбы на 750 мл со 100 мл среды ГП для проведения трансформации эстрогенов при 180 об./мин и 27 °С. E1 и E2 добавляли в колбы в виде раствора в метаноле (5% об. финальный), как опи-

сано в [40]. Концентрация эстрогенов составляла 100 мг/л (370 и 368 μМ для E1 и E2 соответственно).

Экстракция внутриклеточных белков. Образцы мицелия для анализа внутриклеточных белков отбирали на 1+2+3 сутки (объединенные пробы), как описано в [40]. Мицелий отделяли от культуральной жидкости фильтрацией и замораживали до проведения эксперимента. Извлечение внутриклеточных белков проводили из замороженного мицелия. Мицелий разрушали с помощью гомогенизатора Поттера при температуре 4 °С в течение 5 мин. Экстракцию белков проводили раствором Трис-ЭДТА (0,05 М Трис-НСl pH 6,8 с добавлением 2 мМ ЭДТА). Полученные гомогенаты центрифугировали в течение 20 мин при 4400 об/мин. Содержащиеся в супернатанте белки осаждали и использовали для 2D-электрофореза.

Двумерный электрофорез белков (2Д ЭФ). Изoeлектрическое фокусирование белков проводили в градиенте pH от 3 до 10 с использованием амфолитов-носителей Servalyte (Serva Electrophoresis, Германия), как описано ранее в [41]. Использовали ячейку PROTEAN II xi 2-D Cell (Bio-Rad, США). Разделение по молекулярной массе образцов, полученных с помощью изоэлектрического фокусирования, проводили в градиентном акриламидном геле (7,5–25 %) в присутствии додецилсульфата натрия при 300 В. Гели окрашивали раствором нитрата серебра (Sigma, США). Для получения белковых карт использовали систему гель-документирования Infinity1000/26MX (Vilber Lourmat, Франция). Белковые карты анализировали с помощью программного обеспечения ImageMaster 2D Platinum v.7 (GE Healthcare, США).

Идентификация белков. Полученные белковые пятна вырезали и анализировали с использованием масс-спектрометра Ultraflex II (Bruker, Германия) с источником матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации и тандемным времяпролетным масс-анализатором (MALDI TOF/TOF MS/MS). Масс-спектры обрабатывали с помощью программного пакета FlexAnalysis 3.3 (Bruker Daltonics, Германия). Идентификацию белков проводили с помощью программы Mascot (www.matrixscience.com). Полученные данные выравнивались с базой данных аннотированных белков *T. hirsuta* 072 (регистрационный номер GCA_001302255.2) [40] и базой данных NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov). Кандидатные белки с оценкой достоверности >76 в базе данных NCBI считались надежными (p < 0,05), белки с оценкой достоверности >50 считались вероятными.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Ранее была продемонстрирована способность дереворазрушающего гриба белой гнили *T. hirsuta* LE-BIN 072 эффективно разрушать различные соединения EDCs, включая эстрогены

[40]. Результаты ВЭЖХ-МС (HPLC-MS) показали, что около 90 % эстрона и эстрадиола трансформируются в первый день инкубации с грибными пеллетами. Исследование показало, что биосорбция и биотрансформация эстрогенов являются сопутствующими процессами — соотношение внеклеточного и извлеченного из мицелия эстрона и эстрадиола варьировалось от 0,1 до 0,4. Было установлено, что в биотрансформации принимают участие такие внеклеточные ферменты, как лигнолитические пероксидазы MnP и VP (сем. AA2 CAZy), арил-алкоголь оксидазы (сем. AA3 CAZy) и карбоксиэстеразы [40]. Однако остался открытым вопрос, какие белки участвуют в деградации эстрогенов внутри грибного мицелия. Для чего в данном исследовании был проведен сравнительный анализ внутриклеточных протеомов (эндопротеом) *T. hirsuta* LE-BIN 072 при культивировании на контрольных средах и в присутствии эстрогенов (E1 и E2).

Для сравнительного изучения эндопротеомов были взяты образцы грибного мицелия в первые трое суток культивирования (1+2+3 сут). Гриб культивировали на 4 видах сред: (1) контрольной среде без ксенобиотиков — GP; (2) среде с добавлением метанола в концентрации 5 % (для оценки влияния метанола) — GP+Met; (3) и (4) при добавлении в среду метанольных растворов E1 и E2 — GP+E1 и GP+E2 соответственно. Методом 2Д ЭФ были получены протеомные карты экстрактов внутриклеточных белков *T. hirsuta* LE-BIN 072 (рис. 1).

Анализ полученных эндопротеомов показал изменение количества изоформ и интенсивности некоторых белковых пятен в зависимости от среды культивирования — зоны (1–17), отмеченные на протеомных картах (рис. 1) рамками. В результате анализа белковых пятен из указанных регионов с использованием MALDI-TOF-TOF MS/MS было идентифицировано 50 различных белков, функцию еще 1 белка установить не удалось (рис. 2).

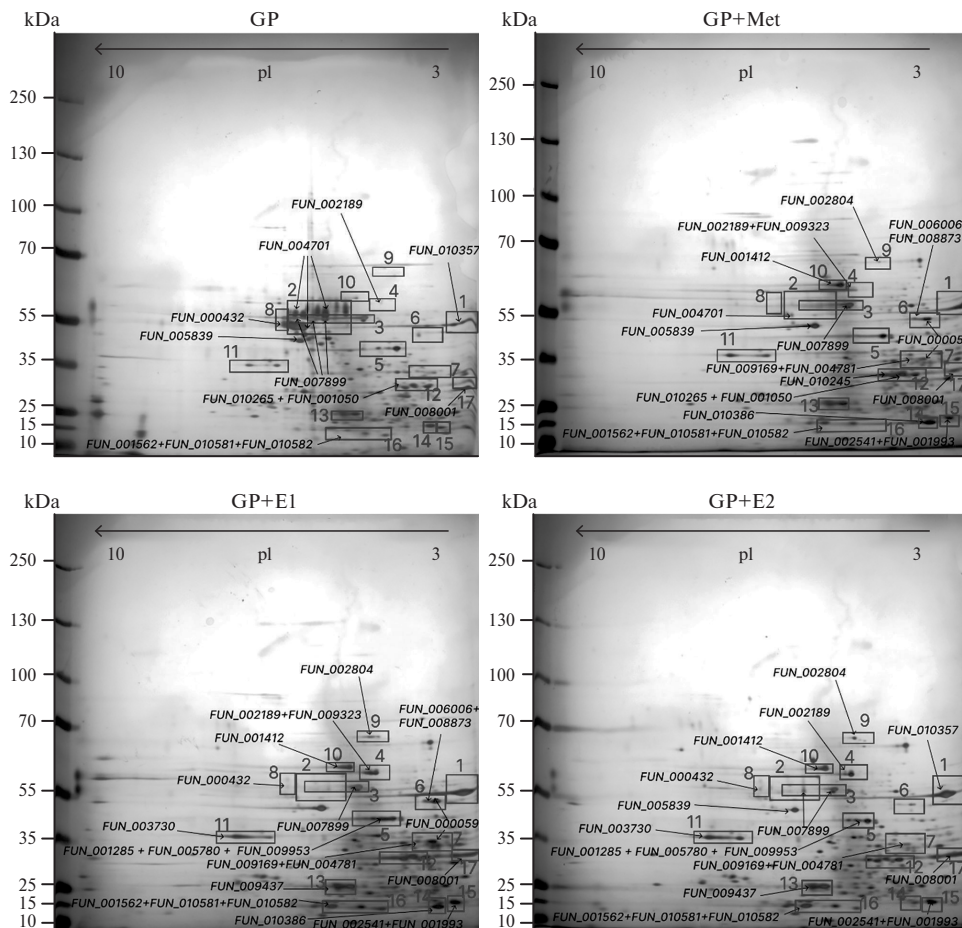


Рис. 1. Протеомные карты внутриклеточных белков гриба *Trametes hirsuta*, выращенного в отсутствии (GP, GP+Met) и в присутствии эстрогенов (GP+E1, GP+E2). Области, где отмечено изменение соотношения белков и их изоформ, выделены рамками и пронумерованы (1–17)

Fig. 1. Proteome maps of intracellular proteins of the fungus *Trametes hirsuta* grown in the absence (GP, GP+Met) and presence of estrogens (GP+E1, GP+E2). Regions with changes in the ratio of proteins and their isoforms are highlighted by frames and numbered (1–17)

ID	Description	GP	GP+Met	GP+E1	GP+E2
[C] Energy production and conversion					
FUN_002804	NADH-quinone oxidoreductase	●	●	↑	●
FUN_002245	Dihydrolipoyl dehydrogenase	●	●	●	●
FUN_007469	Phosphoenolpyruvate carboxykinase, ATP-dependent	●	●	●	●
FUN_005839	FoF1-type ATP synthase (AtpD)	●	↑	●	●
FUN_005084	Malate/lactate dehydrogenase	●	●	●	●
FUN_004289	Zn-dependent alcohol/formaldehyde dehydrogenase	○	●	●	●
FUN_002189	Aconitate hydratase mitochondrial	●	●	↑	●
FUN_003768	Pyruvate dehydrogenase	●	●	●	●
FUN_010386	NADH-quinone oxidoreductase (NQO1)	●	↑	●	●
FUN_009953	FAD/FMN-containing dehydrogenase	●	●	●	●
FUN_009169	GroES-like protein, alcohol dehydrogenase family	●	↑	●	●
FUN_010265	Alcohol dehydrogenase Qor superfamily	●	●	●	●
FUN_006006	Isocitrate lyase	●	↑	●	●
FUN_001050	IPP1 Inorganic pyrophosphatase	●	●	●	●
[C] Energy production and conversion + [H] Coenzyme transport and metabolism					
FUN_007069	NAD-dependent Formate Dehydrogenase	●	●	●	●
[E] Amino acid transport and metabolism					
FUN_009323	Carboxypeptidase S	○	●	●	○
FUN_003770	Histidine biosynthesis trifunctional-protein	○	○	●	●
FUN_010093	NADP-dependent threonine dehydrogenase (TDH)	●	●	●	●
FUN_008873	PLP-dependent transferase	●	↑	●	●
[E] Amino acid transport and metabolism + [O] Posttranslational modification, protein turnover, chaperones					
FUN_010457	Serine carboxypeptidase	SignalP(1-18) ●	●	●	●
[G] Carbohydrate transport and metabolism					
FUN_004812	Alpha-glucosidase/xylosidase, GH31*	SignalP(1-21) ●	●	●	●
FUN_007887	Alpha galactosidase A	●	●	●	●
FUN_010276	Cycloisomerase 2 family (isomerase YbhE)	○	●	●	●
FUN_010393	Glucose-6-phosphate isomerase	●	●	●	●
FUN_001285	Enolase	●	●	↑	●
FUN_000432	Alpha-galactosidase (Melibiase)	SignalP(1-17) ●	↓	●	●
FUN_001325	pfkB family carbohydrate kinase	●	●	●	●
FUN_009362	4-alpha-glucanotransferase (Starch binding domain)	SignalP(1-18) ●	●	●	●
FUN_010245	Transaldolase	○	●	●	●
[H] Coenzyme transport and metabolism					
FUN_004136	Ubiquitin activating enzyme	○	●	●	●
FUN_005780	S-adenosylmethionine synthase	●	●	↑	●
FUN_004781	Aldo keto reductase	●	●	●	●
[I] Lipid transport and metabolism					
FUN_000059	Aldehyde dehydrogenase (Adh E)	●	↑	●	●
FUN_006604	Carboxylesterase type B (carotenoid ester lipase precursor)	●	●	●	●
FUN_008345	Carboxylesterase type B	●	●	●	●
FUN_004683	Lycopene cyclase protein (GMC oxidoreductase, AA3*)	○	●	●	●
[O] Posttranslational modification, protein turnover, chaperones					
FUN_001412	Chaperonin (HSP60) family	SignalP(1-21) ●	↑	●	●
FUN_003730	Aspartic peptidase A1	SignalP(1-17) ●	●	↑	●
FUN_004701	DnaJ (HSP40) molecular chaperone homology domain	●	↓	●	●
FUN_010581	Peroxiredoxin AHP1	●	●	↑	●
FUN_010582	Peroxiredoxin AHP1	●	↓	●	●
[P] Inorganic ion transport and metabolism					
FUN_010357	Catalase, KatE	●	↑	●	●
FUN_002541	Superoxide dismutase	●	●	●	●
FUN_001993	Superoxide dismutase (SOD2)	●	●	●	●
[Q] Secondary metabolites biosynthesis, transport and catabolism					
FUN_008001	Alcohol dehydrogenase GroES-like domain	●	●	↑	●
FUN_009437	Dienelactone hydrolase family	●	●	●	●
FUN_002780	Alcohol dehydrogenase MDR superfamily	●	●	●	●
[V] Defense mechanisms					
FUN_000350	Beta-lactamase class C family	●	●	●	●
FUN_004222	Class I glutamine amidotransferase-like protein	●	●	●	●
FUN_001562	Peroxiredoxin TSA1	●	●	↑	●
[N] Proteins with unknown function					
FUN_007899	Hypotetical protein	●	↑	●	●
*- Carbohydrate-active enzymes (CAZy) family					

Рис. 2. Белки, идентифицированные во внутриклеточных экстрактах мицелия *Trametes hirsuta*, выращенного в присутствии и отсутствии эстрогенов в ростовой среде. Наличие белков на соответствующей среде обозначено цветным кругом: серым для GP (контрольная среда без эстрогена), зеленым для GP+Met (с метанолом, без эстрогена), желтым для GP+E1 (с метанолом и эстроном) и красным для GP+E2 (с метанолом и эстрадиолом)

Fig. 2. Proteins identified in intracellular extracts of *Trametes hirsuta* mycelium grown in the presence and absence of estrogens in the growth medium. The presence of proteins in the respective medium is indicated by a colored circle: gray for GP (control medium without estrogen), green for GP+Met (with methanol, without estrogen), yellow for GP+E1 (with methanol and estrone), and red for GP+E2 (with methanol and estradiol)

Уникальных белков ни для одной из сред обнаружено не было (рис. 3). При этом 5 белков были общими для всех сред с ксенобиотиками (GP+Met; GP+E1 и GP+E2): FUN_004136 (Ubiquitin activating enzyme); FUN_004289 (Zn-dependent alcohol/formaldehyde dehydrogenase); FUN_004683 (GMC oxidoreductase AA3 CA-

Zy family); FUN_010245 (Transaldolase) и FUN_010276 (Cycloisomerase 2 family, YbhE) (рис. 2 и 3). Еще по одному общему белку было обнаружено на средах GP+Met и GP+E1 — FUN_009323 (Carboxypeptidase S), средах GP+E1 и GP+E2 — FUN_003770 (Histidine biosynthesis trifunctional-protein).

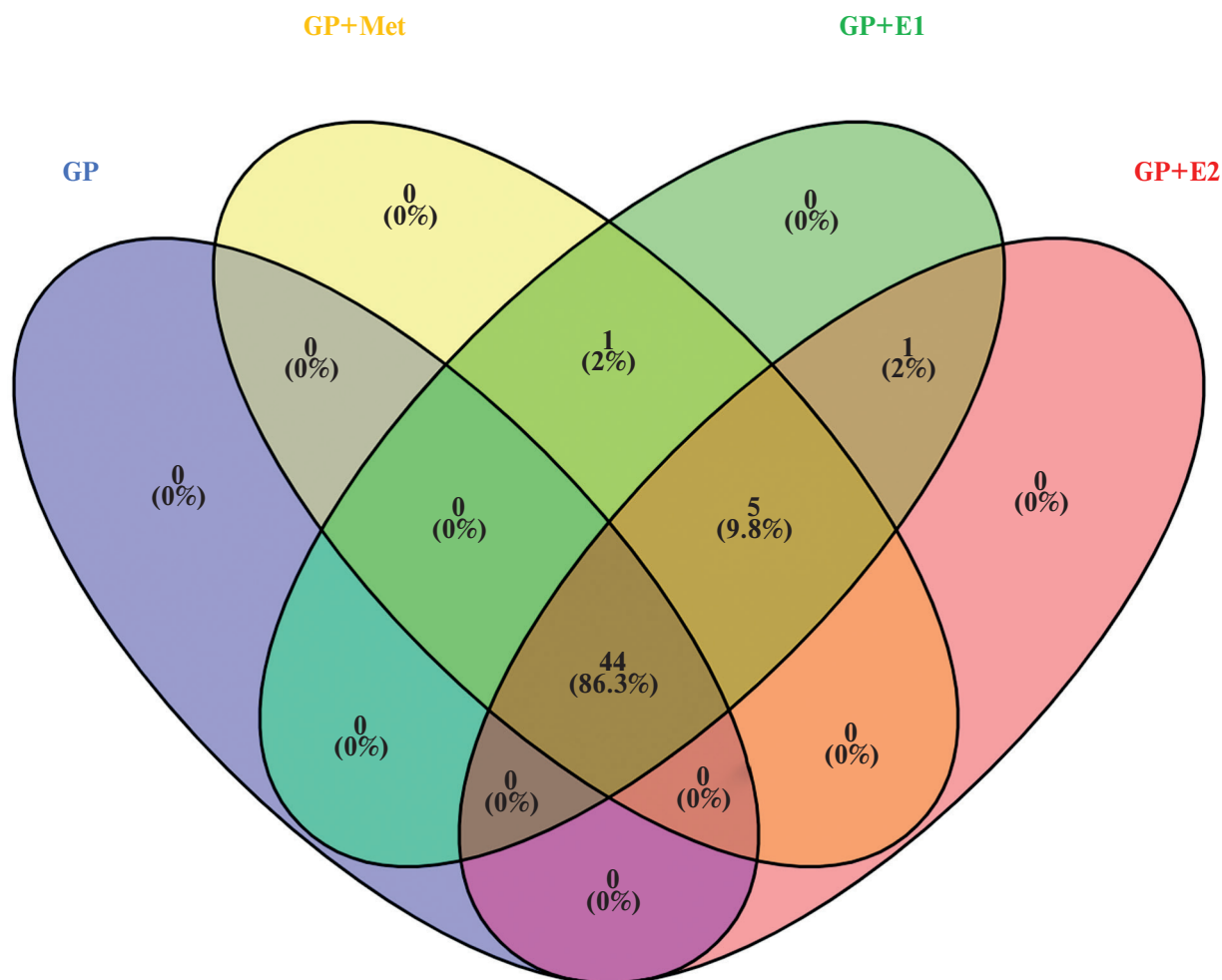


Рис. 3. Диаграмма Венна для внутриклеточных белков *Trametes hirsuta*, идентифицированных на разных средах в присутствии и отсутствии эстрогенов: GP — контрольная среда без эстрогенов; GP+Met — контрольная среда с метанолом без эстрогенов; GP+E1 — с эстроном, GP+E2 — с эстрадиолом

Fig. 3. Venn diagram for intracellular proteins of *Trametes hirsuta* identified in different media in the presence and absence of estrogens: GP — control medium without estrogens; GP+Met — control medium with methanol without estrogens; GP+E1 — with estrone, GP+E2 — with estradiol

Продукция остальных белков на разных средах различалась. Так, на средах с ксенобиотиками (GP+Met, GP+E1 и GP+E2) по сравнению с GP средой увеличивалась продукция следующих белков (рис. 1): каталазы FUN_010357 (EC: 1.11.1.6; Catalase KatE) (область 1); одной из изоформ белка FUN_007899 с неизвестными функциями (область 3); FUN_009953 (FAD/FMN-containing dehydrogenase, family AA7 CAZy) (область 5); FUN_009169 (Zinc-type alcohol dehydrogenase-like protein, область 7); шаперона семейства Hsp60

FUN_001412 (molecular chaperonin HSP60; область 10); алкоголь дегидрогеназы FUN_010265 (область 12); супероксиддисмутазы FUN_001993 и FUN_002541 (EC: 1.15.1.1; Superoxide dismutase SOD; область 15); пероксиредоксина FUN_010581 (область 16). Содержание шаперона FUN_004701 (molecular chaperone DnaJ) (область 2) и α -галактозидазы FUN_000432 (EC: 3.2.1.22; α -galactosidase, область 8) в присутствии метанола и эстрогенов, напротив, существенно снижалось по сравнению с контрольной GP средой.

На средах с обоими эстрогенами (GP+E1 и GP+E2) по сравнению с контрольными средами (GP и GP+Met) отмечалась значительная индукция и увеличение количества изоформ аконитазы FUN_002189 (EC: 4.2.1.3; Aconitate hydratase mitochondrial, ACO1) (область 4) и белков из области 5 — енолазы FUN_001285 (EC: 4.2.1.11; Enolase, ENO1) и метионин аденозилтрансферазы (MAT) FUN_005780 (EC: 2.5.1.6; S-adenosylmethionine synthase, SAM2). Продукция белка FUN_002804 (NADH-quinone oxidoreductase, область 9) также усиливалась на средах обоими эстрогенами, причем на среде с эстрадиолом (GP+E2) наиболее значимо (рис. 1). В области 11 в присутствии эстрогенов индуцировалась кислая протеаза FUN_003730 (EC: 3.4.23.25; Aspartic peptidase A1, APR1), а в областях 13 и 17 — диенолактонгидролаза FUN_009437 (Dienelactone hydrolase, DLH) и алкоголь дегидрогеназа FUN_008001 соответственно (рис. 1). Также отмечено увеличение продукции пероксиредоксина FUN_001562 и FUN_010582 (EC: 1.11.1.15) в зоне 16 (рис. 1).

На средах с метанолом и эстроном (GP+Met и GP+E1) в областях 6 и 7 обнаружено несколько дополнительных изоформ альдегиддегидрогеназы семейства AdhE FUN_000059 (EC: 1.2.1.3; Aldehyde dehydrogenase AdhE superfamily) (рис. 1). Также на этих средах отмечено увеличение продукции таких белков, как β (F1) субъединица FoF1-АТФ-синтазы FUN_005839 (EC: 7.1.2.2; F0F1 ATP synthase subunit beta); белок семейства альдокеторедуктаз FUN_004781 (Aldo-keto reductase, зона 7); изоцитрат лиаза FUN_006006 (EC: 4.1.3.1; Isocitrate lyase, ICL1) и пиридоксаль-5-фосфат (PLP)-зависимая трансминаза FUN_008873 (PLP-depend amino-transferase) в зоне 6; неорганическая пирофосфатаза FUN_001050 (inorganic pyrophosphatase IPP1, область 12); а также НАД(Ф)Н-хиноноксидоредуктаза NQO1 FUN_010386 (EC: 1.6.5.2; NAD(P)H:quinone oxidoreductase NQO1, область 14) (рис. 1).

ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 4 представлено распределение по COG-категориям идентифицированных в культуральных средах белков (области 1–17, рис. 1), продукция которых изменялась в присутствии ксенобиотиков (GP+Met, GP+E1 и GP+E2) по сравнению с контрольной GP средой. Из 26 стандартных COG-категорий (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/research/cog/>) белки с увеличенной продукцией были представлены в таких функциональных категориях, как [C] (выработка и преобразование энергии), [E] (транспорт и метаболизм аминокислот), [G] (транспорт и метаболизм углеводов) и [H] (транспорт и метаболизм коферментов).

В категориях [C], [I] и [Q] на средах с метанолом и/или обоими эстрогенами отмечено увеличение продукции алкогольдегидро-

геназ (ADHs) (FUN_004289; FUN_008001; FUN_009169; FUN_010265), альдегиддегидрогеназы (ALDH) (FUN_000059), алкоголь оксидазы (AOX) (FUN_004683), бензохинон редуктазы (FUN_010386), а также диенолактон гидролазы (DLH) (FUN_009437). Окислительный метаболизм является наиболее распространенным и важным типом деструкции ксенобиотиков в первой фазе, которая включает окисление, восстановление, гидроксильрование и гидролиз. В результате реакций первой фазы в молекуле ксенобиотика появляются или высвобождаются полярные функциональные группы (-OH, -NH₂, -SH), при этом модифицированные молекулы становятся более гидрофильными и растворимыми в воде для дальнейших реакций конъюгации, протекающих во второй фазе детоксикации ксенобиотиков, и эффективного выведения продуктов деструкции из клетки. Хорошо известно, что за окисление большинства ксенобиотиков, включая различные природные и синтетические гормоны, ответственны цитохромы P450 (CYP450) [15, 22]. Однако в последнее время появляется все больше работ, где показано, что ряд ксенобиотиков метаболизируется с участием ферментов, не относящихся к цитохрому P450, таких как ADHs, ALDHs и др. [32]. Так, например, показано, что основным ферментом в клетках млекопитающих, участвующим в метаболизме гербицида диквата (Diquat, DQ), является альдегид оксидаза [29].

Окисление ксенобиотиков с участием различных ADHs и ALDHs приводит к образованию карбоновых кислот, которые во второй фазе биотрансформации конъюгируются с образованием ацил-КоА-тиоэфиров [14, 18, 25, 31]. В недавнем исследовании [39] был предложен схожий путь биотрансформации эстрона у сине-зеленой водоросли *Spirulina* CPCC-695, основанный на обнаруженных с помощью ГХ-МС метаболитах. Среди промежуточных продуктов деградации E1 были идентифицированы жирные спирты, включая 1-додеканол (лауриловый спирт), который предположительно подвергается дегидрированию с образованием 1-додеканола (лауринового альдегида) и его последующим превращением в насыщенную жирную кислоту — додекановую (лауриновую), карбоксильная группа которой конденсируется с тиольной группой кофермента А (КоА/CoA) с образованием додеканоил-КоА/dodecanoyl-CoA (лауроил-КоА/Lauroyl-CoA), который затем окисляется с образованием ацетил-КоА/acetyl-CoA. А в работе [16] на основании транскриптомного анализа бактериального штамма *Sphingomonas* sp. KC8 были идентифицированы кластеры генов, предположительно участвующие в деградации колец А и В (кластеры I и II) и в деградации колец С и D (кластер III) эстрона E1. При этом кластер I содержит гены *oecA*, *oecB* и *oecC*, которые могут осуществлять начальные этапы деградации эстрогена, а кластер

II включает несколько генов, предположительно связанных с β -окислением жирных кислот, что указывает на участие ацил-КоА-конъюгатов (CoA ester metabolites) в деградации E1.

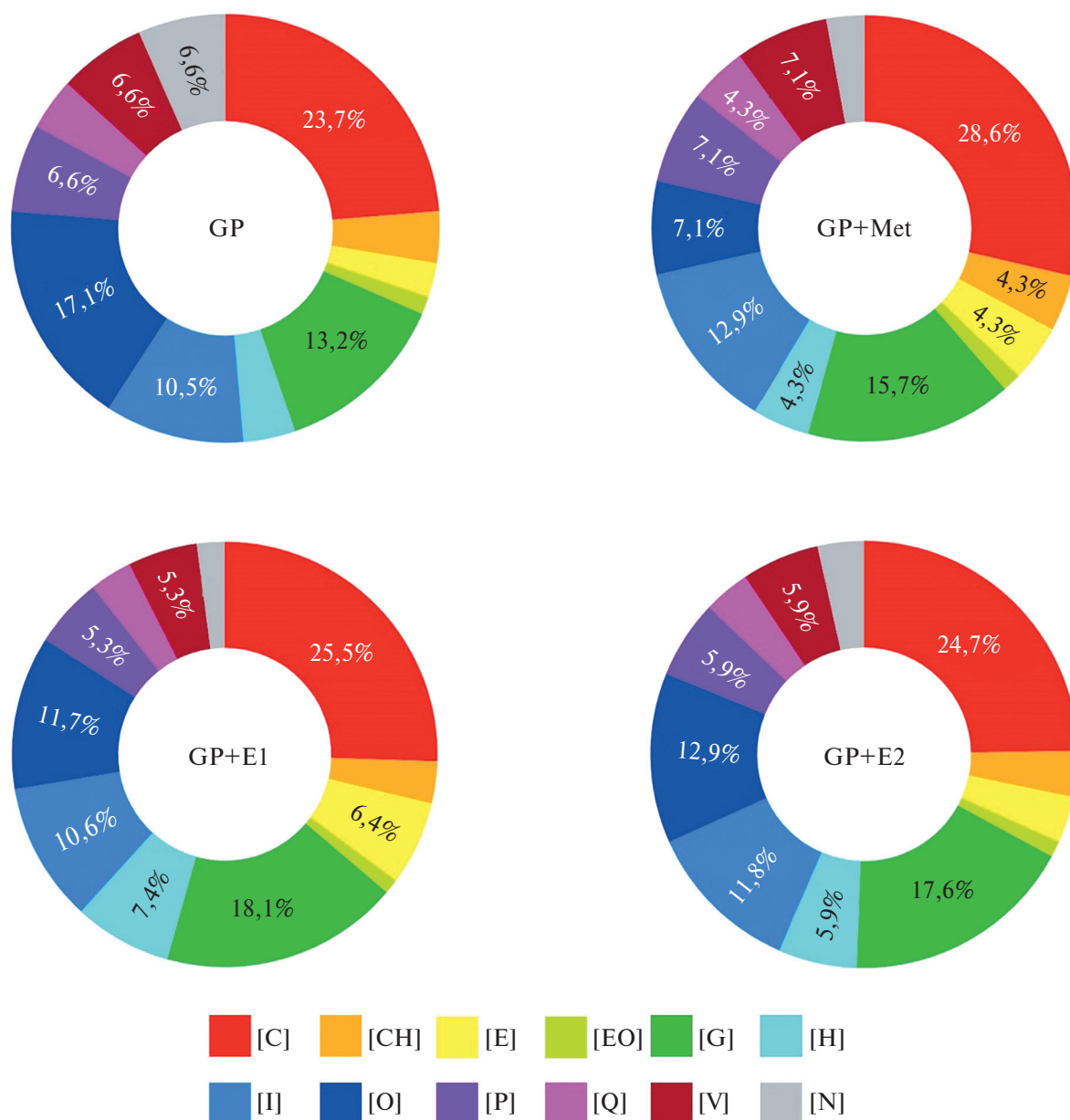


Рис. 4. Распределение белков со значительно измененной продукцией по функциональным категориям COG (кластер групп ортологических генов / Clusters of Orthologous Groups): [C] — Energy production and conversion; [E] — Amino acid transport and metabolism; [G] — Carbohydrate transport and metabolism; [H] — Coenzyme transport and metabolism; [I] — Lipid transport and metabolism; [O] — Posttranslational modification, protein turnover, chaperones; [P] — Inorganic ion transport and metabolism; [Q] — Secondary metabolites biosynthesis, transport and catabolism; [V] — Defense mechanisms; [NI] — Proteins with unknown function

Fig. 4. Distribution of proteins with significantly altered production by functional categories of COG (clusters of orthologous groups): [C] — Energy production and conversion; [E] — Amino acid transport and metabolism; [G] — Carbohydrate transport and metabolism; [H] — Coenzyme transport and metabolism; [I] — Lipid transport and metabolism; [O] — Posttranslational modification, protein turnover, chaperones; [P] — Inorganic ion transport and metabolism; [Q] — Secondary metabolites biosynthesis, transport and catabolism; [V] — Defense mechanisms; [NI] — Proteins with unknown function

Ацил-КоА-конъюгаты продуктов биодеструкции ксенобиотиков (Xenobiotic acyl-CoA conjugates) могут быть токсичны для клетки из-за нарушения гомеостаза КоА (CoA) [6, 45], который является жизненно важным коферментом в митохондриальном β -окислении жирных кислот. Образующийся в результате β -окисления жирных кислот ацетил-КоА (acetyl-CoA) поступает в различные физиологические пути, включая пути энергетического метаболизма, такие как цикл трикарбоновых кислот (TCA, tricarboxylic acid cycle) или путь окислительного фосфорилирования (OXPHOS, oxidative phosphorylation pathway) и в конечном итоге метаболизируется до воды и углекислого газа. Соотношение эндогенного КоА (CoA) к ацил-КоА (acyl-CoA) строго регулируется. Образование большого количества ацил-КоА (acyl-CoA) в результате биодеструкции ксенобиотиков приводит к нарушению митохондриального окислительного метаболизма и, как следствие, клеточной токсичности [12]. Действительно, на средах с ксенобиотиками (метанолом и эстрогенами) отмечено усиление продукции белков окислительного фосфорилирования, таких как NADH:убихинон оксидоредуктаза (FUN_002804, EC: 1.6.99.3) — комплекс I электрон-транспортной цепи митохондрий (ETC I), и F1 субъединицы F1F0-АТФ синтазы FUN_005839 (EC: 7.1.2.2), а также аконитазы FUN_002189 (EC: 4.2.1.3) — белка цикла трикарбоновых кислот (цикла Кребса) (рис. 1 и 2). Показано, что комплексы ETC I и III коррелируют с продукцией АФК (ROS, Reactive Oxygen Species) в митохондриях [50]. В ряде работ продемонстрирована взаимосвязь между активностью АТФ-синтазы и клеточной смертью [11, 13]. Так, при ингибировании активности АТФ-синтазы снижался уровень активных форм кислорода (АФК/ROS), что приводило к «мягкому» окислительному стрессу и повышению функционального порога клеточных повреждений, приводящих к гибели клетки. Действительно при добавлении метанола и эстрогенов в среду культивирования наблюдалось ингибирование роста грибной биомассы по сравнению с ее ростом на контрольной среде без ксенобиотиков [40].

Внутриклеточные концентрации АФК/ROS строго регулируются продукцией антиоксидантов (глутатион GSH, витамины С и Е, др.) и антиоксидантных ферментов, таких как каталаза (CAT, catalase), глутатион пероксидаза (GPx, glutathione peroxidase) и супероксиддисмутаза (SOD, superoxide dismutase) [21, 27, 52]. Эти системы работают вместе, нейтрализуя избыток АФК/ROS и предотвращая окислительное повреждение клеток. Действительно, нами было отмечено увеличение продукции каталазы (FUN_010357), двух изоферментов супероксиддисмутаза (FUN_002541 и FUN_001993) и пероксиредоксинов PRX (FUN_010581, FUN_010582 и FUN_001562) на средах с метанолом и эстрогенами (рис. 1 и 2). Также на средах с мета-

нолом и E1 повышалась продукция NAD(P)H-хиноноксидоредуктазы NQO1 (FUN_010386 NAD(P)H quinone oxidoreductase NQO1). Данный фермент рассматривается как антиоксидантный фермент II фазы биотрансформации ксенобиотиков, обладающий уникальными механизмами удаления АФК/ROS. Его ингибирование, как правило, приводит к усилению хинониндуцированного окислительного стресса в клетках [35]. Помимо прямого восстановления ROS [44], NQO1 косвенно снижает ROS посредством восстановления антиоксидантов, таких как витамин Е [36]. Кроме того, NQO1 катализирует двухэлектронное восстановление хинонов до гидрохинонов без образования нестабильных семихинонов, способствующих образованию активных форм кислорода (ROS) в присутствии молекулярного кислорода [47]. Известно, что экспрессия NQO1 индуцируется в результате метаболизма лекарственных соединений.

На средах с эстрогенами E1 и E2 (GP+E1 и GP+E2) был обнаружен уникальный белок FUN_003770 (Histidine biosynthesis trifunctional-protein), участвующий в биосинтезе гистидина. В ряде исследований показано участие гистидина в защите клеток от окислительного стресса, а также продукция гистидина и его дипептидов были связаны с повышенной экспрессией каталазы и глутатионпероксидазы при окислительном стрессе, вызванном этанолом [48]. Также на средах с обоими эстрогенами увеличивалась экспрессия белка FUN_005780 метионин-аденозилтрансферазы (MAT, EC: 2.5.1.6), катализирующей образование S-аденозил-L-метионина (SAM) из метионина и АТФ. SAM в свою очередь является участником биосинтеза антиоксиданта глутатиона (GSH) [37].

Помимо систем антиоксидантной защиты, ремоделирование метаболизма также играет ключевую роль в смягчении окислительного стресса. Метаболические адаптации, такие как глиоксилатный шунт (GS) и пентозофосфатный путь (PPP), могут снижать окислительную нагрузку, нейтрализуя действие АФК/ROS [26]. Увеличение на средах с ксенобиотиками продукции изоцитрат лиаза (FUN_006006) — основного фермента глиоксилатного шунта, а также появление транссальдолазы (FUN_010245, EC: 2.2.1.2) — фермента, играющего важную роль в пентозофосфатном пути и необходимого для синтеза восстановительных эквивалентов NAD(P)H, позволяет предположить активацию GS и PPP метаболических путей при биодеструкции эстрогенов грибом *T. hirsuta*.

На средах с E1 и E2 отмечена повышенная продукция диенолактон гидролазы FUN_009437 (DLH, dienelactone hydrolase), играющей ключевую роль в деградации ароматических соединений по β -кетoadипатному пути [51]. DLH катализирует гидролиз диенолактона до малеилацетата, промежуточного продукта этого пути, что позволяет пред-

положить, что ароматическое кольцо А эстрогенов может метаболизироваться грибом *T. hirsuta* по β-кетоадипатному пути.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Протеомный анализ гриба белой гнили *T. hirsuta* LE-BIN 072 показал, что во внутриклеточной биотрансформации E1 и E2 задействованы такие метаболические пути, как процесс деградации жирных кислот путем митохондриального β-окисления и β-кетоадипатный путь расщепления ароматических соединений, сопряженные с циклом Кребса, окислительным фосфорилированием и гликолизатным шунтом. Процесс биотрансфор-

мации эстрогенов сопровождается повышенной продукцией ферментов антиоксидантной защиты для снижения окислительной нагрузки и нейтрализации действия АФК/ROS, а также увеличением экспрессии белков пентозофосфатного пути для усиления продукции кофактора НАДФН.

Выяснение точных молекулярных механизмов, связанных с ключевыми ферментами, обнаруженными в этом исследовании, требует дальнейшего изучения. Кроме того, повышение уровня продукции белка с неизвестными молекулярными функциями также дает ключ к будущим исследованиям по идентификации новых ферментов, участвующих в трансформации эстрогенов грибами.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Anderson P.D., Johnson A.C., Pfeiffer D., Caldwell D.J., Hannah R., Mastrocco F., Sumpter J.P., Williams R.J. Endocrine disruption due to estrogens derived from humans predicted to be low in the majority of U.S. surface waters. *Environ. Toxicol. Chem.* 2012. vol. 31, no. 6, P. 1407–1415. <https://doi.org/10.1002/etc.1824>
2. Arnold K.E., Brown A.R., Ankley G.T., Sumpter J.P. Medicating the environment: assessing risks of pharmaceuticals to wildlife and ecosystems. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 2014. vol. 369, no. 1533, P. 20130569. <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0569>
3. Avberšek M., Šömen J., Heath E. Dynamics of steroidestrogen daily concentrations in hospital effluent and connected waste water treatment plant. *J. Environ. Monit.* 2011. vol. 13, no. 8, P. 2221–2226. <https://doi.org/10.1039/C1EM10147A>
4. Biswas S., Shapiro C.A., Kranz W.L., Mader T.L., Shelton D.P., Snow D.D., Bartelt-Hunt S.L., Tarkalson D.D., van Donk S.J., Zhang T.C., Ensley S. Current knowledge on the environmental fate, potential impact, and management of growth-promoting steroids used in the US beef cattle industry *J. Soil Water Conserv.* 2013. vol. 68, no. 4, P. 325–336. <https://doi.org/10.2489/jswc.68.4.325>
5. Blázquez P., Guieysse B. Continuous biodegradation of 17β-estradiol and 17α-ethynylestradiol by *Trametes versicolor*. *J. Hazard. Mater.* 2008. vol. 150, P. 459–462. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.09.085>
6. Brass E.P. Overview of coenzyme A metabolism and its role in cellular toxicity. *Chem. Biol. Interact.* 1994. vol. 90, no. 1–3, P. 203–214. [https://doi.org/10.1016/0009-2797\(94\)90010-8](https://doi.org/10.1016/0009-2797(94)90010-8)
7. Crane M.B., Bartolome J., Melendez P., De Vries A., Risco C., Archbald L.F. Comparison of synchronization of ovulation with timed insemination and exogenous progesterone as therapeutic strategies for ovarian cysts in lactating dairy cows. *Theriogenology.* 2006. vol. 65, no. 8, P. 1563–1574. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.09.003>
8. Daâssi D., Alharbi S.R. Degradation of endocrine-disrupting chemicals in wastewater by new thermophilic fungal isolates and their laccases. *3 Biotech.* 2023. vol. 13, no. 1, P. 26. <https://doi.org/10.1007/s13205-022-03439-1>
9. Dąbrowska M., Muszyńska B., Starek M., Żmudzki P., Opoka W. Degradation pathway of cephalosporin antibiotics by in vitro cultures of *Lentinula edodes* and *Imleria badia*. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 2018. vol. 127, P. 104–112. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.11.014>
10. Dinakarkumar Y., Ramakrishnan G., Gujjula K.R., Vasu V., Balamurugan P., Murali G. Fungal bioremediation: An overview of the mechanisms, applications and future perspectives. *Environ. Chem. Ecotoxicol.* 2024. vol. 6, P. 293–302. <https://doi.org/10.1016/j.enceco.2024.07.002>
11. Formentini L., Pereira M.P., Sánchez-Cenizo L., Santacatterina F., Lucas J.J., Navarro C., Martínez-Serrano A., Cuezva J.M. In vivo inhibition of the mitochondrial H⁺-ATP synthase in neurons promotes metabolic preconditioning. *EMBO J.* 2014. vol. 33, no. 7, P. 762–778. <https://doi.org/10.1002/embj.201386392>
12. Gan J., Ma S., Zhang D. Non-cytochrome P450-mediated bioactivation and its toxicological relevance. *Drug Metab. Rev.* 2016. vol. 48, no. 4, P. 564–588. <https://doi.org/10.1080/03602532.2016.1225756>
13. Garcia-Bermudez J., Cuezva J.M. The ATPase Inhibitory Factor 1 (IF1): A master regulator of energy metabolism and of cell survival. *Biochim. Biophys. Acta.* 2016. vol. 1857, no. 8, P. 1167–1182. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2016.02.004>
14. Grillo M.P., Chiellini G., Tonelli M., Benet L.Z. Effect of α-Fluorination of Valproic Acid on Valproyl-S-Acyl-CoA Formation in vivo in Rats. *Drug Metab. Dispos.* 2001. vol. 29, no. 9, P. 1210–1215. <https://doi.org/10.1124/dmd.29.9.1210>

15. Hirose S., Tazaki M., Hiratsuka N., Yanai S., Kabumoto H., Shikyo R., Arisawa A., Sakaki T., Tsunekawa H., Johdo O., Ichinose H., Wariishi H. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2011. V. 407. № 1. P. 118–123. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2011.02.121>
16. Ibero J., Galán B., Rivero-Buceta V., García J.L. Insight into functional diversity of cytochrome P450 in the white-rot basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*: Involvement of versatile monooxygenase. *Front. Microbiol.* 2020. V. 11. P. 588300. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.588300>
17. Khanal S.K., Xie B., Thompson M.L., Sung S., Ong S.K., Van Leeuwen J. Fate, Transport, and Biodegradation of Natural Estrogens in the Environment and Engineered Systems. *Environ. Sci. Technol.* 2006. vol. 40, no. 21, P. 6537–6546. <https://doi.org/10.1021/es0607739>
18. Knights K., Sykes M., Miners J. Amino acid conjugation: contribution to the metabolism and toxicity of xenobiotic carboxylic acids. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* 2007. vol. 3, no. 2, P. 159–168. <https://doi.org/10.1517/17425255.3.2.159>
19. Kolodziej E.P., Sedlak D.L. Rangeland Grazing as a Source of Steroid Hormones to Surface Waters. *Environ. Sci. Technol.* 2007. vol. 41, no. 10, P. 3514–3520. <https://doi.org/10.1021/es063050y>
20. Kozarek J.L., Wolfe M.L., Love N.G., Knowlton K.F. Sorption of Estrogen to Three Agricultural Soils from Virginia, USA. *Trans. ASABE.* 2008. vol. 51, no. 5, P. 1591–1597. <https://doi.org/10.13031/2013.25316>
21. Kozlov A.V., Javadov S., Sommer N. Cellular ROS and Antioxidants: Physiological and Pathological Role. *Antioxidants.* 2024. vol. 13, no. 5, P. 602. <https://doi.org/10.3390/antiox13050602>
22. Křesinová Z., Moeder M., Ezechiáš M., Svobodová K., Cajthaml T. Mechanistic Study of 17 α -Ethinylestradiol Biodegradation by *Pleurotus ostreatus*: Tracking of Extracellular and Intracellular Degradation Mechanisms. *Environ. Sci. Technol.* 2012. vol. 46, no. 24. P. 13377–13385. <https://doi.org/10.1021/es3029507>
23. Kumari R., Singh A., Yadav A.N. Fungal Enzymes: Degradation and Detoxification of Organic and Inorganic Pollutants. *Recent Trends in Mycological Research: Volume 2: Environmental and Industrial Perspective.* 2021. P. 99–125. https://doi.org/10.1007/978-3-030-68260-6_5
24. Lange I.G., Daxenberger A., Schiffer B., Witters H., Ibarreta D., Meyer H.H. Sex hormones originating from different livestock production systems: fate and potential disrupting activity in the environment. *Anal. Chim. Acta.* 2002. vol. 473, no. 1–2, P. 27–37. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(02\)00748-1](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(02)00748-1)
25. Li C., Grillo M.P., Benet L.Z. In vitro studies on the chemical reactivity of 2,4-dichlorophenoxyacetyl-S-acyl-CoA thioester. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2003. vol. 187, no. 2, P. 101–109. [https://doi.org/10.1016/S0041-008X\(02\)00043-1](https://doi.org/10.1016/S0041-008X(02)00043-1)
26. Li H., Zhou X., Huang Y., Liao B., Cheng L., Ren B. Reactive Oxygen Species in Pathogen Clearance: The Killing Mechanisms, the Adaption Response, and the Side Effects. *Front. Microbiol.* 2021. vol. 11, P. 622534. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.622534>
27. Manful C.F., Fordjour E., Subramaniam D., Sey A.A., Abbey L., Thomas R. Antioxidants and Reactive Oxygen Species: Shaping Human Health and Disease Outcomes. *Int. J. Mol. Sci.* 2025. vol. 26, no. 15, P. 7520. <https://doi.org/10.3390/ijms26157520>
28. Mansur M., Arias M.E., Copa-Patino J.L., Flårdh M., González A.E. The white-rot fungus *Pleurotus ostreatus* secretes laccase isozymes with different substrate specificities. *Mycologia.* 2003. vol. 95, no. 6, P. 1013–1020. <https://doi.org/10.1080/15572536.2004.11833017>
29. Mao Z., Yu Y., Ba G., Zhao H., Shi Q., Cao Y., Xie W., Zhang J., Sun H., Chen F. Non-cytochrome P450 enzyme aldehyde oxidase is involved in the oxidative metabolic pathway of diquat and its detoxification effect. *Pestic. Biochem. Physiol.* 2024. vol. 199, P. 105805. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2024.105805>
30. Moore S.C., Matthews C.E., Shu X.O., Yu K., Gail M.H., Xu X., Ji B.-T., Chow W.-H., Cai Q., Li H., et al. Endogenous Estrogens, Estrogen Metabolites, and Breast Cancer Risk in Postmenopausal Chinese Women. *JNCI J. Natl. Cancer Inst.* 2016. vol. 108, no. 10, P. djw103. <https://doi.org/10.1093/jnci/djw103>
31. Olsen J., Li C., Björnsdóttir I., Sidenius U., Hansen S.H., Benet L.Z. In vitro and in vivo Studies on Acyl-Coenzyme A-Dependent Bioactivation of Zomepirac in Rats. *Chem. Res. Toxicol.* 2005. vol. 18, no. 11, P. 1729–1736. <https://doi.org/10.1021/tx0501785>
32. Pang X., Tang C., Guo R., Chen X. Non-cytochrome P450 enzymes involved in the oxidative metabolism of xenobiotics: Focus on the regulation of gene expression and enzyme activity. *Pharmacol. Ther.* 2022. vol. 233, P. 108020. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2021.108020>
33. Prajapati D., Bhatt A., Gupte A., Gupte S. *Progress in Mycology: Biology and Biotechnological Applications.* 2022. P. 593–619. https://doi.org/10.1007/978-981-16-3307-2_20
34. Pratush A., Ye X., Yang Q., Kan J., Peng T., Wang H., Huang T., Xiong G., Hu Z. Biotransformation strategies for steroid estrogen and androgen pollution. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2020. vol. 104, P. 2385–2409. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10374-9>

35. Ross D., Siegel D. NQO1 in protection against oxidative stress. *Curr. Opin. Toxicol.* 2018. vol. 7, P. 67–72. <https://doi.org/10.1016/j.cotox.2017.10.005>
36. Ross D., Siegel D. Functions of NQO1 in Cellular Protection and CoQ₁₀ Metabolism and its Potential Role as a Redox Sensitive Molecular Switch. *Front. Physiol.* 2017. vol. 8, P. 595. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00595>
37. Rudenko A.Yu., Mariasina S.S., Ozhiganov R.M., Sergiev P.V., Polshakov V.I. Mechanism of alkaline hydrolysis of S-adenosyl-L-methionine and related sulfonium nucleosides. *Biochemistry (Moscow)*. 2025. vol. 90, Suppl. 1, P. S105–S134. <https://doi.org/10.1134/S0006297924604210>
38. Salla R.F., Gamero F.U., Rissoli R.Z., Dal-Medico S.E., Castanho L.M., Carvalho C. dos S., Silva-Zacarin E.C.M., Kalinin A.L., Abdalla F.C., Costa M.J. Impact of an environmental relevant concentration of 17 α -ethinylestradiol on the cardiac function of bullfrog tadpoles. *Chemosphere*. 2016. vol. 144, P. 1862–1868. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.10.042>
39. Sami N., Afzal B., Rehmanji M., Naaz H., Yasin D., Jutur P.P., Fatma T. Insight into the mechanism of estrone biodegradation by *Spirulina* CPCC-695. *Environ. Dev. Sustain.* 2025. vol. 27, P. 739–764. <https://doi.org/10.1007/s10668-023-03873-y>
40. Savinova O.S., Savinova T.S., Fedorova T.V. Oestrogen Detoxification Ability of White Rot Fungus *Trametes hirsuta* LE-BIN 072: Exoproteome and Transformation Product Profiling. *J. Fungi*. 2024. vol. 10, no. 11, P. 795. <https://doi.org/10.3390/jof10110795>
41. Savinova O.S., Shabaev A.V., Glazunova O.A., Eremin S.A., Fedorova T.V. Biodestruction of Phthalic Acid Esters by White Rot Fungi. *Appl. Biochem. Microbiol.* 2022. vol. 58, no. 5, P. 598–612. <https://doi.org/10.1134/S0003683822050143>
42. Savinova O.S., Shabaev A.V., Glazunova O.A., Moiseenko K.V., Fedorova T.V. Peroxidase of *Trametes hirsuta* LE-BIN 072: Purification, Characteristics, and Application for Dye Decolorization. *Appl. Biochem. Microbiol.* 2022. vol. 58, Suppl. 1, P. S113–S125. <https://doi.org/10.1134/S0003683822100118>
43. Shreve M.J., Brockman A., Hartleb M., Prebihalo S., Dorman F.L., Brennan R.A. The white-rot fungus *Trametes versicolor* reduces the estrogenic activity of a mixture of emerging contaminants in wastewater treatment plant effluent. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 2016. vol. 109, P. 132–140. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.01.018>
44. Siegel D., Gustafson D.L., Dehn D.L., Han J.Y., Boonchoong P., Berliner L.J., Ross D. NAD(P)H:Quinone Oxidoreductase 1: Role as a Superoxide Scavenger. *Mol. Pharmacol.* 2004. vol. 65, no. 5, P. 1238–1247. <https://doi.org/10.1124/mol.65.5.1238>
45. Szrok-Jurga S., Czumaj A., Turyn J., Hebanowska A., Swierczynski J., Sledzinski T., Stelmanska E. The Physiological and Pathological Role of Acyl-CoA Oxidation. *Int. J. Mol. Sci.* 2023. vol. 24, no. 19, P. 14857. <https://doi.org/10.3390/ijms241914857>
46. Torres-Farrad G., Thijs S., Rineau F., Guerra G., Vangronsveld J. White Rot Fungi as Tools for the Bioremediation of Xenobiotics: A Review. *J. Fungi*. 2024. vol. 10, no. 3, P. 167. <https://doi.org/10.3390/jof10030167>
47. Tossetta G., Fantone S., Goteri G., Giannubilo S.R., Ciavattini A., Marzioni D. The Role of NQO1 in Ovarian Cancer. *Int. J. Mol. Sci.* 2023. vol. 24, no. 9, P. 7839. <https://doi.org/10.3390/ijms24097839>
48. Vera-Aviles M., Vantana E., Kardinajari E., Koh N.L., Latunde-Dada G.O. Protective Role of Histidine Supplementation Against Oxidative Stress Damage in the Management of Anemia of Chronic Kidney Disease. *Pharmaceuticals*. 2018. vol. 11, no. 4, P. 111. <https://doi.org/10.3390/ph11040111>
49. Viana C.E.M., Lima V.d.S., Rodrigues K., Pereira L., Silva G.M.M. Bioremediation of Endocrine Disruptors (EDs): A Systematic Review of Fungal Application in ED Removal from Wastewater. *Water*. 2025. vol. 17, no. 5, P. 640. <https://doi.org/10.3390/w17050640>
50. Wang B., Yin Z., Liu J., Tang C., Zhang Y., Wang L., Li H., Luo Y. Diquat Induces Cell Death and dopamine Neuron Loss via Reactive Oxygen Species Generation in *Caenorhabditis elegans*. *Environ. Sci. Technol.* 2025. vol. 59, no. 1, P. 152–162. <https://doi.org/10.1021/acs.est.4c07783>
51. Wells T., Ragauskas A.J. Biotechnological opportunities with the β -ketoadipate pathway. *Trends Biotechnol.* 2012. vol. 30, no. 12, P. 627–637. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2012.09.008>
52. Yaakoub H., Mina S., Calenda A., Bouchara J.-P., Papon N. Oxidative stress response pathways in fungi. *Cell. Mol. Life Sci.* 2022. vol. 79, P. 333. <https://doi.org/10.1007/s00018-022-04353-8>
53. Zhu Q.-M., Wang C., Liu J.-W., Zhang R., Xin X.-L., Zhang J., Sun C.-P., Ma X.-C. Degradation profile of environmental pollutant 17 β -estradiol by human intestinal fungus *Aspergillus niger* RG13B1 and characterization of genes involved in its degradation. *J. Hazard. Mater.* 2024. vol. 461, P. 132617. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.132617>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Савинова Ольга Сергеевна — канд. биол. наук, научный сотрудник ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, Российская Федерация
E-mail: savinova_os@rambler.ru

Шабает Александр Викторович — младший научный сотрудник, ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Российская Федерация
E-mail: a.shabaeff2011@yandex.ru

Федорова Татьяна Васильевна — кандидат технических наук, заведующая лабораторией молекулярных основ биотрансформаций, ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Российская Федерация
E-mail: fedorova_tv@mail.ru

Поступила в редакцию 10.11.2025
После доработки 25.11.2025
Принята к публикации 28.11.2025

AUTHOR INFORMATION

Savinova, Olga S. — Cand. Sc. (Biology), Researcher, Research Center of Biotechnology RAS, Moscow, Russian Federation
E-mail: savinova_os@rambler.ru

Shabaev, Alexander V. — Junior Researcher, FRC “Fundamentals of Biotechnology” of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation
E-mail: a.shabaeff2011@yandex.ru

Fedorova, Tatiana V. — Cand. Sc. (Engineering), Head of the Laboratory of Molecular Aspects of Biotransformation, FRC “Fundamentals of Biotechnology” of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation
E-mail: fedorova_tv@mail.ru

Received November 10, 2025
Revised November 25, 2025
Accepted November 28, 2025