

# ОГЛЯДИ

УДК 517.121/7.: 615.9

## РОЛЬ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПУТЕЙ МЕТАБОЛИЗМА ФОРМАЛЬДЕГИДА И ОКСИДА АЗОТА В МЕХАНИЗМЕ ИХ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ. I. ЭКЗО- И ЭНДОГЕННЫЕ ИСТОЧНИКИ ФОРМАЛЬДЕГИДА И ОКСИДА АЗОТА. ТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ФОРМАЛЬДЕГИДА

Н. П. ДМИТРЕНКО<sup>1</sup>, А. ХОЛИАН<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт экологии и токсикологии им. Л. И. Медведя, Киев, Украина;

<sup>2</sup>Center for Environmental Health Sciences, The University of Montana, USA;  
e-mail: dmitr@medved.kiev.ua; mpdmitr@yandex.ru

*Розглянуто можливі екзогенні джерела формальдегіду та оксиду азоту, а також ситуації, коли в умовах забруднення навколишнього середовища ці сполуки та їхні попередники діють на організм сумісно; інтермедіати і ключові ферменти (семікарбозидчутлива аміноксидаза, NO-синтази та ін.), що забезпечують ендогенне утворення формальдегіду й оксиду азоту; роль одноуглецевого шляху обміну і метильних циклів для синтезу, зберігання і використання формальдегіду. Дано характеристику різних сторін токсичної дії формальдегіду.*

*К л ю ч о в і с л о в а: формальдегід, оксид азоту, NO-синтази, одноуглецевий шлях обміну, метильні цикли, забруднення навколишнього середовища.*

**Ф**ормальдегид (ФА) и оксид азота (NO) имеют много общего. Эти газообразные соединения вездесущи. Они обнаруживаются в космосе и рассматриваются как предшественники абиогенного синтеза первичных органических соединений, из которых мог развиться живой мир [1–3]. Значительные их концентрации накапливаются в атмосферном воздухе в результате природных процессов (грозовая и вулканическая активность, пожары), биогенной и особенно антропогенной деятельности [4–6]. Организм человека постоянно подвергается комбинированному воздействию ФА и оксидов азота окружающей среды, включая NO.

Долгое время ФА и NO привлекали внимание исследователей исключительно как загрязнители окружающей среды, представляющие опасность для здоровья человека в силу их возможного мутагенного и канцерогенного действия [7–9]. Позднее было установлено, что эти соединения образуются в организме в процессе метаболизма и участвуют в его регуляции [10–12]. В экспоненциально возрастающих с каждым годом исследованиях роль ФА и NO в осуществлении физиологических процессов и в патогенезе болезней рассматриваются отдельно. Вместе с тем становится все более очевидным, что метаболизм ФА и NO между собой тесно взаимосвязаны. Эта взаимосвязь может быть опосредован-

ной через генерацию реактивных форм кислорода (ROS), участие в процессах энергообеспечения, биосинтеза белков и нуклеиновых кислот, важных интермедиатов, амиакообразования и др. Однако накапливаются факты, указывающие на наличие непосредственного пересечения метаболических путей ФА и NO. В настоящем обзоре предпринята попытка обобщить имеющиеся данные о взаимодействии путей метаболизма ФА и NO. Такое обобщение представляется важным для более полного понимания роли этих соединений в жизнеобеспечении организма, патогенезе заболеваний и формировании особенностей их совместного токсического действия, а также может оказаться полезным в разработке эффективных способов и средств профилактики и лечения заболеваний, в механизме возникновения и развития которых участвуют ФА и NO.

### Экзогенные источники формальдегида и оксида азота

Этот вопрос широко освещен в ряде обзоров [7–9]. ФА и оксиды азота (в том числе NO) являются главными интермедиатами окисления углеродных и азотсодержащих соединений в атмосфере, обуславливающих ее фотохимическую активность. Наиболее богатым биогенным источником ФА является метан [13]. Он утилизируется метилотрофными микроорганизмами почвы и,

стимулируя у них процессы нитрификации, способствует высвобождению в атмосферу оксидов азота [14]. Основным антропогенным источником накопления ФА и NO в воздухе является сгорание топлива в силовых станциях, моторах автомашин, бытовых устройствах, использующих горение топлива [7–9]. ФА широко используется в производстве смол, пластических масс и ряда химикатов. По расчетам международного Агентства профессиональной безопасности и заболеваний (OSHA) около 2,1 млн. рабочих вынуждены контактировать с ФА. Угрожающие здоровью и даже жизни концентрации ФА и NO могут создаваться в воздухе при так называемом фотохимическом смоге, природных и техногенных катастрофах и террористических актах, которые сопровождаются пожарами, горением полимеров, пластических масс, нефти, а также ракетного топлива и других азотсодержащих органических веществ [15–17].

Особенно большие количества ФА и NO могут образовываться при взрывах или биодegradации первичных и вторичных взрывчатых веществ [18]. Среди них, например, нитроцеллюлоза, нитрополиолы, нитроароматические соединения и циклические нитроамины. К последним относится и такое высокоэнергетическое взрывчатое вещество как гексагидро-1,3,5-тринитро-1,3,5-триазин (RDX), которое широко используется в военных и гражданских целях, что приводит к значительному загрязнению воды и почвы [19]. В результате биодegradации анаэробными микроорганизмами из указанных соединений образуются N-нитрозосоединения, ФА и оксиды азота, а также аммиак, метанол, муравьиная кислота и метан [20–22]. В воздухе NO как нестойкое соединение в результате фотохимического смога окисляется, при этом образуются  $N_2O$ ,  $NO_2$ ,  $N_2O_3$ ,  $N_2O_4$ ,  $N_2O_5$ ,  $NO_3$ ,  $HNO_2$ ,  $HNO_3$ . Кроме того, в результате реакции  $NO_2$  с летучими органическими соединениями синтезируется пероксиацетил нитрат (PAN) [9,23]. Они, а также нитриты, нитраты, N- и S-нитрозосоединения, органические нитраты, гидроксиламин и другие азотсодержащие соединения, поступая в организм, способны образовывать NO. Нитрит- и нитрат анионы восстанавливаются в NO, взаимодействуя с гемсодержащими белками, и некоторыми ферментами, например, ксантиноксидазой [24]. В превращении органических нитратов, нитрозосоединений и гидроксиламина в NO участвуют глутатион-S-трансферазы, цитохромы P-450 и митохондриальная альдегиддегидрогеназа [25–27].

Нередко возникают ситуации, при которых происходит совместное воздействие на организм ФА и NO в результате потребления пищи и пи-

тья, содержащих ФА (например, в качестве консерванта), нитриты и нитраты, а также курения. Воздействие на организм ФА, входящего в состав антисептиков, косметических, моющих, клеящих, смягчающих и других потребительских средств, некоторых пластмасс и изделий из дерева, зачастую происходит вместе с NO, также поступающим в организм из указанных источников.

Многие ксенобиотики, загрязняющие окружающую среду, являются экзогенными источниками ФА. К ним относятся алифатические N-нитрозамины, метиламин, гидроксиламин, диметилсульфид, N,N-диметиланилин, метансульфоновая кислота, метилхлорид, метилфторид и дигалометаны, амиламид, алкоголи (этиленгликоль, метанол, вицинальные диолы и др.), никотин, эфиры (тиоэфиры, диметиловый эфир, N-метилкарбазол, метиловые эфиры, в частности, метил-*трет*-бутиловый эфир, широко использующийся как присадка в бензине) и др. [28–39]. ФА также образуется в организме в результате превращения ряда фармпрепаратов, таких как, например, бензилгуанин, кофеин, уротропин, диметилсульфоксид, бензфетамин, эритромицин, метадон, метоксифлуран, хлоралгидрат и др. [40–50].

Образование ФА из экзогенных субстратов осуществляется главным образом в результате их N-, O- или S-деалкилирования и N-деметилирования соответствующими изоформами цитохрома P-450. При этом, также как и при N- и S-денитрозировании экзогенных органических источников NO монооксигеназной системой происходит генерация ROS, в частности супероксидного радикала и  $H_2O_2$  [48,51–56]. N-, O- деалкилирование ксенобиотиков с образованием ФА может также осуществляться без участия цитохрома P-450, с помощью так называемых гемсодержащих микропероксидаз [57,58]. Имеются данные [59], что NO, взаимодействуя с гемовым центром цитохромов P-450, в частности изоформы CYP2E1, может угнетать образование ФА и ROS из соответствующих ксенобиотиков и тем самым ослаблять их токсическое действие.

#### Эндогенные источники формальдегида

В процессе прохождения одноуглеродного пути метаболизма (рис. 1), в котором участвуют такие ключевые интермедиаты, как S-аденозилметионин, S-аденозил-гомоцистеин, L-гомоцистеин, L-метионин и тетрагидрофолиевые кислоты, а изначальным источником метильных групп служат главным образом бетаин и серин [60–62], происходит образование свободного ФА. Это убедительно показано в исследованиях E. Tiyhak с

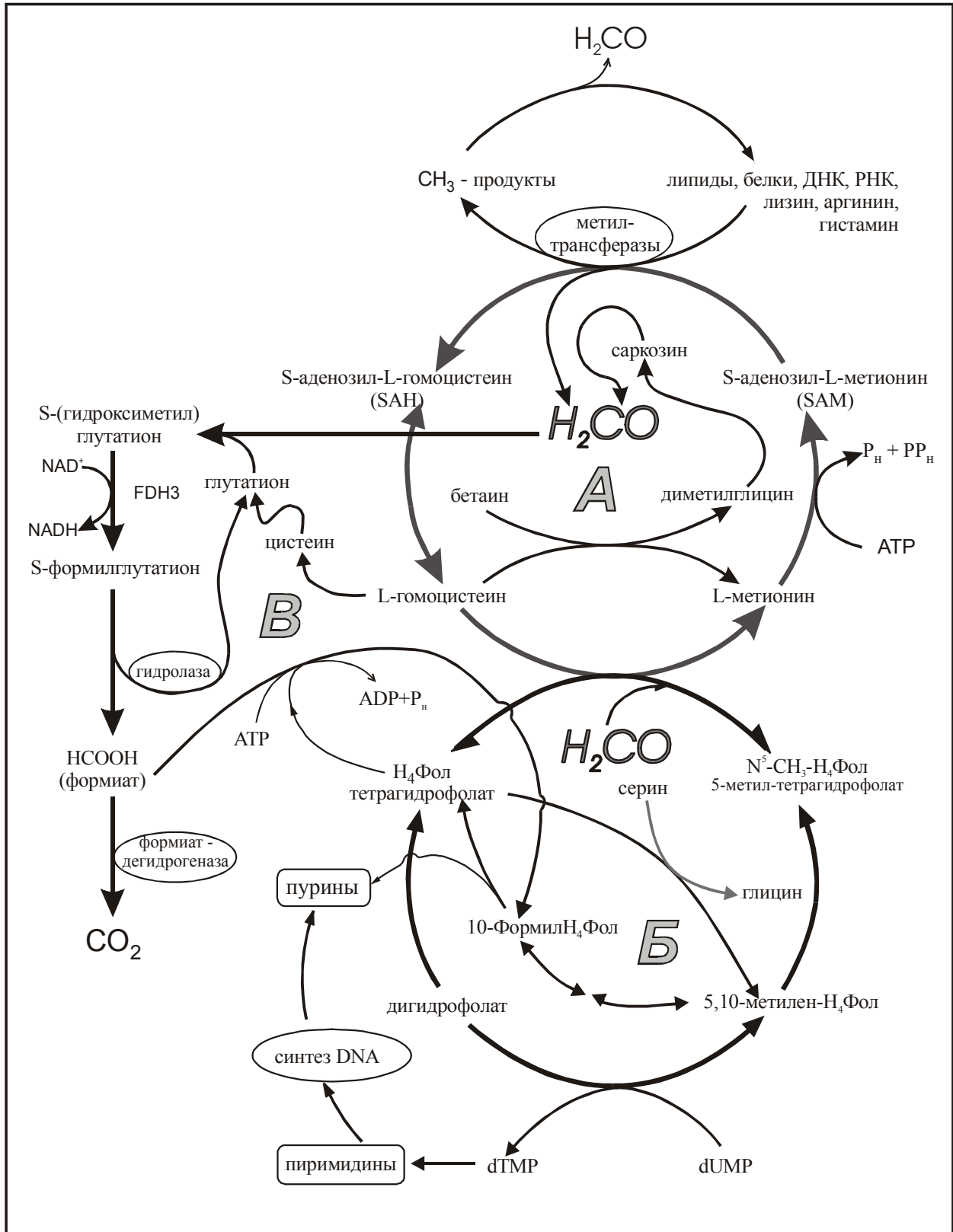


Рис. 1. Циклы одноуглеродного обмена.

сотр. с помощью использования искусственной ловушки ФА – димедона [63–69]. Так, установ-

лено, что при реакции ферментативного метилирования гистамина в присутствии димедона, он

перехватывает ФА, высвобождающийся из субстрата S-аденозил-метионина и образует формальдигидрон [63]. Доказано также участие ФА в образовании метильной группы L-метионина [64, 65].

Поскольку образование ФА сопутствует ферментативным реакциям метилирования и деметилирования, то можно представить, что они в клетках и тканях организма формируют формальдегидный цикл, тесно сопряженный с функционированием циклов метилирования, входящих в одноуглеродный путь обмена (рис. 1 А, Б) [64,65,67,70,71]. Прослеживается еще один путь циклического превращения ФА, в котором участвует восстановленный глутатион, способный неферментативно образовывать аддукт с ФА — S(гидроксиметил) глутатион. Затем он в результате зависимо от NAD(P)<sup>+</sup> оксидативного ацилирования с участием глутатионзависимой алкогольдегидрогеназы (класс III) или иначе формальдегид дегидрогеназы (1.2.1.1) образует S-формилглутатион, из которого соответствующей гидролазой (3.1.2.12) вновь образуется глутатион и высвобождается формиат (муравьиная кислота) [72]. Последний, используя энергию АТФ, включается в тетрагидрофолат с образованием 10-формилтетрагидрофолата (реакция катализируется формиат:тетрагидрофолатлигазой (6.3.4.3) и тем самым возвращает метильную группу в метаболический фонд циклов одноуглеродного пути обмена, в процессе функционирования которых вновь образуется ФА [73–78]. В окислении ФА в формиат помимо цитоплазматической GSH-зависимой формальдегиддегидрогеназы могут также участвовать и другие GSH-независимые формальдегиддегидрогеназы (1.2.1.46), в частности, митохондриальная альдегид-дегидрогеназа, обладающая более низкой  $K_m$ . Указанный глутатионзависимый цикл превращения ФА функционирует при физиологических условиях. Но при гиперпродукции в организме свободного ФА, он превращается в менее токсичный формиат, меньшая часть которого окисляется в углекислоту с участием формиатдегидрогеназы (1.2.1.2), а большая — выводится из организма в неизменном виде с мочой [71–76]. Возможности утилизации формиата в организме более ограничены, чем ФА. Поэтому его содержание в тканях и жидкостях организма в определенной мере может быть биотестом, отражающим интенсивность эндогенного синтеза и нагрузки на организм экзогенного ФА. Так, например, при остром отравлении метанолом отмечается преимущественное накопление в тканях и моче не непосредственного продукта его превращения — ФА, а формиата, с которым связывают поражение ретины и развитие слепоты [35, 79].

По-видимому, образование ФА в процессе функционирования рассматриваемых метаболических циклов является побочным явлением, сопутствующим процессам не только деметилирования, но и биосинтеза ДНК, метилирования липидов, нуклеиновых кислот, L-лизина и L-аргинина. Последние способны метилироваться как в составе белков и пептидов, так и в свободном виде. ФА при физиологических рН в реакции с L-аргином гидроксил метилирует гуанидиновую группу, а с L-лизином метилирует эпсилон-аминогруппу с образованием моно-, ди- и тригидроксиметил аргинина и моно-, ди- и триметиллизина соответственно. При определенных условиях эти соединения могут высвободить формальдегид. Метилирование и деметилирование L-лизина и L-аргинина выполняют важную регуляторную функцию и через влияние на содержание в организме не только ФА, но и NO участвуют в развитии патологических процессов [66,80–84].

Эндогенными источниками ФА, помимо упомянутых выше, могут быть глицерол, креатин и креатинин, адреналин и холин (рис. 2). Глицерол превращается в ФА с помощью цитохрома P-450 непрямым путем, а под влиянием окислителя, который образуется в результате взаимодействия продукта этой ферментативной реакции (пероксида водорода) и негемового железа [85–87]. Накопление глицерола, а следовательно и усиление синтеза ФА, в организме может происходить при избыточном потреблении жиров и состояниях, связанных с интенсификацией липолиза.

Недавно высказана гипотеза [88, 89], согласно которой источником ФА в организме может быть креатинин и креатин. Из этих метаболитов с помощью ферментов креатинин-амидогидролазы (3.5.2.10) и креатин-амидогидролазы (3.5.3.3) образуется мочевины и саркозин. Последний служит субстратом для саркозиндегидрогеназы (1.5.99.1), которая превращает его в глицин и ФА. Возможен и другой путь образования ФА из саркозина через глицинооксидазную реакцию (1.4.3.19) в глиоксилат и метиламин, из которого в результате деметилирования семикарбазидчувствительной аминоксидазой (1.4.3.6) образуется ФА (рис. 2). Насколько реальны эти пути образования формальдегида в тканях млекопитающих еще необходимо исследовать. Смушает, например, отсутствие данных о наличии активности в тканях животных и человека креатинин- и креатин-амидогидролаз, которые известны, как ферменты микробного происхождения. Активность остальных ферментов у млекопитающих установлена.

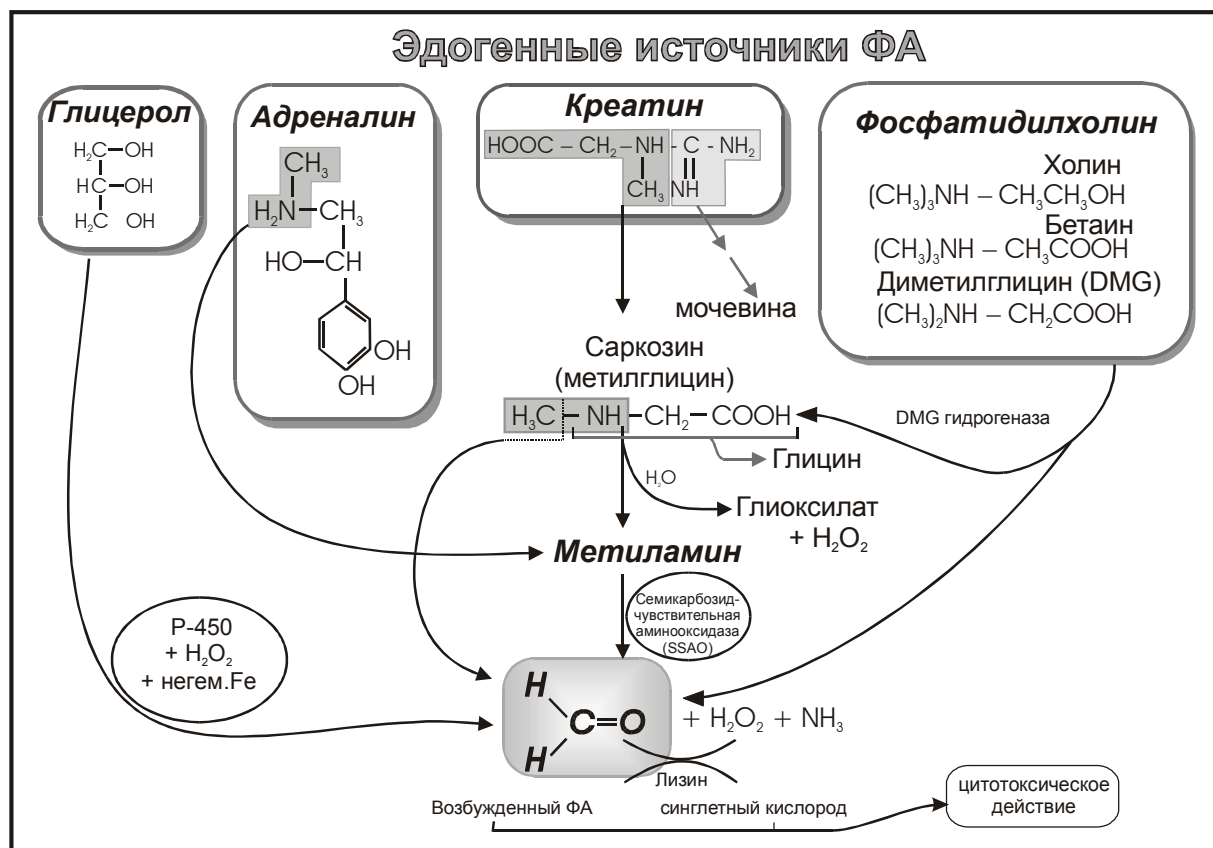


Рис. 2. Эндогенные источники формальдегида (ФА).

Источником ФА также является адреналин, из которого в результате дезаминирования моноаминоксидазой отщепляется метиламин (рис. 2) [90].

Еще одним возможным источником ФА является холин, свободный или входящий в состав фосфатидилхолина. В результате действия холин-оксидазы (1.1.3.17) и бетаин альдегиддегидрогеназы (1.2.1.8) он окисляется в бетаин, который с помощью бетаин-гомоцистеинметилтрансферазы (2.1.1.5) деметилируется в диметилглицин и далее из него при действии диметилглицин-дегидрогеназы (1.5.99.2) и саркозиндегидрогеназы (1.5.99.1) образуется глицин и метиламин. Оба последних фермента располагаются в матриксе митохондрий, содержат в структуре флавинадениннуклеотид (FAD) и используют в качестве кофермента производные фолиевой кислоты, предпочтительнее всего тетрагидрофолат (THF), на который переносят метильную группу с образованием 5,10-метилтен-THF или так называемого “активного” ФА, который используется в одноуглеродном пути обмена преимущественно в связанном виде, хотя некоторая “утечка” свободного ФА при этом, как указывалось выше, также происходит [90–95]. Здесь уместно отметить, что метиламин является продуктом биотрансформа-

ции никотина, который у курильщиков служит дополнительным источником ФА [84,90].

При таком значительном количестве потенциально возможных эндогенных источников ФА накопления его в токсических количествах тем не менее не происходит. Очевидно, емкость формальдегидных циклов, входящих в одноуглеродный путь обмена, достаточна, чтобы связывать значительные количества ФА, образующегося из экзогенных и эндогенных источников. Воздействуя тем или иным способом и в том или ином месте на целостность циклов можно регулировать содержание ФА в организме. Например, при дефиците фолиевой кислоты ограничивается образование “активного” ФА в реакциях деметилирования диметилглицина и саркозина, осуществляемых с помощью соответствующих дегидрогеназ, а синтез свободного ФА усиливается [94–96]. Помимо связывания с THF, ФА может окисляться с участием каталазы, а также митохондриальной альдегиддегидрогеназы. Интересно, что последняя каким-то образом сопряжена с моноаминоксигеназной системой, возможно благодаря контакту мембран митохондрий и эндоплазматического ретикула. Поэтому, например, образованный в результате N-деалкилирования

амидопирина в эндоплазматическом ретикулуме ФА затем окисляется непосредственно в митохондриях, не проникая в цитозоль [72,97]. Благодаря наличию в клетках и тканях мощных механизмов утилизации ФА, его физиологические концентрации в крови поддерживаются на довольно низких уровнях:  $2,24 \pm 0,07$ ,  $1,84 \pm 0,15$  и  $2,61 \pm 0,14$  мкг на грамм крови у крыс, обезьян и человека соответственно. Они существенно не изменяются после острой или хронической ингаляции ФА [98]. Излишки ФА экскретируются из организма. Так, у крыс выводится с мочой около 30 нмоль ФА на кг веса тела за 6 часов [84].

#### Эндогенные источники оксида азота

Синтез NO в различных типах клеток организма осуществляется изоформами NO-синтазы: нейрональной (nNOS, тип I), индуцибельной (iNOS, тип II) и эндотелиальной (eNOS, тип III). Все они катализируют сходную реакцию окисления L-аргинина в NO и L-цитруллин и имеют сложную димерную структуру, с которой тесно связаны такие кофакторы, как флавиномононуклеотид, флавиндинуклеотид, тетрагидробиоптерин и протопорфирин IX с  $Fe^{2+}$ . Между изоформами имеются различия в молекулярной массе и кинетических константах, их гены локализируются в различных хромосомах. Функционирование конститутивных NOS I и III, в отличие от iNOS II, нуждается в увеличении внутриклеточной концентрации  $Ca^{2+}$  и активации кальмодулина. Эндотелиальная NOS III связана с мембранными структурами клетки, а нейрональная и индуцибельная формы NOS I и II расположены преимущественно в цитозоле. NO-синтазы типа I и III обеспечивают быстрое, ситуативное (в ответ на внеклеточные сигналы медиаторов, физиологически активных веществ и гормонов) изменение уровня NO в организме в физиологических пикомолярных количествах. При инфекциях, воспалительных процессах, травмах, с целью уничтожения микроорганизмов, чужеродных или неопластических тканей индуцибельная изоформа может образовывать NO в микромолярных количествах, что зачастую приводит к его гиперпродукции, приводящей к интоксикации организма [12, 99].

Нами показано [100], что субстратом для iNOS в перитонеальных макрофагах крыс могут быть креатин и гуанидиноацетат.

Есть данные, что в организме млекопитающих около 50% нитратов образуется из аммиака [101]. Он, включаясь в глутамат, аспарат и цикл мочевины, может участвовать в синтезе NG-группы аргинина с последующим ее окислением в

NO и дальше в нитрит- и нитрат-анионы. Но нельзя исключить и возможность окисления аммиака в нитраты, близкое к тому, что осуществляется микроорганизмами почвы при нитрификации. В этом окислении могут участвовать, например, кишечная микрофлора и тканевые ферменты. При этом помимо NO возможно образование гидроксилamina и закиси азота, физиологическая роль которых также может оказаться очень важной.

ФА и NO могут осуществлять свое действие в организме в зависимости от концентрации либо как медиаторы, контролируемые биохимические реакции и функции различных органов и систем (физиологические концентрации), либо как токсические агенты (при повышенных концентрациях). Настоящий обзор ограничивается рассмотрением только токсической стороны действия ФА. Токсические и представляющие фактор риска развития различных патологических состояний концентрации ФА могут создаваться в организме при поступлении его из окружающей среды, а также в результате неконтролируемой ферментативной гиперпродукции из эндогенных и экзогенных субстратов.

#### Токсическое действие формальдегида

Клиническая картина острого отравления ФА, его токсикометрия, токсикокинетика и токсикодинамика хорошо изучены. В эксперименте ФА проявляет генотоксическое, мутагенное, иммуногенное (в том числе аллергенное) и онкогенное (индуцирует плоскоклеточную карциному носовых пазух у крыс и мышей) действие [7,8,102].

В последнее время усилился интерес к возможной роли ФА в патогенезе диабетических ангиопатий, атеросклероза, сердечно-сосудистых и других заболеваний, что связано с успехами в изучении семикарбазидчувствительной аминоксидазы (SSAO) [90,103–107]. Этот фермент, в частности, катализирует превращение образованного из экзогенных и упомянутых выше эндогенных источников метиламина с образованием ФА пероксида водорода и аммиака:  $CH_3NH_2 + O_2 + H_2O > HCHO + H_2O_2 + NH_3$ . Его активность обнаружена во многих клетках, из которых наиболее высокая в гладкомышечных волокнах и эндотелии сосудов, а также адипоцитах. SSAO представляет собой димерный гликопротеид массой 140–180 kDa и содержит два атома меди в каждом димере. Показана идентичность SSAO с адгезивным васкулярным протеином-1 (VAP-1). Фермент локализуется преимущественно в плазматической мембране, причем в виде эктофермента, и в микросомной фракции, но

может высвобождаться из этих структур в плазму крови. Увеличение в ней активности SSAO отмечено у больных сахарным диабетом, атеросклерозом, с врожденной сердечно-сосудистой недостаточностью, уреимией и циррозом печени, перенесших инсульт, а также при стрептозотоциновом диабете у крыс. Таким образом, определение активности SSAO в плазме крови может быть полезным прогностическим тестом в отношении развития этих патологий. Для них также характерно возрастание уровня метиламина и продуктов реакции SSAO – НФА и  $H_2O_2$ . Последние могут взаимодействовать при физиологическом рН в присутствии лизина с образованием активированного ФА и синглетного кислорода [108]. Патогенетическое значение реакции, катализируемой SSAO, очевидно состоит в локальной гиперпродукции этих реактогенных, цитотоксических соединений, в частности, повреждающих эндотелий сосудов и способствующих развитию диабетических ангиопатий и атеросклероза, сосудистой деменции и болезни Альцгеймера.

Цитотоксическое действие продуктов SSAO приводит к солюбилизации мембран и проникновению фермента в кровяное русло, что, в свою очередь, генерализует их токсическое действие в организме. SSAO контролирует взаимодействие лейкоцитов с эндотелиальными клетками. Введение метиламина и ингибиторов SSAO приводит к увеличению количества конечного продукта ПОЛ – малонового диальдегида – в моче. Состояние оксидативного стресса возникает в результате действия образуемых SSAO ФА и пероксида водорода. Последний стимулирует инсулинзависимый транспорт глюкозы, в результате чего создаются условия для оксидативного гликозилирования белков, например, гемоглобина, и окисления липопротеинов низкой плотности (LDL) [90,103–107].

Токсическое действие ФА связано главным образом с тем, что он алкилирует аминокислоты и оснований нуклеиновых кислот. Он реагирует с белками и пептидами (с  $\alpha$ -аминогруппами N-концов основной и боковых цепей), а также амидами, образуя так называемые шиффовы основания ( $-N = CH_2$ ) и (или) кислотолabile N-гидроксиметильные аддукты. Преимущественно реагируют остатки аргинина, лизина, гистидина и тирозина. Между тесно соприкасающимися участками белковой молекулы и отдельных белков под влиянием ФА могут образовываться поперечные сшивки в виде метиленовых мостиков. Эти реакции приводят к нарушению функций ферментов и субклеточных структур [109–111].

Особенно опасным свойством ФА, обуславливающим его генотоксическое, мутагенное и цитотоксическое (по типу апоптоза [66]) действие, является способность образовывать ДНК-протеиновые поперечные сшивки (ДПС). В них участвуют гистоны (все 5 форм, из них чаще всего H1 и H3), а также транскрипционные факторы. В образовании ДПС участвуют  $NH_2$ -группы лизина гистонов и экзоциклические аминогруппы оснований (А и G) ДНК. Общая структура ДПС представляется следующей: гистон- $NH-CH_2-NH$ -ДНК. Уровень в клетках и тканях организма ДПС служит хорошим биомаркером, который отражает нагрузку ФА на организм и позволяет прогнозировать его опасность как канцерогена для различных видов млекопитающих [112–114]. К тому же показано, что при пероральном введении крысам ФА происходит многократное увеличение синтеза орнитиндекарбоксилазы и синтеза ДНК в слизистой пилорической части желудка, что наблюдается при действии всех промоторов и канцерогенов соответствующих опухолей [102,115]. ФА может образовывать аддукт ДНК ( $N^2$ -метил-2'-дезоксигуанозин) через реакцию с экзоциклической аминогруппой dG, что приводит к неправильному кодированию и генерирует транзитные  $G \rightarrow A$  мутации [116].

Формальдегидная интоксикация сопровождается состоянием оксидативного стресса, проявляющемся в интенсификации процессов липидной перекисидации. В значительной мере это связано с истощением клеточного фонда восстановленного глутатиона [117] очевидно в результате образования S-формилглутатиона (рис. 1). Снижение концентрации GSH в печени выявлено у крыс через 4 мес. после ингаляции им ФА, которая привела к выраженной патологии слизистой носовых пазух [98]. Снижению уровня клеточного небелкового фонда восстановленных SH-групп может способствовать взаимодействие ФА с цистеином с образованием тиозалидин-4-карбоксилата [118]. На накопление ROS влияет также вызываемое ФА снижение уровня аскорбиновой кислоты, которая служит ловушкой радикалов [98]. Как уже отмечалось, усиление генерации ROS также сопутствует образованию ФА из ксеногенных и биогенных субстратов. С другой стороны показано, что парентеральное введение мышам ФА сильно индуцирует в печени синтез металлотионеина [119], который представляет собой семейство низкомолекулярных, богатых цистеином белков, и в этой связи выполняет важную протекторную роль в отношении агентов, токсичность которых осуществляется через ROS. Кроме того эти белки имеют высокое сродство к тяжелым металлам, а также участвуют в регуля-

ции гомеостаза  $Zn^{2+}$  и  $Cu^{2+}$  [120]. Возможно, что усиление синтеза металлотиионеина в какой-то мере компенсирует прооксидантное действие ФА. Защитным действием против его токсического влияния, в частности образования ДРС и гликозилирования белков, обладает карнозин [121].

Наконец, следствием токсического воздействия ФА является накопление лактата и возникновение ацидоза, снижение активности лейцинаминопептидазы и  $\beta$ -глюкуронидазы, возрастание активности кислой фосфатазы, пролиноксидазы и нафтолацетат эстеразы [102].

**ROLE OF THE PATHS  
OF FORMALDEHYDE AND NITRIC  
OXIDE METABOLISM  
INTERDEPENDENCE IN MECHANISM  
OF THEIR TOXIC ACTION. I. EXO-  
AND ENDOGENOUS SOURCES  
OF FORMALDEHYDE AND NITRIC  
OXIDE. TOXIC ACTION  
OF FORMALDEHYDE**

*M. P. Dmitrenko<sup>1</sup>, A. Holian<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Medved Institute of Ecohygiene and Toxicology,  
Kyiv, Ukraine;

<sup>2</sup>Center for Environmental Health Sciences,  
The University of Montana, USA;  
e-mail: dmitr@medved.kiev.ua; mpdmitr@yandex.ru

**S u m m a r y**

Possible exogenous sources of formaldehyde and nitric oxide have been considered; the environment pollution conditions under which these compounds and their precursors have mutual effect on the organism; endogenous sources of FA and NO which are intermediates of the metabolism and key enzymes of their transformation (semicarbazide-sensitive amine oxidase and NO-synthase) the role of the C1 metabolic cycle pathways and methyl cycles in the FA formation and accumulation have been considered as well, various paths of FA toxic action have been characterized.

**К е y w o r d s:** formaldehyde, nitric oxide NO-synthase, C1 metabolic cycle, methylcycles, environment pollution conditions.

1. Фокс С., Дозе К. Молекулярная эволюция и возникновение жизни (под ред. А. И. Опарина) Изд. "Мир", Москва. 1975. 374 с.
2. Otroshchenko V. A., Alekseev V. A., Ryabchuk V. K. // Workshop Astrobiology Expeditions. 2002. St.-Petersburg, Russia. March, 25–29, 2002. P. 63–92. [http:// biospace.nw.ru/astrobiology/articles.htm](http://biospace.nw.ru/astrobiology/articles.htm).

3. Cartwright D. C., Brunger M. J., Campbell L. et al. // J. Geophys. Res. 2000. **105**, N A9. P. 208–257.
4. Ayers, G. P., Gillett R. W., Granek H. et al. // Geophys. Res. Lett. 1997. **24**, N 4. P. 401–404.
5. Lee M., Heikes B. G., Jacob D. J. et al. // J. Geophys. Res. 1997. **102**. P. 1301–1309.
6. Davidson E. A., Kingerlee W. // Nutrient Cycling in Agroecosystems. 1997. **48**, N 1. P. 37–50.
7. Formaldehyde / IPCS Environmental Health Criteria, 89, 1989.
8. Formaldehyde / CICADS 40, 2002.
9. Nitrogen Oxides (IPCS Environmental Health Criteria, 188, 2nd Ed.). Geneva. 1997.
10. Кованов В. В., Андреева Н. А., Лапкина Т. И. // Вестник АМН СССР. 1989. **3**. С. 84–90.
11. Tyihak E., Albert L., Nemeth Z. I. et al. // Acta Biol. Hung. 1998. **49**, N 2. P. 225–238.
12. Lincoln J., Hoyle C. H. V., Burnstock G. / In book "Nitric Oxide in Health and Disease" - Cambridge. University press. 1997. 363 p.
13. Staffelbach T., Neftel A., Stauffer B., Jacob D. // Nature. 1991. **349**, N 6310. P. 603–605.
14. Roy R., Knowles R. // Appl. Environ. Microbiol. 1994. **60**, N 9. P. 3307–3314.
15. ATSDR, Division of Health Studies Epidemiology and Surveillance; Hazardous Substances Emergency Events Surveillance (HSEES). Annual Report-1998, 73 P. // <http://www.atsdr.cdc.gov/HS/HSEES/annual 98.html>.
16. Guide for the Selection of Chemical Agent and Toxic Industrial Material Detection Equipment for Emergency First Responders, NIJ Guide 100-00. 1; June 2000; <http://www.hard-target.net/htsb84.pdf>.
17. Provatas A. Energetic Polymers and Plasticisers for Explosive Formulations. April 2000// [www.dst.defence.gov.au/corporate/reports/DSTO-TR-0966.pdf](http://www.dst.defence.gov.au/corporate/reports/DSTO-TR-0966.pdf).
18. Maynard P. 65742 Fire and explosion investigation. Section 3: Chemistry of fires and explosions// [www.forensics.edu.au/downloads/Section3Chemistry.pdf](http://www.forensics.edu.au/downloads/Section3Chemistry.pdf).
19. Haas R., Schreiber I., von Low E., Stork G. // Fresenius J. Anal. Chem. 1990. **338**, N 1. P. 41–45.
20. Myler C. A., Sisk W. p. 137–146. / In environmental biotechnology for waste treatment (G. S. Sayler, R. Fox, and J. W. Blackburn, ed.). Plenum Press, New York. 1991.
21. Hawari J., Halasz A., Sheremata T. et al. // Appl. Environ. Microbiol. 2000. **66**, N 6. P. 2652–2657.
22. Bhushan B., Trott S., Spain J. C. et al. // Ibid. 2003. **69**, N 3. P. 1347–1351.
23. Williams E. L., Grosjean E., Grosjean D. // JAIC. 1993. **32**, N 1. P. 59–79.



24. Реутов В. П. // Биохимия. 2002. **67**, № 3. С. 353–376.
25. Wang P. G., Xian M., Tang X. et al. // Chem. Rev. 2002. **102**, N 4. P. 1091–1134.
26. DiFabio J., Ji Y., Vasiliou V., Thatcher G. R. J., Bennett B. M. // Mol. Pharmacol. 2003. **64**, N 5. P. 1109–1116.
27. Kozlov A. V., Dietrich B., Nohl H. // Brit. J. Pharmacol. 2003. **139**, N 5. P. 989–997.
28. Sohn O. S., Ishizaki H., Yang C. S., Fiala E. S. // Carcinogenesis. 1991. **12**, N 1. P. 127–131.
29. Lee V. M., Keefer L. K., Archer M. C. // Chem. Res. Toxicol. 1996. **9**, N 8. P. 1319–1324.
30. Stiborova M., Hansikova H., Frei E. // Cancer Lett. 1996. **110**, N 1. P. 11–17.
31. Kalasz H., Bathori M., Tyihak E. // Acta Biol. Hung. 1998. **49**, N 2–4. P. 339–344.
32. Koop D. R., Hollenberg P. F. // J. Biol. Chem. 1980. **255**, N 20. P. 9685–9692.
33. Methyl chloride. US EPA IRIS. <http://www.epa.gov/iris/subset/1003.htm>.
34. Wackett L., Ma J. // [http://umbbd.ahc.umn.edu/C1cyc/C1cyc\\_map.html](http://umbbd.ahc.umn.edu/C1cyc/C1cyc_map.html).
35. Bouchard M., Brunet R. C., Droz P.-O., Carrier G. // Toxicol. Sci. 2001. **64**, N 2. P. 169–184.
36. Kukielka E., Cederbaum A. I. // Drug Metab. Dispos. 1991. **19**, N 6. P. 1108–1115.
37. Ghosheh O. A., Dwoskin L. P., Miller D. K., Crooks P. A. // Ibid. 2001. **29**, N 5. P. 645–651.
38. Mackerer C. R., Angelosanto F. A., Blackburn G. R., Schreiner C. A. // Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1996. **212**, N 4. P. 338–341.
39. Turini A., Amato G., Longo V., Gervasi P. G. // Arch. Toxicol. 1998. **72**, N 4. P. 207–214.
40. Long L., Dolan M. E. // Clin. Cancer Res. 2001. **7**, N 12. P. 4239–4244.
41. Moody D. E., Alburges M. E., Parker R. J. et al. // Drug Metab. Dispos. 1997. **25**, N 12. P. 1347–1353.
42. Law M. Y. L., Slawson M. H., Moody D. E. // Ibid. 2000. **28**, N 3. P. 348–353.
43. Ahmed A. E., Anders M. W. // Ibid. 1976. **4**, N 4. P. 357–361.
44. Bloomer J. C., Clarke S. E., Chenery R. J. // Xenobiotica. 1995. **25**, N 9. P. 917–927.
45. Zhang X. J., Thomas P. E. // Drug Metab. Dispos. 1996. **24**, N 1. P. 23–27.
46. Waskell L., Gonzales J. // Anesthesia & Analgesia. 1982. **61**, N 7. P. 609–613.
47. Gruenke L. D., Konopka K., Cadieu M., Waskell L. // J. Biol. Chem. 1995. **270**, N 42. P. 24707–24718.
48. Winston G. W., Cederbaum A. I. // Ibid. 1983. **258**, N 3. P. 1508–1513.
49. Waydhas C., Weigl K., Sies H. // Eur. J. Biochem. 1978. **89**, N 1. P. 143–150.
50. Koster U., Speerschneider P., Kerssebaum R. et al. // Drug Metab. Dispos. 1994. **22**, N 5. P. 667–672.
51. Kukielka E., Cederbaum A. I. // Toxicol. Lett. 1995. **78**, N 1. P. 9–15.
52. Guengerich F. P., Yun, C.-H. & Macdonald T. L. // J. Biol. Chem. 1996. **271**, N 44. P. 27321–27329.
53. Coon M. J., Vaz A. D. N., McGinnity D. F., Peng H.-M. // Drug Metab. Dispos. 1998. **26**, N 12. P. 1190–1193.
54. Bondy S. C., Naderi S. // Biochem. Pharmacol. 1994. **48**, N 1. P. 155–159.
55. Kedderis G. L., Dwyer L. A., Rickert D. E., Hollenberg P. F. // Mol. Pharmacol. 1983. **23**, N 3. P. 758–760.
56. Haussmann H. J., Werringloer J. // IARC Sci. Publ. 1987. **84**. P. 109–112.
57. Vaz A. D. N., Pernecky S. J., Raner G. M., Coon M. J. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1996. **93**, N 10. P. 4644–4648.
58. Boersma M. G., Primus J.-L., Koerts J. // Eur. J. Biochem. 2000. **267**, N 22. P. 6673–6678.
59. Gergel D., Misik V., Riesz P., Cederbaum A. I. // Arch. Biochem. Biophys. 1997. **337**, N 2. P. 239–250.
60. Finkelstein J. D., Martin J. J. // J. Biol. Chem. 1986. **261**, N 4. P. 1582–1587.
61. Barak A. J., Tuma D. J. // Life Sci. 1983. **32**. P. 771–774.
62. Gregory J. F., Cuskelly G. J., Shane B. et al. // Amer. J. Clin. Nutr. 2000. **72**, N 6. P. 1535–1541.
63. Huszti Z., Tyihak E. // FEBS Lett. 1986. **209**, N 2. P. 362–366.
64. Tyihak E., Albert L., Nemeth Z. I. et al. // Acta Biol. Hung. 1998. **49**, N 2–4. P. 225–238.
65. Reffalvi T., Nemeth Z. I., Sarudi I., Albert L. // Ibid. P. 375–379.
66. Szende B., Tyihak E., Trezl L. et al. // Ibid. P. 323–329.
67. Albert L., Nemeth Z. I., Varga S. // Ibid. P. 363–368.
68. Rozylo T. K., Siembida R., Tyihak E. // Biomed. Chromatogr. 1999. **13**, N 8. P. 513–515.
69. Rozylo T. K., Siembida R., Nemeth Z. I. et al. // Ibid. 2000. **14**, N 3. P. 173–179.
70. Tyihak E., Trezl L., Szende B. // Ann. N. Y. Acad. Sci. 1998. **851**. P. 259–270.
71. C-1 Metabolism // <http://snowwhite.med.upenn.edu/lewis/handout/handout%2019%20C-1%20.pdf>.
72. Pourmotabbed T., Shih M. J., Creighton D. J. // J. Biol. Chem. 1989. **264**, N 29. P. 17384–17388.
73. Liesivuori J., Savolainen H. // Pharmacol. Toxicol. 1991. **69**, N 3. P. 157–163.

74. *Dicker E., Cederbaum A. I.* // *Biochem. J.* 1986. **240**, N 4. P. 821–827.
75. *Johlin F. C., Swain E., Smith C., Tephly T. R.* // *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 1989. **35**, N 6. P. 745–750.
76. *Wackett L., Ma J.* // [http://umbbd.ahc.umn.edu/C1cyc/C1cyc\\_map.html](http://umbbd.ahc.umn.edu/C1cyc/C1cyc_map.html).
77. *Sanghani P. C., Stone C. L., Ray B. D.* // *Biochemistry.* 2000. **39**, N 35. P. 10720–10729.
78. *Hoog J-O., Stromberg P., Hedberg J. J., Griffiths W. J.* // *Chem. Biol. Interact.* 2003. 143–144. P. 175–181.
79. *Garner C. D., Lee E. W., Terzo T. S., Louis-Ferdinand R. T.* // *J. Toxicol. Environ. Health.* 1995. **44**, N 1. P. 43–56.
80. *Trezl L., Hullan L., Jaszay Z. M. et al.* // *Mol. Cell. Biochem.* 2003. **244**, N 1–2. P. 167–176.
81. *Csiba A., Trezl L., Vari E., Teglas G.* // *Med. Hypotheses.* 1982. **8**, N 4. P. 409–412.
82. *Szende B., Tyihak E., Trezl L.* // *Cancer. Cell Int.* 2001. **1**, N 1. P. 3–12.
83. *Hullan L., Trezl L., Szarvas T., Csiba A.* // *Acta Biol. Hung.* 1998. **49**, N 2–4. P. 265–273.
84. *Bagchi M., Bagchi D., Hassoun E. A., Stohs S. J.* // *Toxicology.* 1998. **127**, N 1–3. P. 29–38.
85. *Winters D. K., Cederbaum A. I.* // *Biochem. Pharmacol.* 1990. **39**, N 4. P. 697–705.
86. *Clejan L. A., Cederbaum A. I.* // *FASEB J.* 1992. **6**, N 3. P. 765–770.
87. *Rashba-Step J., Step E., Turro N. J., Cederbaum A. I.* // *Biochemistry.* 1994. **33**, N 32. P. 9504–9510.
88. *Yu P. H., Deng Y.* // *Med. Hypotheses.* 2000. **54**, N 5. P. 726–728.
89. *Overbeek R., Larsen N., Selkov. E. E., Maltsev M.* // 1998 WWW URL; <http://www.cme.msu.edu/WIT/>
90. *Yu P. H., Wright S., Fan E. H. et al.* // *Biochim. Biophys. Acta.* 2003. **1647**, N 1. P. 193–199.
91. *Sheard N. F., Zeisel S. H.* // *Nutrition.* 1989. **5**, N 1. P. 1–5.
92. *Finkelstein J. D.* // *J. Nutr. Biochem.* 1990. **1**, N 2. P. 228–237.
93. *Porter D. H., Cook R. J., Wagner C.* // *Arch. Biochem. Biophys.* 1985. **243**, N 2. P. 396–407.
94. *Cook R. J., Misono K. S., Wagner C.* // *J. Biol. Chem.* 1984. **259**, N 20. P. 12475–12480.
95. *Binzak B. A., Wever R. A., Moolenaar S. H.* // *Amer. J. Hum. Genet.* 2001. **68**, N 4. P. 839–847.
96. *Leys D., Basran J., Scrutton N. S.* // *EMBO J.* 2003. **22**, N 16. P. 4038–4048.
97. *Denk H., Moldeus P. W., Schulz R. A.* // *J. Cell Biol.* 1976. **69**, N 3. P. 589–598.
98. *Thrasher J. D., Kilburn K. H.* // *Arch. Environ. Health.* 2001. **56**, N 4. P. 300–311.
99. *Alderton W. K., Cooper C. E., Knowles R. G.* // *Biochem J.* 2001. **357**, N 3. P. 593–615.
100. *Смердова Л. Н., Кишко Т. О., Паршиков А. В., Дмитренко Н. П.* // *Укр. біохім. журн.* 1999. **71**, № 3. С. 30–34.
101. *Wagner D. A., Moldawer L. L., Pomposelli J. J. et al.* // *Biochem. J.* 1985. **232**, N 2. P. 547–551.
102. *Heck Hd'A., Casanova M., Starr T. B.* // *CRC Critical Reviews in Toxicology.* 1990. **20**, N 6. P. 397–426.
103. *Yu P. H.* // *J. Neural. Transm.(suppl.)* 1998. **52**. P. 201–216.
104. *Jalkanen S., Salmi M.* // *The EMBO J.* 2001. **20**, N 15. P. 3893–3901.
105. *Magyar K., Meszaros Z., Matyus P.* // *Pure Appl. Chem.* 2001. **73**, N 9. P. 1393–1400.
106. *Tipton K. F., O'Sullivan M. I., Davey G. P., O'Sullivan J.* // *Biochem. Soc. Trans.* 2003. **31**. P. 711–715. (Printed in Great Britain).
107. *Yu P. H., Wright S., Fan E. H. et al.* // *Biochim. Biophys. Acta.* 2003. **1647**, N 1–2. P. 193–199.
108. *Tyihak E., Rozsnyay S., Sardi E.* // *Acta Biol. Hung.* 1994. **45**, N 1. P. 3–10.
109. *Kitamoto Y., Maeda H.* // *J. Biochem.* 1980. **87**, N 5. P. 1519–1530.
110. *Metz B., Kersten G. F. A., Hoogerhout P. et al.* // *J. Biol. Chem.* 2004. **279**, N 8. P. 6235–6243.
111. *Hansen B. A., Lane R. S., Dekker E. E.* // *Ibid.* 1974. **249**, N 15. P. 4891–4896.
112. *Quievryn G., Zhitkovich A.* // *Carcinogenesis.* 2000. **21**, N 8. P. 1573–1580.
113. *Hubal E. A. C., Schlosser P. M., Conolly R. B., Kimbell J. S.* // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1997. **143**, N 1. P. 47–55.
114. *Conaway C. C., Whysner J., Verna L. K., Williams G. M.* // *Pharmacol. Ther.* 1996. **71**, N 1–2. P. 29–55.
115. *Furihata C., Yamakoshi A., Matsushima T.* // *Jap. J. Cancer Res.* 1988. **79**, N 8. P. 917–920.
116. *Manabu Y., Saburo M., Masaru I.* // *Nucleic Acids Research.* 2001. **29**, N 9. P. 1994–2001.
117. *Strubelt O., Younes M., Pentz R., Kuhnel W.* // *J. Toxicol. Environ. Health.* 1989. **27**, N 3. P. 351–366.
118. *Marckenzie C. G., Harris J.* // *J. Biol. Chem.* 1957. **227**, N 1. P. 393–406.
119. *Goering P. L.* // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1989. **98**, N 2. P. 325–337.
120. *Chen H., Carlson E. C., Pellet L. et al.* // *Diabetes.* 2001. **50**. P. 2040–2046.
121. *Hipkiss A. R., Preston J. E., Himsworth D. T. M. et al.* // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1998. **854**, N 1. P. 37–53.

Получено 22.06.2004