

ГЛУТАМАТ-ЦИСТЕИНЛИГАЗА – КЛЮЧЕВОЙ ФЕРМЕНТ РЕГУЛЯЦИИ СИНТЕЗА ГЛУТАТИОНА

С.Н. Жерегеля

*Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский
университет, 194100, Санкт-Петербург, ул. Литовская, д.2*

Резюме

Проведен анализ литературных источников из баз данных научных публикаций Scopus, PubMed, E-library, NLM, Web of Science, Research Gate, EBSCO за последнее десятилетие. Критериями включения в обзор явились уровень цитирования работ и их научная новизна, а также доказательность на основе приведенных фактических экспериментальных данных. Рассмотрены ключевые механизмы, регулирующие биосинтез глутатиона, такие как экспрессия генов глутамат-цистеинлигазы, а также роль системы Keap1 / Nrf2 / ARE в этой регуляции в физиологических условиях. Посттрансляционная модификация глутамат-цистеинлигазы осуществляется путем фосфорилирования, миристоилирования, каспазо-опосредованного расщепления, т.к. она является гетеродимерным белком, состоящим из модифицирующей и каталитической субъединиц. Существенную роль приобретает доступность предшественников синтеза глутатиона, в первую очередь серосодержащей аминокислоты цистеина, а также глутаминовой кислоты и пролина, и, кроме того, необходимых для работы ферментов кофакторов. Нарушения регуляции синтеза глутатиона вносят вклад в патогенез многих патологических состояний. К ним относятся сахарный диабет, фиброз легких и печени, алкогольная болезнь печени, холестатическое поражение печени, эндотоксемия и развитие лекарственно-устойчивых опухолевых клеток.

Ключевые слова: глутатион, глутамат-цистеинлигаза, GSH-синтаза, окислительно-восстановительный гомеостаз.

GLUTAMATE-CYSTEINE LIGASE IS A KEY ENZYME IN THE REGULATION OF GLUTATHIONE SYNTHESIS (REVIEW)

Zheregelya S. N.

St. Petersburg State Pediatric Medical University, Litovskaya str., 2, St.
Petersburg, 194100, Russia

The analysis of literary sources from the databases of scientific publications Scopus, PubMed, E-library, NLM, Web of Science, ResearchGate, EBSCO for the last decade. The criteria for inclusion in the review were the level of citation of works and their scientific novelty, as well as evidence based on the actual experimental data provided. This article discusses the key mechanisms that regulate glutathione biosynthesis, such as the expression of glutamate-cysteine ligase genes, and also indicates the role of the Keap1 /Nrf2/ARE system in this regulation under physiological conditions. Posttranslational modification of glutamate-cysteine ligase is carried out by phosphorylation, myristoylation, caspase-mediated cleavage, since it is a heterodimeric protein consisting of modifying and catalytic subunits. The availability of precursors for the synthesis of glutathione, primarily the sulfur-containing amino acid cysteine, as well as glutamic acid and proline, and, in addition, cofactors necessary for the work of enzymes, plays an essential role. Violation of the regulation of glutathione synthesis contributes to the pathogenesis of many pathological conditions. These include diabetes mellitus, fibrosis of the lungs and liver, alcoholic liver disease, cholestatic liver damage, endotoxemia and drug-resistant tumor cells.

Keywords: glutathione, glutamate-cysteine ligase, GSH synthesis, redox homeostasis.

Введение

Глутатион (GSH) – низкомолекулярный небелковый водорастворимый тиол, который присутствует практически во всех клетках. Он синтезируется в цитозоле и транспортируется в другие субклеточные органеллы, включая митохондрии, эндоплазматический ретикулум и ядро, где находится преимущественно в восстановленной форме. GSH играет важную роль в детоксикации пероксида водорода, утилизации витаминов С и Е, хранении цистеина и других биохимических реакциях. Окислительный стресс ускоряет скорость превращения восстановленного глутатиона (GSH) в окисленный (GSSG), тем самым, уменьшая соотношение GSH/GSSG. Такой сдвиг оказывает существенное влияние на клеточную передачу сигналов, поддержание тиол-дисульфидного равновесия и пролиферацию клеток. Изменения в гомеостазе GSH связаны с белковой недостаточностью, онкологическими заболеваниями, болезнями Альцгеймера и Паркинсона, СПИД, заболеваниями печени и сердца, старением, сахарным диабетом и ожирением [1].

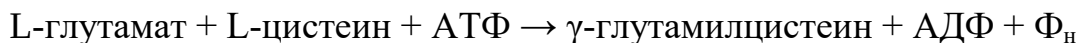
Синтез и катаболизм GSH происходят при участии регулируемых мембранно-связанных ферментов, которые все вместе называют γ -глутамильным циклом. GSH синтезируется во всех клетках высших эукариот, хотя скорость его синтеза и оборота, а также внутриклеточные концентрации различаются в различных клетках и тканях [2-4].

Ключевыми факторами синтеза GSH являются доступность аминокислот, участвующих в его синтезе, в частности цистеина, и активность фермента глутамат-цистеинлигазы (GCL), ограничивающего скорость синтеза. [2-4].

Синтез глутатиона протекает в две стадии. Он является энергетически зависимым процессом при участии ионов Mg^{2+} , при котором расходуется две молекулы АТФ. Первым и ограничивающим скорость этапом является образование γ -глутамилцистеина (γ -GluCys) при участии фермента глутамат-цистеинлигазы. Второй этап – лигирование глицина (Gly) с γ -GluCys, который катализируется глутатионсинтетазой (GSS) с образованием GSH.

Экспериментально было показано, что скорость синтеза GSH лимитируется только GCL.

Глутамат-цистеинлигаза (GCL) (EC 6.3.2.2), ранее известная как гамма-глутамилцистеинсинтетаза, является первым ферментом синтеза клеточного глутатиона (GSH), который катализирует химическую реакцию:



Активность глутамат-цистеинлигазы в клетке ограничивает скорость биосинтеза глутатиона и регулируется различными механизмами [5, 6]:

- 1) Транскрипционная регуляция каталитических (GCLC) и регуляторных (GCLM) субъединиц фермента.
- 2) Обратимое образование голофермента GCL.
- 3) Доступность субстратов (Glu, Cys, Gly) и кофакторов (АТФ, Mg^{2+}).
- 4) Ингибирование активности GCLC.
- 5) Активация GCL.
- 6) Каспаз-опосредованное расщепление GCLC.
- 7) Миристоилирование 13-кДа С-концевого фрагмента GCLC, расщепленного каспазой, и/или изменение субклеточной локализации.

Глутамат-цистеинлигаза состоящая из легкой модулярной (GCLM) и тяжелой каталитической (GCLC) субъединиц, представляя собой димер.

Каталитическая субъединица (GCLC) имеет молекулярную массу около 73 кДа и состоит из 637 аминокислот. В своей структуре содержит активный участок, ответственный за образование АТФ-зависимой связи между аминокислотой цистеина и γ -карбоксильной группой глутамата.

Регуляторная субъединица-модификатор (GCLM) имеет молекулярную массу около 31 кДа и состоит из 274 аминокислот. При взаимодействии с каталитической субъединицей она понижает K_m для глутамата и АТФ и увеличивает K_i для ингибирования обратной связи GSH.

Каждая из субъединиц GCLC и GCLM экспрессируются генами, расположенными на разных хромосомах (6p12 и 1p22.1 для GCLC и GCLM, соответственно). У человека ген GCLC состоит из 16 экзонов и охватывает

приблизительно 48 тыс. п.н. последовательности ДНК, тогда как GCLM состоит из 7 экзонов протяженностью более 22 тыс.п.н. Каждый из этих генов обеспечивает редокс-регуляцию, так как содержит антиоксидант-электрофилреспонсивный элемент (ARE). Кодированные области этих генов высоко консервативны у эукариот, демонстрируя лишь небольшие различия в аминокислотной последовательности различных видов млекопитающих [7, 8].

Семейства транскрипционных факторов Nrf2, а также AP1, AP3, NFκB, белки семейства Maf, JunD, Fra, CREB при взаимодействии с промоторами этих генов участвуют в медленной регуляции каталитических и регуляторных субъединиц GCL, активируя или подавляя транскрипцию генов и/или стабильность мРНК [5].

Роль редокс-чувствительной сигнальной системы KEAP1/NRF2/ARE в механизмах регуляции GCL

Ведущую роль в поддержании клеточного гомеостаза в условиях стресса, а также в воспалительных, канцерогенных и проапоптотических условиях играет редокс-чувствительная сигнальная система Keap1/Nrf2/ARE [9]. Это система, регулируя внутриклеточный редокс-баланс обеспечивает активность редокс-чувствительных факторов транскрипции и метаболических процессов с участием киназ и фосфатаз.

Система Keap1/Nrf2/ARE контролирует две большие группы генов:

1) ферменты участвующие во II фазе детоксикации ксенобиотиков – глутатион-S-трансферазы А, М, Р, УДФ-глюкуронозилтрансферазы А и В, NAD(P)H: хиноноксидоредуктаза-1 и др. [10-12].

2) ферменты антиоксидантной защиты – глутамат-цистеинлигаза, гемоксигеназа-1, глутатионпероксидаза-2, тиоредоксинредуктаза, глутатионредуктаза и др.

Гены, содержащие в своих промоторах антиоксидант-респонсивный элемент ARE [13] регулируются фактором транскрипции Nrf2 (nuclear factor erythroid 2) путем экспрессии, который в клетках находится под постоянным контролем репрессорного белка Keap1 (Kelch-like ECH-associated protein 1).

Keap1 является белком, участвующим в регуляции и поддержании внутриклеточного гомеостаза.

Это позволило объединить все элементы в единую редокс-чувствительную сигнальную систему Keap1/Nrf2/ARE [11-14] где ключевым моментом является активация Nrf2 за счет изменения его стабильности на посттрансляционном уровне.

Nrf2 является короткоживущим белком (время его полужизни ($t_{1/2}$) в HepG2-клетках человека составляет 15 минут). В отсутствие активаторов его стабильность в клетках определяется убиквитинированием лизиновых остатков Nrf2 под действием Keap1, что приводит к последующей деградации его в 26S-протеасомах [12,15,16].

Nrf2 взаимодействует с Cullin-3-содержащим убиквитин-лигазным комплексом E3 (Cul3-E3-лигаза) под действием Keap1 и совместно с Rbx1(RING-box protein 1) формируют каталитический центр ферментативного комплекса, который с E2-убиквитинлигазой приводят к переносу убиквитина на Nrf2. К убиквитинированию Nrf2 приводит и его фосфорилирование киназой GSK-3 (glycogensynthasekinase 3) [17, 18].

Процессы окислительной/электрофильной модификации сульфгидрильных групп остатков цистеина Keap1 играют ключевую роль в снятии репрессии транскрипционного фактора Nrf2 [19].

Белки Keap1 в цитоплазме связывают одну молекулу Nrf2 в составе Neh2 Keap1-связывающего домена транскрипционного фактора Nrf2 и двух последовательностей с высокой «ETGE» и низкой «DLG» аффинностью к ингибитору, формируют гомодимер. Это приводит к синтезу в клетке новых молекул Nrf2, которые связываясь с Keap1 подвергаются постоянному убиквитинированию и протеасомной деградации, поэтому, в физиологических условиях концентрация свободного Nrf2 невелика. Белок Keap1 изменяет конформацию в результате модификации цистеиновых остатков и, тем самым, теряет сродство к низко аффинному модулятору DLG, и повышает сродство к высоко аффинному модулятору ETGE. Вследствие этого происходит

нарушение убиквитинирования Nrf2 и его протеасомная деградация (но не ассоциации с Keap1). Содержание свободного Nrf2 увеличивается и время его существования в клетках возрастает до 100- 200 минут за счет насыщения пула молекул ингибитора [11, 20, 21].

Большое содержание сериновых, треониновых и тирозиновых аминокислотных остатков в составе транскрипционного фактора Nrf2, служит мишенью для фосфорилирования различными протеинкиназами: PI3K (phosphoinositide 3-kinases), PERK (pancreatic eIF-2 α -related endoplasmic reticulum kinase), PKC (protein kinase C), JNK (c-Jun N-terminal kinases), p38 MAPK (p38 mitogen-activated protein kinases), ERK (extracellular signal-regulated kinase), GSK-3 β (glycogen synthase kinase 3 β) [11;22].

PKC фосфорилируя Nrf2 по остатку серина, приводит к ослаблению его взаимодействия с Keap1 и повышению стабильности, однако не влияет на транспорт в ядро и связывание с ARE [11, 23]. Изменение активности митоген-активируемых протеинкиназ ERK, JNK и p38 приводит к самым разным эффектам – от ее многократного усиления в зависимости от условий эксперимента до полной отмены индукции системы Keap1/Nrf2/ARE [10].

Если накопление Nrf2 в ядре происходит преимущественно в результате фосфорилирования PKC и MAP-киназами, то фосфорилирование тирозинового остатка T568 Fyn-киназой сопровождается повышенной деградацией Nrf2 и его экспортом из ядра [11, 24].

Обращает на себя внимание особенность функционирования сигнальной системы Keap1/ Nrf2/ARE. В промоторе гена Nrf2 установлено наличие последовательностей ARE и показана способность транскрипционного фактора активировать синтез собственной мРНК, в результате чего происходит ауторегуляторное усиление Nrf2-зависимого пути передачи сигнала [19]. Также способствует самоусилению процесса активации наличие сайтов ARE в промоторах генов семейства белков Maf (musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene), выступающих ко-активаторами Nrf2. Другой особенностью является присутствие ARE в промоторах генов ингибиторного белка Keap1 и

компонентов убиквитин-лигазного комплекса Cul3-E3-лигазы, что приводит к отрицательной обратной регуляции данного сигнального каскада. Третьей особенностью является феномен гормезиса: зачастую один и тот же индуктор в высоких концентрациях снижает экспрессию ARE-регулируемых генов, а в низких – повышает [11]. Такая зависимость от индуцирующих воздействий вполне оправдана, поскольку гиперактивация Nrf2 чревата негативными последствиями для организма. Так мыши, нокаутуемые по Keap1, погибают в постнатальном периоде в первые 20 дней вследствие выраженного гиперкератоза желудка и пищевода [9].

Обратимое образование голофермента GCL

Редокс-чувствительный механизм, зависит от молярных отношений субъединиц GCL (GCLM обычно ограничивает), обеспечивая стабильность субъединиц.

Имеются данные, что синтез двух субъединиц GCL регулируется диспропорционально, это приводит к изменению соотношения GCLC и GCLM субъединиц в клетке [25]. При физиологических условиях содержание каталитической субъединицы в 4 раза больше, чем модулярной. GCLC существует главным образом в виде мономера, с максимумом 20-30% в качестве голофермента GCL в печени крыс. В связи с этим изменение уровня GCLM оказывает большее влияние на активность GCL и продукцию GSH *in vivo*, чем эквимоллярное увеличение уровня GCLC.

По литературным данным [1], отношение GCLM/GCLC увеличивается в условиях ограничения цистеина. При окислительном стрессе наблюдается снижение отношения GCLM/GCLC в клетках, которое, свою очередь, регулируется разными механизмами.

Основным механизмом регуляции активности GCL в ответ на доступность цистеина является экспрессия GCLM и отношение GCLM/GCLC, в то время как основным механизмом реакции клетки на окислительный или химический стресс является изменение активности транскрипции GCLC.

Важным регуляторным механизмом в нормальных физиологических условиях является изменение активности GCL путем повышения уровня GCLM, а это в свою очередь увеличивает K_i для GSH и k_{cat} фермента, что в физиологических условиях активирует синтез GSH посредством GCL.

Инсулин и глюкокортикоиды, туморнекротизирующий фактор- α (ТНФ- α) и интерлейкин- 1β индуцируют транскрипцию GCLC. В астроцитах гормоны щитовидной железы активируют мРНК обеих субъединиц, что приводит к синтезу GSH.

Доступность субстратов (Glu, Cys, Gly) и кофакторов (АТФ, Mg^{2+})

Биосинтез GSH требует достаточного количества глутамата, цистеина и глицина для поддержания его соответствующего уровня. Доступность этих предшественников отражает общий метаболический статус клетки.

Основным источником цистеина являются продукты питания, однако на 60 – 70% он может синтезироваться из метионина [26] в печени в результате транссульфирования.

Этот путь особенно активен в гепатоцитах, но вне печени он либо отсутствует, либо присутствует на очень низких уровнях. Активность транссульфирования в печени заметно нарушена или отсутствует у плода и новорожденного ребенка, а также у пациентов с ее циррозом [27]. Один из механизмов связан с уменьшением доступности кофактора (например, витаминов группы В). Кроме того, у пациентов с циррозом печени также снижается активность метионин-аденозилтрансферазы и уменьшается биосинтез S-аденозилметионина, что так же способствует снижению уровня GSH.

Высокие концентрации цистеина в клетке токсичны, повышение его концентрации выше 0,02-0,2 мМ, приводит к активации фермента цистеиндиоксигеназы, который участвует в его окислении. Напротив, при дефиците цистеина цистеиндиоксигеназа убиквинируется и деградирует [28].

Цистин преобладает во внеклеточной жидкости, напротив – цистеин в клетке. НАДФ-цистинредуктаза, α -липоат, кверцетин и некоторые витамины

восстанавливают цистин, что приводит к увеличению концентрации GSH в печени.

Поскольку глутамат и глицин являются нейротрансмиттерами, а цистеин в высоких концентрациях токсичен для нейронов, то внеклеточная доступность этих аминокислот в мозге ограничена. Таким образом, синтез GSH в клетках головного мозга зависит от их способности поглощать подходящие внеклеточные предшественники GSH или синтезировать достаточное количество субстратов.

Поглощение и метаболизм предшественников GSH различаются для разных типов клеток. В отличие от нейронов, астроциты могут использовать широкий спектр аминокислот и пептидов, которые связываются соответствующими транспортерами и впоследствии превращаются в субстраты для GCL и GS при синтезе GSH. В нейронах наличие цистеина ограничивает синтез GSH. Эти клетки не используют внеклеточный цистин в качестве источника цистеина при метаболизме GSH и используют глутамин как лучший внеклеточный предшественник для глутаматной части GSH. Напротив, астроциты предпочитают глутамат и цистин в качестве внеклеточных предшественников GSH. Это дифференциальное предпочтение внеклеточных предшественников GSH предотвращает конкуренцию между нейронами и астроцитами. Однако, поскольку нейроны нуждаются в цистеине для синтеза GSH, то эти клетки зависят от синтеза GSH и поступления цистеина или предшественника цистеина из соседних астроцитов.

Ингибирование активности GCLC: регуляция отрицательной обратной связи с помощью GSH, аутофосфорилирование и киназоопосредованное фосфорилирование GCLC

У человека существует дополнительная посттрансляционная модификация GCL. Гормон-опосредованное фосфорилирование GCL в печени крысы приводит к умеренному, но значительному снижению ферментативной активности и, соответственно, снижению уровня глутатиона. Было показано, что протеинкиназа A, протеинкиназа C и Ca^{2+} /кальмодулин-зависимая киназа II

могут фосфорилировать каждую каталитическую субъединицу GCL *in vitro*, что приводит к снижению $V_{\max}$ приблизительно на 20% [29]. Хотя точные сайты фосфорилирования не были идентифицированы, авторы предположили, что Thr 132, Thr 188, Ser 331, Thr 506, Ser 567 и Ser 591 являются потенциальными сайтами-мишенями Ca^{2+} /кальмодулин-зависимой киназы II [30]. Прямая идентификация специфических сайтов фосфорилирования не была проведена для установления биологической значимости фосфорилирования, учитывая умеренное снижение ферментативной активности.

В физиологических условиях GCL конкурентно (с глутаматом) ингибируется GSH ($K_i = 2,3 \text{ mM}$) по типу обратной связи. GSH конкурирует с глутаматом, и считается, что уменьшение межсубъединичной дисульфидной связи приводит к конформационному изменению, которое влияет на доступность сайта связывания субстрата. Однако GSH не вызывает диссоциации субъединиц даже при высоких его концентрациях (5-10 mM). Фракция GCL-голофермента, образующаяся в ответ на снижение уровня цистеина в клетке, также устойчива к восстановлению и тепловой денатурации [25;31].

Имеются данные о гликировании GCLM и GCLC, и было показано, что эта посттрансляционная модификация влияет на образование гетеродимера, с умеренным влиянием на кинетические константы [32]. Предварительная обработка отдельных субъединиц 2-дезоксид-Д-рибозой в качестве химического модификатора нарушала образование гетеродимера, однако, обработка голофермента не оказала заметного влияния на олигомерное состояние. Длительная инкубация (до 24 ч) с 30 mM 2-дезоксид-Д-рибозой приводила к снижению активности только для GCLC и комплекса с голоферментом, не оказывая значительного влияния на значения K_m для каждого субстрата.

Эти результаты показывают, что гликирование инактивирует фермент напрямую, но это снижение активности растянуто во времени. Попытки идентифицировать сайты модификации с использованием рекомбинантного белка были безуспешными, поэтому трудно придать функциональное значение

этому наблюдению. Cys 553 ранее участвовал в образовании комплекса GCL, и модификация тиола в этой позиции может быть важным способом регуляции [33]. Однако прямых доказательств модификации на Cys 553 в физиологически значимых условиях не было показано.

Активация GCL: окислительный стресс, NADPH (активация или ингибирование)

Субъединицы GCL часто координированно индуцируются в ответ на окислительный стресс, но различные механизмы транскрипции и посттранскрипции опосредуют их различные скорости и уровни индукции. Это связано с различными механизмами транскрипции и приводят к усилению трансляции белка, однако лишь GCLM субъединица ограничивает образование голоэнзима GCL в большинстве типов клеток и тканей [34].

Активность GCL также можно быстро регулировать путем посттрансляционной модификации ранее существовавшего белка GCLC и/или белка GCLM. Быстрый временной ход активации GCL (10 минут-1 час) и неспособность *de novo* ингибировать синтез белка для предотвращения активности GCL, индуцированной менадионом или H_2O_2 , также исключают участие повышенной экспрессии белка субъединицы GCL в этих ответах [35].

Окислительный стресс, по-видимому, усиливает клеточную активность GCL посредством прямой посттрансляционной модификации одной или обеих субъединиц GCL, в дополнение к транскрипционной регуляции экспрессии субъединиц GCL. Отмечено стимулирующее действие NADPH в виде увеличения V_{max} без заметного изменения сродства к субстрату GCL *in vitro*, в то время как окисленный $NADP^+$ подавлял активность GCL. NAD^+ и NADH не влияли на активность GCL. В каталитической субъединице нет четких сайтов связывания NADPH. Поиск BLAST с использованием последовательностей GCLM человека или мыши выявил некоторую гомологию с несколькими членами семейства альдо-кеторедуктазы (AKR) [36]. NADPH не изменял активность мономерного GCLC или GCL-голофермента и даже подавлял активность GCL при более высоких концентрациях. Эти данные

свидетельствуют о том, что либо, эффекты NADPH являются видоспецифичными, либо вызванная NADPH активация GCL обусловлена косвенным воздействием на фактор, который влияет на активность GCL [37].

Каспаз-опосредованное расщепление GCLC

В условиях апоптоза как GCLC-расщепление, так и GSH-истощение являются каспазо-зависимыми (z-VAD-fmk-ингибируемыми), однако при дефиците каспазы 3 снижение уровня GSH может происходить и без деградации GCLC в клетке. Сама каспаза-3 способна расщеплять каталитическую субъединицу GCL на фрагменты массой 60 кДа и 13 кДа, и эта модификация также может приводить к снижению клеточного уровня GSH.

Было высказано предположение, что расщепление GCLC ингибирует активность GCL и предотвращает восполнение истощенных клеточных пулов GSH при апоптозе, однако экспериментально это не было подтверждено. Сообщалось о каспаз-зависимом расщеплении GCLC в ответ на множественные апоптотические стимулы. Однако расщепление GCLC не привело к значительному снижению активности GCL во время апоптотической гибели клеток [38].

При исследовании *in vitro* было показано, что расщепленный GCLC сохраняет полную ферментативную активность, поскольку расщепление GCLC не влияет на его способность связываться с GCLM и формировать полностью функциональный голофермент GCL. В этом отношении расщепление GCLC не влияет на V_{max} или K_m для глутамата, цистеина или АТФ [Ошибка! Источник ссылки не найден.].

Миристоилирование 13-КДА С-концевого фрагмента GCLC, расщепленного каспазой и/или изменение субклеточной локализации

N-миристоилтрансфераза – фермент катализирующий присоединение миристиновой кислоты по α -аминогруппе глицина с образованием пептидной связи. Эта необратимая белковая модификация протекает во время синтеза белка. N-миристоилированию подвергаются белки начинающиеся с Met-Gly. Миристоилирование проапоптотического Bcl-2 белка, содержащего только

домен BH3 (Bid-белок) приводит к выходу цитохрома с из митохондрии что, в конечном счёте, приводит к апоптозу [40].

Регуляция синтеза GSH-синтазы (GS)

В отличие от GCL, GS не имеет соответствующей регуляторной субъединицы. Кроме того, не приводится подтвержденных сообщений о посттрансляционной модификации GS, оказывающей какое-либо влияние на ферментативную активность [41].

Дефицит GS у человека может привести к серьезным метаболическим нарушениям, поскольку накопленный γ -глутамилцистеин превращается в 5-оксопролин, высокая концентрация которого может вызывать тяжелый метаболический ацидоз, гемолитическую анемию и повреждения центральной нервной системы.

Однако существуют данные, что транс-ретиноевая кислота (ATRA) индуцирует селективную экспрессию GS (не влияя на GCLC или GCLM) и уровни GSH в миелоидных клетках-супрессорах [42].

Choi et al. [Ошибка! Источник ссылки не найден.] описали уменьшение уровня GSH в ткани печени в результате снижения активности GS без изменения активности GCL после хирургической травмы скелетной мышцы человека. Несмотря на то, что удельная активность GS обычно в 2-4 раза выше активности GCL в нормальной печени, в других тканях и в стрессовых условиях это может быть не так. Фактически, в нормальных скелетных мышцах человека удельная активность GS только на 36% выше, чем у GCL. Хирургическая травма избирательно снижала активность GS, что, вероятно, стало причиной ограничения скорости синтеза глутатиона [44].

Заключение

Поддержание надлежащего уровня GSH, скорости его оборота и состояния окисления важны для ряда критических функций клеток. Нарушения этих процессов наблюдаются при многих патологических состояниях у человека. Дефицит GSH в значительной степени проявляется выраженными нарушениями метаболизма при окислительном стрессе. Считается, что

полученные нарушения являются основными факторами в возникновении и прогрессировании многих патологических состояний. И наоборот, повышенное содержание GSH обычно увеличивает антиоксидантную способность и устойчивость к окислительному стрессу, что ярко выражено во многих типах злокачественных клеток.

В настоящее время изменения уровня GSH или степени его окисления показаны в патофизиологических механизмах развития большого числа заболеваний человека. Хотя эти изменения, вероятно, происходят в результате прогрессирования основного заболевания или связаны с началом и/или его развитием.

GSH участвует в критических клеточных сигнальных путях, которые регулируются S-глутатионилированием и/или с помощью окислительно-восстановительного статуса тиоловых групп. GSH, функционируя в качестве нейротрансмиттера или нейромодулятора, может обеспечивать новое понимание возможной зависимости прогрессирования заболевания от содержания GSH. Физиологически адекватное редокс-состояние клетки при фармакологическом воздействии, способно обеспечить восстановление работы рецепторов, устранить типовые нарушения взаимодействий клеток, позволить собственным системам нормализации гомеостаза устранить нарушения и использовать минимальные терапевтически достаточные дозы препаратов и оптимальные курсы лечения [45].

Финансирование

Работа выполнена по инициативе авторов без привлечения финансирования.

Соблюдение этических стандартов

Настоящая статья не содержит описания выполненных авторами исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с содержанием настоящей статьи.

Список литературы

1. Liu Y., Hyde A. S., Simpson M. A., et al. Emerging regulatory paradigms in glutathione metabolism. *Advances in Cancer Research*. 2014; 122: 69-101. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-420117-0.00002-5>
2. Meister A. On the enzymology of amino acid transport. *Science*. 1973; 180(4081): 33-39. <https://doi.org/10.1126/science.180.4081.33>
3. Meister A. The γ -glutamyl cycle. *Annals of Internal Medicine*. 1974; 81(2): 247. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-81-2-247>
4. Meister A., Anderson M. E. Glutathione. *Annual Review of Biochemistry*. 1983; 52(1): 711-760. <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.52.070183.003431>
5. Lu S. Glutathione synthesis. *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*. 2013; 1830(5): 3143-3153. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2012.09.008>
6. Franklin C. C., Backos D. S., Mohar I., et al. Structure, function, and post-translational regulation of the catalytic and modifier subunits of glutamate cysteine ligase. *Molecular Aspects of Medicine*. 2009; 30(1-2): 86-98. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2008.08.009>
7. Backos D. S., Fritz K. S., Roede J. R., et al. Posttranslational modification and regulation of glutamate–cysteine ligase by the α,β -unsaturated aldehyde 4-hydroxy-2-nonenal. *Free Radical Biology and Medicine*. 2011; 50(1): 14-26. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.10.694>
8. Walsh A., Li W., Rosen D., et al. Genetic mapping of GLCLC, the human gene encoding the catalytic subunit of γ -glutamylcysteine synthetase, to chromosome band 6p12 and characterization of a polymorphic trinucleotide repeat within its 5' untranslated region. *Cytogenetic and Genome Research*. 1996; 75(1): 14-16. <https://doi.org/10.1159/000134447>

9. Tu W., Wang H., Li S., et al. The anti-inflammatory and anti-oxidant mechanisms of the KEAP1/nrf2/are signaling pathway in chronic diseases. *Aging and Disease*. 2019; 10(3): 637. <https://doi.org/10.14336/ad.2018.0513>
10. Kensler T. W., Wakabayashi N., Biswal S. Cell survival responses to environmental stresses via the KEAP1-nrf2-are pathway. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. 2007; 47(1): 89-116. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.46.120604.141046>
11. Зенков Н. К., Колпаков А. Р., Меньщикова Е. Б. Редокс-чувствительная система Keap1/Nrf2/ARE как фармакологическая мишень при сердечно-сосудистой патологии. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2015; 35(5): 5-25.
12. Иванов Д.О., Кашуро В.А., Невзорова Т.Г., и др. *Основные механизмы биотрансформации ксенобиотиков*. Санкт-Петербург, 2025.
13. Bai X., Chen Y., Hou X., et al. Emerging role of Nrf2 in chemoresistance by regulating drug-metabolizing enzymes and efflux transporters. *Drug Metabolism Reviews*. 2016; 48(4): 541-567. <https://doi.org/10.1080/03602532.2016.1197239>
14. Baird L., Dinkova-Kostova A. T. The cytoprotective role of the keap1–nrf2 pathway. *Archives of Toxicology*. 2011; 85(4): 241-272. <https://doi.org/10.1007/s00204-011-0674-5>
15. Komatsu M., Kurokawa H., Waguri S., et al. The selective autophagy substrate P62 activates the stress responsive transcription factor Nrf2 through inactivation of KEAP1. *Nature Cell Biology*. 2010; 12(3): 213-223. <https://doi.org/10.1038/ncb2021>
16. Tong Y., Zhang B., Fan Y., et al. Keap1–Nrf2 pathway: A promising target towards lung cancer prevention and therapeutics. *Chronic Diseases and Translational Medicine*. 2015; 1(3): 175-186. <https://doi.org/10.1016/j.cdtm.2015.09.002>

17. Magesh S., Chen Y., Hu L. Small molecule modulators of KEAP1-nrf2-are pathway as potential preventive and therapeutic agents. *Medicinal Research Reviews*. 2012; 32(4): 687-726. <https://doi.org/10.1002/med.21257>
18. Lu S. Regulation of glutathione synthesis. *Molecular Aspects of Medicine*. 2009; 30(1-2): 42-59. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2008.05.005>
19. Ткачев В.О., Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К. Механизм работы сигнальной системы Nrf2/Keap1/ARE. *Биохимия*. 2011; 76(4): 407-422. <https://doi.org/10.1134/s0006297911040031>
20. Brewer A. C., Murray T. V., Arno M., et al. Nox4 regulates Nrf2 and glutathione redox in cardiomyocytes in vivo. *Free Radical Biology and Medicine*. 2011; 51(1): 205-215. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.04.022>
21. Magesh S., Chen Y., Hu L. Small molecule modulators of KEAP1-nrf2-are pathway as potential preventive and therapeutic agents. *Medicinal Research Reviews*. 2012; 32(4): 687-726. <https://doi.org/10.1002/med.21257>
22. Costa G., Francisco V., C. Lopes M., T. et al. Intracellular signaling pathways modulated by phenolic compounds: Application for new anti-inflammatory drugs discovery. *Current Medicinal Chemistry*. 2012; 19(18): 2876-2900. <https://doi.org/10.2174/092986712800672049>
23. Bryan H. K., Olayanju A., Goldring C. E., et al. The Nrf2 cell defence pathway: KEAP1-dependent and-independent mechanisms of regulation. *Biochemical Pharmacology*. 2013; 85(6): 705-717. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2012.11.016>
24. Giudice A., Arra C., Turco M. C. Review of molecular mechanisms involved in the activation of the Nrf2-are signaling pathway by chemopreventive agents. In: Higgins, P. (eds) *Transcription Factors. Methods in Molecular Biology*. 2010; 647: 37-74. https://doi.org/10.1007/978-1-60761-738-9_3
25. Fraser J. A., Kansagra P., Kotecki C., et al. The modifier subunit of drosophila glutamate-cysteine ligase regulates catalytic activity by covalent and noncovalent interactions and influences glutathione homeostasis in vivo.

- Journal of Biological Chemistry*. 2003; 278(47): 46369-46377.
<https://doi.org/10.1074/jbc.m308035200>
26. Lu, S. C., Mato, J. M. S-adenosylmethionine in liver health, injury, and cancer. *Physiological Reviews*. 2012; 92(4): 1515-1542.
<https://doi.org/10.1152/physrev.00047.2011>
27. Иванова С.В., Кулёва С.А., Гумбатова Э.Д. и др. Желудочно-кишечные осложнения противоопухолевого лечения, проведенного в детском возрасте. *Педиатр* (Санкт-Петербург). 2015; 6(4): 56-61.
<https://doi.org/10.17816/ped6456-61>
28. Valdovinos-Flores C., Gonsebatt M. E. The role of amino acid transporters in GSH synthesis in the blood–brain barrier and Central Nervous System. *Neurochemistry International*. 2012; 61(3): 405-414.
<https://doi.org/10.1016/j.neuint.2012.05.019>
29. Sun W., Huang Z., & Lu S. Regulation of γ -glutamylcysteine synthetase by protein phosphorylation. *Biochemical Journal*. 1996; 320(1): 321-328.
<https://doi.org/10.1042/bj3200321>
30. Kelley L. A., Sternberg M. J. Protein structure prediction on the web: A case study using the phyre server. *Nature Protocols*. 2009; 4(3): 363-371.
<https://doi.org/10.1038/nprot.2009.2>
31. Krejsa C. M., Franklin C. C., White C. C., et al. Rapid activation of glutamate cysteine ligase following oxidative stress. *Journal of Biological Chemistry*. 2010; 285(21): 16116-16124. <https://doi.org/10.1074/jbc.m110.116210>
32. Backos D. S., Fritz K. S., McArthur D. G., et al. Glycation of glutamate cysteine ligase by 2-deoxy-D-ribose and its potential impact on chemoresistance in glioblastoma. *Neurochemical Research*. 2013; 38(9): 1838-1849. <https://doi.org/10.1007/s11064-013-1090-4>
33. Tu, Z., Anders, M. W. Identification of an important cysteine residue in human glutamate–cysteine ligase catalytic subunit by site-directed mutagenesis. *Biochemical Journal*. 1998; 336(3): 675-680.
<https://doi.org/10.1042/bj3360675>

34. Chen Y., Shertzer H. G., Schneider S. N., et al. Glutamate cysteine ligase catalysis. *Journal of Biological Chemistry*. 2005; 280(40): 33766-33774. <https://doi.org/10.1074/jbc.m504604200>
35. Ochi T. Menadione causes increases in the level of glutathione and in the activity of γ -glutamylcysteine synthetase in cultured Chinese hamster V79 cells. *Toxicology*. 1996; 112(1): 45-55. [https://doi.org/10.1016/0300-483x\(96\)03348-3](https://doi.org/10.1016/0300-483x(96)03348-3)
36. Soltaninassab S. R., Sekhar K. R., Meredith M. J., et al. Multi-faceted regulation of γ -glutamylcysteine Synthetase. *Journal of Cellular Physiology*. 2000; 182(2): 163-170. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-4652\(200002\)182:2<163::aid-jcp4>3.0.co;2-1](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-4652(200002)182:2<163::aid-jcp4>3.0.co;2-1)
37. Toroser D., Yarian C. S., Orr W. C., et al. Mechanisms of γ -glutamylcysteine ligase regulation. *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*. 2006; 1760(2): 233-244. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2005.10.010>
38. Franklin C. C., Krejsa C. M., Pierce R. H., et al. Caspase-3-dependent cleavage of the glutamate-L-cysteine ligase catalytic subunit during apoptotic cell death. *The American Journal of Pathology*. 2002; 160(5): 1887-1894. [https://doi.org/10.1016/s0002-9440\(10\)61135-2](https://doi.org/10.1016/s0002-9440(10)61135-2)
39. Zha J., Weiler S., Oh K. J., et al. Posttranslational N-myristoylation of bid as a molecular switch for targeting mitochondria and apoptosis. *Science*. 2000; 290(5497): 1761-1765. <https://doi.org/10.1126/science.290.5497.1761>
40. Yang Y., Chen Y., Johansson E., Schneider, S. N., et al. Interaction between the catalytic and modifier subunits of glutamate-cysteine ligase. *Biochemical Pharmacology*. 2007; 74(2): 372-381. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2007.02.003>
41. Brown T. R., Drummond M. L., Barelier S., et al. Aspartate 458 of human glutathione synthetase is important for Cooperativity and active site structure. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2011; 411(3): 536-542. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2011.06.166>

42. Нефедова Ю., Фишман М., Шерман С., и др. Механизм действия полностью транс-ретиноевой кислоты на опухолевые миелоидные супрессорные клетки. *Исследования рака*. 2007; 67(22): 11021-11028. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-07-2593>
43. Choi J., Liu R., Kundu R. K., et al. Molecular mechanism of decreased glutathione content in Human immunodeficiency virus type 1 TAT-transgenic mice. *Journal of Biological Chemistry*. 2000; 275(5): 3693-3698. <https://doi.org/10.1074/jbc.275.5.3693>
44. Luo, J., Hammarqvist, F., Andersson, K., et al. Surgical trauma decreases glutathione synthetic capacity in human skeletal muscle tissue. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 1998; 275(2): 302-311. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.1998.275.2.e359>
45. Антонов В.Г., Кашуро В.А. Регуляция редокс-статуса – биохимическая основа создания низкодозовых лекарств. *Медлайн.Ру*. 2025; 26:346-365

References

1. Liu Y., Hyde A. S., Simpson M. A., et al. Emerging regulatory paradigms in glutathione metabolism. *Advances in Cancer Research*. 2014; 122: 69-101. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-420117-0.00002-5>
2. Meister A. On the enzymology of amino acid transport. *Science*. 1973; 180(4081): 33-39. <https://doi.org/10.1126/science.180.4081.33>
3. Meister A. The γ -glutamyl cycle. *Annals of Internal Medicine*. 1974; 81(2): 247. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-81-2-247>
4. Meister A., Anderson M. E. Glutathione. *Annual Review of Biochemistry*. 1983; 52(1): 711-760. <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.52.070183.003431>
5. Lu S. Glutathione synthesis. *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*. 2013; 1830(5): 3143-3153. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2012.09.008>
6. Franklin C. C., Backos D. S., Mohar I., et al. Structure, function, and post-translational regulation of the catalytic and modifier subunits of glutamate

- cysteine ligase. *Molecular Aspects of Medicine*. 2009; 30(1-2): 86-98.
<https://doi.org/10.1016/j.mam.2008.08.009>
7. Backos D. S., Fritz K. S., Roede J. R., et al. Posttranslational modification and regulation of glutamate–cysteine ligase by the α,β -unsaturated aldehyde 4-hydroxy-2-nonenal. *Free Radical Biology and Medicine*. 2011; 50(1): 14-26.
<https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.10.694>
8. Walsh A., Li W., Rosen D., et al. Genetic mapping of GLCLC, the human gene encoding the catalytic subunit of γ -glutamylcysteine synthetase, to chromosome band 6p12 and characterization of a polymorphic trinucleotide repeat within its 5' untranslated region. *Cytogenetic and Genome Research*. 1996; 75(1): 14-16. <https://doi.org/10.1159/000134447>
9. Tu W., Wang H., Li S., et al. The anti-inflammatory and anti-oxidant mechanisms of the KEAP1/nrf2/are signaling pathway in chronic diseases. *Aging and Disease*. 2019; 10(3): 637. <https://doi.org/10.14336/ad.2018.0513>
10. Kensler T. W., Wakabayashi N., Biswal S. Cell survival responses to environmental stresses via the KEAP1-nrf2-are pathway. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. 2007; 47(1): 89-116.
<https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.46.120604.141046>
11. Zenkov, N. K., Kolpakov, A. R., and Menshchikova, E. B. The Keap1/Nrf2/ARE redox-sensitive system as a pharmacological target in cardiovascular disease. *Siberian Scientific Medical Journal*. 2015; 35(5): 5-25. (In Russian)
12. Ivanov D.O., Kashuro V.A., Nevzorova T.G., et al. *Basic mechanisms of xenobiotic biotransformation*. St. Petersburg, 2025.
13. Bai X., Chen Y., Hou X., et al. Emerging role of Nrf2 in chemoresistance by regulating drug-metabolizing enzymes and efflux transporters. *Drug Metabolism Reviews*. 2016; 48(4): 541-567.
<https://doi.org/10.1080/03602532.2016.1197239>

14. Baird L., Dinkova-Kostova A. T. The cytoprotective role of the keap1–nrf2 pathway. *Archives of Toxicology*. 2011; 85(4): 241-272. <https://doi.org/10.1007/s00204-011-0674-5>
15. Komatsu M., Kurokawa H., Waguri S., et al. The selective autophagy substrate P62 activates the stress responsive transcription factor Nrf2 through inactivation of KEAP1. *Nature Cell Biology*. 2010; 12(3): 213-223. <https://doi.org/10.1038/ncb2021>
16. Tong Y., Zhang B., Fan Y., et al. Keap1–Nrf2 pathway: A promising target towards lung cancer prevention and therapeutics. *Chronic Diseases and Translational Medicine*. 2015; 1(3): 175-186. <https://doi.org/10.1016/j.cdtm.2015.09.002>
17. Magesh S., Chen Y., Hu L. Small molecule modulators of KEAP1-nrf2-are pathway as potential preventive and therapeutic agents. *Medicinal Research Reviews*. 2012; 32(4): 687-726. <https://doi.org/10.1002/med.21257>
18. Lu S. Regulation of glutathione synthesis. *Molecular Aspects of Medicine*. 2009; 30(1-2): 42-59. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2008.05.005>
19. Tkachev V.O., Menshchikova E.B., Zenkov N.K. The mechanism of action of the Nrf2/Keap1/ARE signaling system. *Biochemistry*. 2011; 76(4): 407-422. (In Russian). <https://doi.org/10.1134/s0006297911040031>
20. Brewer A. C., Murray T. V., Arno M., et al. Nox4 regulates Nrf2 and glutathione redox in cardiomyocytes in vivo. *Free Radical Biology and Medicine*. 2011; 51(1): 205-215. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.04.022>
21. Magesh S., Chen Y., Hu L. Small molecule modulators of KEAP1-nrf2-are pathway as potential preventive and therapeutic agents. *Medicinal Research Reviews*. 2012; 32(4): 687-726. <https://doi.org/10.1002/med.21257>
22. Costa G., Francisco V., C. Lopes M., T. et al. Intracellular signaling pathways modulated by phenolic compounds: Application for new anti-inflammatory drugs discovery. *Current Medicinal Chemistry*. 2012; 19(18): 2876-2900. <https://doi.org/10.2174/092986712800672049>

23. Bryan H. K., Olayanju A., Goldring C. E., et al. The Nrf2 cell defence pathway: KEAP1-dependent and-independent mechanisms of regulation. *Biochemical Pharmacology*. 2013; 85(6): 705-717. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2012.11.016>
24. Giudice A., Arra C., Turco M. C. Review of molecular mechanisms involved in the activation of the Nrf2-are signaling pathway by chemopreventive agents. In: Higgins, P. (eds) *Transcription Factors. Methods in Molecular Biology*. 2010; 647: 37-74. https://doi.org/10.1007/978-1-60761-738-9_3
25. Fraser J. A., Kansagra P., Kotecki C., et al. The modifier subunit of drosophila glutamate-cysteine ligase regulates catalytic activity by covalent and noncovalent interactions and influences glutathione homeostasis in vivo. *Journal of Biological Chemistry*. 2003; 278(47): 46369-46377. <https://doi.org/10.1074/jbc.m308035200>
26. Lu, S. C., Mato, J. M. S-adenosylmethionine in liver health, injury, and cancer. *Physiological Reviews*. 2012; 92(4): 1515-1542. <https://doi.org/10.1152/physrev.00047.2011>
27. Ivanova S.V., Kuleva S.A., Gumbatova E.D., et al. Gastrointestinal complications of anticancer treatment administered during childhood. *Pediatr (St. Petersburg)*. 2015; 6(4): 56–61. (In Russian) <https://doi.org/10.17816/ped6456-61>
28. Valdovinos-Flores C., Gonsebatt M. E. The role of amino acid transporters in GSH synthesis in the blood–brain barrier and Central Nervous System. *Neurochemistry International*. 2012; 61(3): 405-414. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2012.05.019>
29. Sun W., Huang Z., & Lu S. Regulation of γ -glutamylcysteine synthetase by protein phosphorylation. *Biochemical Journal*. 1996; 320(1): 321-328. <https://doi.org/10.1042/bj3200321>
30. Kelley L. A., Sternberg M. J. Protein structure prediction on the web: A case study using the phyre server. *Nature Protocols*. 2009; 4(3): 363-371. <https://doi.org/10.1038/nprot.2009.2>

31. Krejsa C. M., Franklin C. C., White C. C., et al. Rapid activation of glutamate cysteine ligase following oxidative stress. *Journal of Biological Chemistry*. 2010; 285(21): 16116-16124. <https://doi.org/10.1074/jbc.m110.116210>
32. Backos D. S., Fritz K. S., McArthur D. G., et al. Glycation of glutamate cysteine ligase by 2-deoxy-D-ribose and its potential impact on chemoresistance in glioblastoma. *Neurochemical Research*. 2013; 38(9): 1838-1849. <https://doi.org/10.1007/s11064-013-1090-4>
33. Tu, Z., Anders, M. W. Identification of an important cysteine residue in human glutamate–cysteine ligase catalytic subunit by site-directed mutagenesis. *Biochemical Journal*. 1998; 336(3): 675-680. <https://doi.org/10.1042/bj3360675>
34. Chen Y., Shertzer H. G., Schneider S. N., et al. Glutamate cysteine ligase catalysis. *Journal of Biological Chemistry*. 2005; 280(40): 33766-33774. <https://doi.org/10.1074/jbc.m504604200>
35. Ochi T. Menadione causes increases in the level of glutathione and in the activity of γ -glutamylcysteine synthetase in cultured Chinese hamster V79 cells. *Toxicology*. 1996; 112(1): 45-55. [https://doi.org/10.1016/0300-483x\(96\)03348-3](https://doi.org/10.1016/0300-483x(96)03348-3)
36. Soltaninassab S. R., Sekhar K. R., Meredith M. J., et al. Multi-faceted regulation of γ -glutamylcysteine Synthetase. *Journal of Cellular Physiology*. 2000; 182(2): 163-170. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-4652\(200002\)182:2<163::aid-jcp4>3.0.co;2-1](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-4652(200002)182:2<163::aid-jcp4>3.0.co;2-1)
37. Toroser D., Yarian C. S., Orr W. C., et al. Mechanisms of γ -glutamylcysteine ligase regulation. *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*. 2006; 1760(2): 233-244. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2005.10.010>
38. Franklin C. C., Krejsa C. M., Pierce R. H., et al. Caspase-3-dependent cleavage of the glutamate-L-cysteine ligase catalytic subunit during apoptotic cell death. *The American Journal of Pathology*. 2002; 160(5): 1887-1894. [https://doi.org/10.1016/s0002-9440\(10\)61135-2](https://doi.org/10.1016/s0002-9440(10)61135-2)

39. Zha J., Weiler S., Oh K. J., et al. Posttranslational N-myristoylation of bid as a molecular switch for targeting mitochondria and apoptosis. *Science*. 2000; 290(5497): 1761-1765. <https://doi.org/10.1126/science.290.5497.1761>
40. Yang Y., Chen Y., Johansson E., Schneider, S. N., et al. Interaction between the catalytic and modifier subunits of glutamate-cysteine ligase. *Biochemical Pharmacology*. 2007; 74(2): 372-381. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2007.02.003>
41. Brown T. R., Drummond M. L., Barelier S., et al. Aspartate 458 of human glutathione synthetase is important for Cooperativity and active site structure. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2011; 411(3): 536-542. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2011.06.166>
42. Nefedova Y., Fishman M., Sherman S., et al. Mechanism of all-trans retinoic acid effect on tumor-associated myeloid-derived suppressor cells. *Cancer Research*. 2007; 67(22): 11021-11028. (In Russian) <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-07-2593>
43. Choi J., Liu R., Kundu R. K., et al. Molecular mechanism of decreased glutathione content in Human immunodeficiency virus type 1 TAT-transgenic mice. *Journal of Biological Chemistry*. 2000; 275(5): 3693-3698. <https://doi.org/10.1074/jbc.275.5.3693>
44. Luo, J., Hammarqvist, F., Andersson, K., et al. Surgical trauma decreases glutathione synthetic capacity in human skeletal muscle tissue. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 1998; 275(2): 302-311. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.1998.275.2.e359>
45. Antonov V.G., Kashuro V.A. Redox status regulation is the biochemical basis for the development of low-dosage medicints. *Medline.Ru*.2025; 26:346-365