

РОЛЬ РЕДОКС-ЗАВИСИМЫХ БЕЛКОВ В РЕАЛИЗАЦИИ РЕДОКС-РЕГУЛЯЦИИ КЛЕТОК

УДК 577.164.16

РЕДОКС-КАТАЛИТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КОБАЛАМИНОВ

© 2023 г. Ю. В. Шаталин^а, *, В. С. Шубина^а, М. Е. Соловьева^а, В. С. Акатов^а

^аИнститут теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук,
Пуццо, Московская обл., 142290 Россия

*e-mail: yury.shatalin@yandex.ru

Поступила в редакцию 03.05.2023 г.

После доработки 17.05.2023 г.

Принята к публикации 18.05.2023 г.

Витамин В12, или кобаламин, жизненно необходимый для функционирования организма, используется в терапии дефицитных состояний. Витамин В12 обладает противовоспалительными и антиоксидантными свойствами, что может играть важную роль в предотвращении ряда заболеваний. При этом в комбинации с такими восстановителями, как аскорбат (витамин С) и тиолы, витамин В12 проявляет прооксидантную активность. В представленном обзоре рассмотрена роль витамина В12 в патогенезе заболеваний, сопровождающихся воспалением и окислительным стрессом, а также влияние этого витамина в отдельности и в сочетании с различными восстановителями, такими как аскорбат и тиолы, на развитие окислительного стресса. Обсуждаются механизмы прооксидантного действия сочетаний разных форм кобаламина (цианокобаламин, гидроксокобаламин) с восстановителями, понимание которых необходимо для разработки стратегий применения В12 в медицине.

Ключевые слова: гидроксокобаламин, цианокобаламин, окисление тиолов, активные формы кислорода, цитотоксичность

DOI: 10.31857/S0026898423060174, **EDN:** QIFDSC

ВВЕДЕНИЕ

Витамином В12 называют группу структурно-близких соединений, известных также как кобаламины. В основе структуры этих комплексных соединений находится корриновый цикл и координационно связанный с ним ион кобальта. Метилкобаламин и аденозилкобаламин млекопитающих являются кофакторами таких метаболически важных ферментов, как метионинсинтаза и метилмалонил-КоА-мутаза соответственно. Цитозольная метионинсинтаза катализирует перенос метильной группы от N⁵-метилтетрагидрофолата на гомоцистеин с образованием метионина и тетрагидрофолата, который играет важную роль в метаболизме аминокислот и нуклеотидов. В частности, он участвует в синтезе пуринов и пиримидина тимина, необходимых для синтеза нуклеиновых кислот. Метилмалонил-КоА-мутаза — фермент митохондриального матрикса, катализирует важнейшую биохимическую реакцию в метаболизме аминокислот и жирных кислот — изомеризацию метилмалонил-КоА в сукцинил-КоА. Сукцинил-КоА, важный интермедиат цикла Кребса, является предшественником дельта-аминолевулиновой кислоты, необходимой для синтеза порфиринов и, соответственно, гемоглобина. Дефицит кобаламина способен приводить к возникновению различных патологических состояний, в том числе неврологических, психиат-

рических и гематологических. Идентифицированы генетические дефекты, приводящие к нарушению работы кобаламинзависимых ферментов, а также белков, участвующих в транспорте и метаболизме кобаламинов. При дефиците В12, а также при генетических заболеваниях с установленной В12-зависимой формой, необходимо проведение заместительной терапии. Недавно было установлено, что введение кобаламина может оказывать положительное влияние на организм при развитии некоторых воспалительных заболеваний, сопровождающихся развитием окислительного стресса [1–4], при которых наблюдается увеличение в плазме крови уровня транскобаламина (белка, транспортирующего кобаламин) и рецепторов, ответственных за его транспорт в клетки, что указывает на связь между кобаламином и ответом клеток на воспалительный процесс [5, 6]. С другой стороны, некоторые генетические заболевания, в частности метилмалоновая ацидемия и гомоцистинурия типа С (cblC), связаны с нарушениями метаболизма кобаламинов, которые приводят к развитию окислительного стресса [7]. Развитие окислительного стресса у больных cblC, по-видимому, может быть связано с присущей кобаламинам тиолоксидазной активностью, подавляемой в нормальных клеточных условиях [7]. Имеются также сведения о прооксидантной активности кобаламина в сочетании с такими восстановителями, как тиолы и аскорбат, о зависи-

мости этой активности от формы кобаламинов (цианокобаламин, гидроксокобаламин) [8]. Понимание механизмов прооксидантного действия витамина В12 необходимо для разработки стратегий его применения в терапии различных заболеваний, особенно в больших дозах. В нашем обзоре приведены сведения о роли витамина В12 в заболеваниях, связанных с воспалением и окислительным стрессом, о влиянии на окислительный стресс как самого витамина В12, так и его комбинаций с различными восстановителями, а также о механизмах прооксидантного действия сочетаний витамина В12 с восстановителями.

СТРУКТУРА КОБАЛАМИНОВ

Все формы витамина В12 представляют собой комплексы на основе корринового цикла, состоящего из четырех пиррольных групп, две из которых напрямую связаны друг с другом, а две другие соединены метиновыми мостиками (рис. 1). В центре корринового цикла координируется ион кобальта, связанный с четырьмя атомами азота в пиррольном кольце и способный формировать дополнительные связи на нижней и верхней поверхности корринового кольца (аксиальные положения). Образование координационной связи в этих положениях зависит от окислительно-восстановительного состояния иона кобальта, а также от окружающих условий. В восстановленном состоянии кобальт(I) в кобаламине имеет координационное число, равное 4, тогда как кобальт(II) и кобальт(III), преимущественно пяти- и шести-координированные, содержат в составе кобаламина один и два аксиальных лиганда соответственно. Нижнее аксиальное положение (α -положение) в кобаламине занято атомом азота 5,6-диметилбензимидазола (Vzm), ковалентно связанного с корриновым циклом. В зависимости от pH, температуры и окружения Vzm может диссоциировать. В соответствии с тем, формирует ли Vzm связь Co-N или нет, различают две конформации кобаламина, "base-on" и "base-off" соответственно. Верхнее аксиальное положение (β -положение) может быть занято цианидом (CN^-), водой (H_2O или HO^- в зависимости от pH), 5'-дезоксиаденозином или метильной группой, а также некоторыми другими лигандами.

В организме кобаламин находится преимущественно в форме метилкобаламина (MeCbl), аденозилкобаламина (AdoCbl) и гидроксокобаламина (HOCbl) [9]. Как уже упоминалось, MeCbl и AdoCbl являются кофакторами метионинсинтазы и метилмалонил-КоА-мутазы, соответственно, тогда как HOCbl – это промежуточный продукт, образующийся в ходе метаболизма кобаламинов. При физиологических значениях pH MeCbl и AdoCbl являются нейтральными соединениями, тогда как между формами HOCbl и H_2OCbl^+ в растворах устанавливается равновесие ($\text{p}K_a \approx 7.8$ [10]).

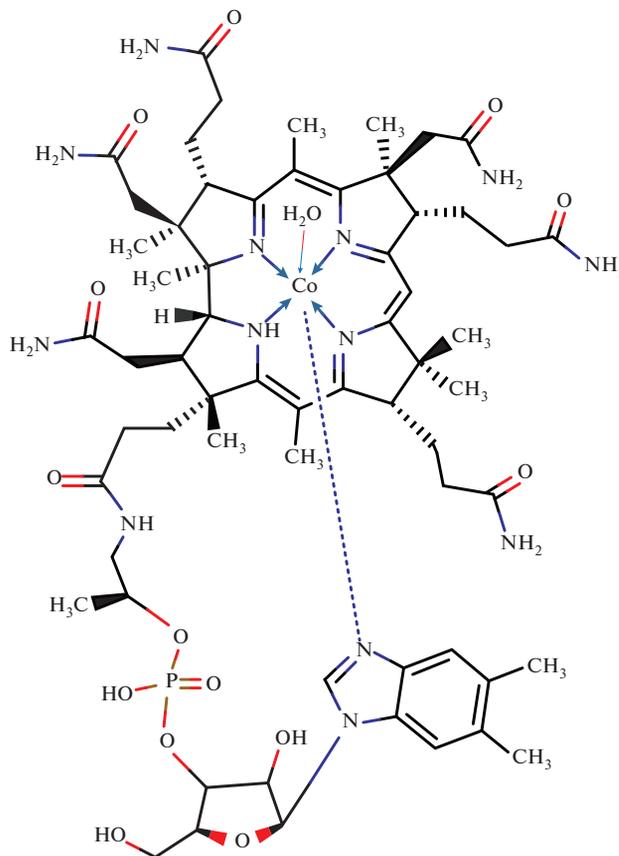


Рис. 1. Структура аквакобаламина.

Из этих соединений наиболее прочную связь с ионом кобальта формирует метильная группа в MeCbl, тогда как молекула воды в H_2OCbl^+ формирует самую слабую координационную связь и ее можно легко заместить другими лигандами [10–13]. Промежуточное соединение глутатионилкобаламин (GSCbl), образующееся в клетке, служит, вероятно, предшественником синтезируемых *de novo* мембраносвязанных MeCbl и AdoCbl [14–16]. Сообщается также о возможном формировании сульфиткобаламина (SO_3Cbl) в процессе метаболизма кобаламинов [11]. CNCbl является синтетической формой. Связь Co-CN чрезвычайно прочна. Константа связывания цианида с аквакобаламином составляет 10^{12} M^{-1} [17], что указывает на малую вероятность диссоциации иона цианида при взаимодействии свободного цианокобаламина с различными лигандами.

АБСОРБЦИЯ И ТРАНСПОРТ КОБАЛАМИНА

Витамин В12 содержится в продуктах животного происхождения, таких как печень, мясо, яйца и молоко, и полностью отсутствует в растениях. В желудке комплексы кобаламина с компонентами пищи разрушаются под действием пепсина и соляной кислоты, высвобождаемый при этом кобаламин связывается с одним из первых белков-пере-

носчиков – гаптокоррином. Этот белок вырабатывается слюнными железами и препятствует деградации кобаламина в желудочном соке, имеющем кислую реакцию [18, 19]. Попадая в двенадцатиперстную кишку, гаптокоррин деградирует, а В12 связывается с внутренним фактором (IF), или фактором Касла, синтезируемым париетальными клетками желудка. Далее комплекс IF-витамин В12 абсорбируется энтероцитами в терминальном отделе подвздошной кишки путем рецепторопосредованного эндоцитоза (кубам-рецептор). Здесь, в энтероцитах, комплекс попадает в лизосомы, где IF деградирует, а кобаламин выходит из лизосом. После этого кобаламин высвобождается через базолатеральную мембрану энтероцитов и попадает в кровоток. По всей видимости, этот процесс протекает при участии белка множественной лекарственной устойчивости-1 (MDR1) [11, 19]. В кровеносном русле кобаламин также находится в связанном состоянии. Около 20% кобаламина связываются с транскобаламином, белком, участвующим в переносе кобаламина по кровеносному руслу к клеткам и тканям организма [18, 20, 21], тогда как 80% кобаламина связываются с гаптокоррином. Примечательно, что данная фракция считается метаболически неактивной, рецепторы к гаптокоррину обнаружены только в печени.

ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ ТРАНСПОРТ И ОБРАЗОВАНИЕ КОФЕРМЕНТНЫХ ФОРМ

В клетки кобаламин попадает в составе комплекса с транскобаламином при участии рецепторов CD320. По всей видимости, существуют и другие рецепторы транскобаламина, однако на данный момент они еще не идентифицированы [18]. Попадая в лизосомы, транскобаламин деградирует, а кобаламин высвобождается в цитозоль с помощью мембраносвязанных транспортеров LMBD1 (ген *cbfF*) и ABCD4 (ген *cbfJ*). В цитозоле кобаламины связываются с цитозольным шапероном ММАСНС (белок метилмалоновой ацидурии и гомоцистинурии типа С), также называемым CblC (ген *cbfC*). ММАСНС опосредует деалкилирование AdoCbl и MeCbl, а также деацилирование CNCbl и удаление ОН-группы НОСbl. В процессе деалкилирования ММАСНС проявляет глутатионтрансферазную активность, катализируя реакцию нуклеофильного замещения алкильной группы тиолат-анионом глутатиона. Деацилирование протекает с участием восстановленного флавина (FADH₂ или FMNH₂) в качестве кофактора и NADPH в качестве косубстрата. Глутатион (GSH) также вовлечен в деацилирование CNCbl и удаление ОН-группы НОСbl в анаэробных условиях. Независимо от того, какая из перечисленных реакций протекает с участием ММАСНС, “на выходе” формируется промежуточный продукт – коб(II)аламин.

Таким образом, любая форма витамина В12, поступающая в организм, в том числе AdoCbl и

MeCbl, в клетке теряет свой β-аксиальный лиганд, что говорит о том, что вводимые AdoCbl и MeCbl не могут напрямую использоваться метилмалонил-КоА-мутазой и метионинсинтазой соответственно.

Дальнейшая судьба коб(II)аламина связана с белком ММADНС (ген *cbfD*), функции которого до конца не установлены [18]. Считается, что ММADНС играет важную роль в регуляции биосинтеза обеих коферментных форм кобаламина (AdoCbl и MeCbl). При участии данного белка коб(II)аламин либо направляется в митохондрии для последующего биосинтеза AdoCbl, либо остается в цитозоле, где происходит образование MeCbl. В митохондриях белок CblB катализирует образование AdoCbl, который в дальнейшем переносится на метилмалонил-КоА-мутазу [22]. В данный процесс также вовлечен белок CblA, предположительно контролирующий связывание и удерживание образованного AdoCbl мутазой [22]. В цитозоле формирование MeCbl происходит при помощи метионинсинтазы-редуктазы (MTRR (ген *cbfE*)), которая непосредственно взаимодействует с метионинсинтазой (MTR, ген *cbfG*) [20]. Предполагается, что MeCbl может формироваться при участии мультибелкового комплекса, в состав которого входят, как минимум, ММАСНС, ММADНС, MTRR и MTR [23].

Важно отметить, что известно несколько наследственных заболеваний, связанных с мутациями в генах, кодирующих белки, участвующие в транспорте и метаболизме кобаламинов (метилмалоновая ацидурия и гомоцистинурия, формы *cblA–cblJ*) [18, 19].

ДЕФИЦИТ КОБАЛАМИНА

Дефицит витамина В12 обычно обусловлен его недостаточным поступлением с пищей или нарушением всасывания в кишечнике [18]. Кратко остановимся на некоторых из основных причин дефицита кобаламина, рассмотренных в [18, 24]. В частности, причиной нарушения всасывания кобаламина могут быть:

1. Прекращение секреции IF-фактора, которое может быть связано с аутоиммунным заболеванием или хирургическим вмешательством (частичная или полная гастрэктомия).

2. Заболевания и прием лекарственных средств, приводящих к изменению секреции или рН желудочного сока. В качестве примера таких заболеваний можно привести хронический атрофический гастрит, характеризующийся уменьшением количества клеток, продуцирующих соляную кислоту и пепсин. Среди препаратов можно выделить ингибиторы протонной помпы, антагонисты рецептора 2 гистамина и антагонисты средства. Недостаточное количество соляной кислоты или низкая активность пепсина приводят к тому, что В12 не высвобождается из комплексов с

компонентами пищи, в результате чего нарушается его всасывание.

3. Заболевания поджелудочной железы или панкреатэктомия: В12 не высвобождается из гапторринового комплекса из-за недостаточной активности ферментов поджелудочной железы.

4. Воспалительные заболевания кишечника, приводящие к нарушению всасывания В12 (болезнь Крона, целиакия, резекция подвздошной кишки).

5. Паразитарные инфекции (*Diphyllobothrium latum* и *Giardia lamblia*).

6. Некоторые лекарственные препараты, влияющие на всасывание или метаболизм витамина В12 (холестирамин (колестирамин), метформин).

Существуют также генетические дефекты, приводящие к нарушению работы кобаламинзависимых ферментов, а также белков, участвующих в транспорте и метаболизме кобаламина [18]. В последнем случае функциональный дефицит кобаламина также приводит к инактивации метионинсинтазы и метилмалонил-КоА-мутазы.

ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ КОБАЛАМИНА

В большинстве случаев для лечения и профилактики дефицита В12 используют гидроксокобаламин (НОСb1) или цианокобаламин (СНСb1) [9, 25, 26]. НОСb1 биоидентичен форме В12, которая образуется в организме человека, тогда как СНСb1, напротив, является синтетической формой. Между тем, впервые витамин В12 удалось выделить именно в форме СНСb1, и он получил широкое распространение для лечения дефицита витамина В12. СНСb1 более стабилен, чем остальные формы кобаламина, его легче получить, а сам процесс получения экономически более выгоден, что способствует широкому использованию СНСb1 в качестве биологически активной добавки (витаминов) и для обогащения пищевых продуктов [26]. В России для лечения дефицита В12 применяют только СНСb1 [27], тогда как в некоторых странах (Великобритания и др.) НОСb1 полностью заменил СНСb1 в качестве препарата первого выбора для заместительной терапии [25, 26]. В основном это обусловлено более длительным временем удерживания НОСb1 в организме, что позволяет использовать его через большие интервалы времени по сравнению с СНСb1 [25].

Следует отметить, что НОСb1 может использоваться также при заболеваниях, не связанных с дефицитом витамина В12 (атрофия зрительного нерва Лебера и токсическая амблиопия) [25].

Благодаря способности прочно связывать цианид-ионы, НОСb1 применяют в качестве антидота при отравлениях цианидом [9, 25]. В этом случае НОСb1 вводят в чрезвычайно высоких дозах (5–10 г внутривенно [28]), а его концентрация в плазме может достигать нескольких сотен микромолей (267–1011 мкМ [29]). В норме кон-

центрация кобаламина, находящегося в связанном с белком состоянии, составляет 0.17–0.92 нМ.

Помимо этого, высокие дозы гидроксокобаламина рассматривают в качестве средства спасения при развитии рефрактерного вазоплегического шока, потенциально опасного для жизни осложнения после операции на сердце [30].

Введение витамина В12 необходимо при заболеваниях с установленной В12-зависимой формой [21], в частности, при таких орфанных заболеваниях, как метилмалоновая ацидемия и гомоцистинурия типа С (сblС). Важно, что СНСb1 не эффективен при заболевании сblС, тогда как пациенты отвечают на применение высоких доз НОСb1 [7, 31–36]. В отдельных случаях для достижения оптимального метаболического ответа необходимо, чтобы концентрация НОСb1 в сыворотке крови приближалась к микромолярным величинам [35, 37, 38]. Лечение таких больных может длиться несколько месяцев [35, 39], при этом последствия длительной терапии высокими дозами НОСb1 не исследованы должным образом [37].

ВИТАМИН В12 И ЗАБОЛЕВАНИЯ, СОПРОВОЖДАЮЩИЕСЯ ВОСПАЛЕНИЕМ И ОКИСЛИТЕЛЬНЫМ СТРЕССОМ

Показано, что кобаламин положительно влияет на организм при развитии некоторых воспалительных заболеваний, сопровождающихся развитием окислительного стресса [1–3]. В свою очередь, при воспалительных заболеваниях наблюдается увеличение уровня транскобаламина (белка, транспортирующего кобаламин) в плазме крови и рецепторов, ответственных за его транспорт в клетки [5, 6], что предполагает связь между кобаламином и ответом клеток на воспаление. Кобаламины способны модулировать иммунный ответ и влиять на продукцию цитокинов и факторов роста [40–42]. На животных моделях показано, что дефицит витамина В12 приводит к снижению иммунного ответа на вирусную и бактериальную инфекцию [43, 44]. У пациентов с тяжелым дефицитом витамина В12 наблюдается снижение числа CD8+ лимфоцитов (что приводит к нарушению нормального соотношения CD4/CD8) и активности NK-клеток. Лечение кобаламином позволяет, по меньшей мере частично, нормализовать соотношение CD4/CD8. После введения этого витамина число клеток субпопуляции CD8+ увеличивается и в контрольной группе [41]. Введение кобаламина нормализует уровень фактора некроза опухоли (TNF α) и эпидермального фактора роста (EGF) у пациентов с дефицитом витамина В12 [40, 42]. Кобаламин подавляет продукцию фактора транскрипции NF- κ B [42].

В настоящее время НОСb1 проходит вторую фазу клинических исследований [4], оценивается возможность применения высоких доз НОСb1 (5 г) при септическом шоке. Хотя исследование еще не

завершено, установлено, что введение НОСbI приводит к снижению уровня H_2S [4]. Увеличение синтеза H_2S наблюдается при сепсисе и рассматривается как один из факторов, способствующих развитию вазоплегического шока [4, 45]. Введение кобаламина приводит также к снижению дозы вазопрессорного препарата (норадреналин) [4].

Витамин В12 и окислительный стресс

Получены данные, свидетельствующие о том, что дефицит витамина В12 может сопровождаться развитием окислительного стресса [46]. В частности, на это указывают результаты изучения маркеров окислительного стресса у больных с неврологическими проявлениями при дефиците витамина В12 (<211 пг/мл) [46]. Установлено, что витамин В12 может выполнять защитные функции в условиях окислительного стресса [47]. Так, пероральный прием витамина В12 (СNCbI) в высоких дозах уменьшает ишемическое и реперфузионное повреждение почки мыши [47]. Как известно, окислительный стресс и воспаление — два взаимосвязанных процесса, которые играют ключевую роль в ишемическом и реперфузионном повреждении ткани [48]. Прием высоких доз CNCbI приводит к практически полному восстановлению функций и морфологии почек. Отмечено снижение маркеров воспаления, апоптоза и фиброза, повреждений ДНК, индуцированных ишемией/реперфузией, а также продукции супероксид-аниона в почках на фоне приема витамина В12. Кроме того, обнаружено, что прием CNCbI приводит к восстановлению уровней мРНК генов *Gpx1* (глутатионпероксидаза 1), *Sod1* и *Sod2* (супероксид-дисмутаза 1 и 2), снижающихся после ишемии/реперфузии, а также к снижению уровня мРНК гена *Nox2* (NADPH-оксидаза 2), повышенного после ишемии/реперфузии [47]. Таким образом, можно считать, что механизмы, лежащие в основе нефропротекторного действия CNCbI, довольно сложны и могут включать в себя увеличение активности антиоксидантных систем (глутатионпероксидаза, супероксид-дисмутаза) и снижение накопления супероксид-аниона как за счет воздействия на его генерацию посредством *Nox2*, так и за счет непосредственного взаимодействия коб(II)аламина с супероксид-анионом [47].

Важно отметить развитие окислительного стресса при некоторых генетических заболеваниях, связанных с нарушениями метаболизма кобаламинов. В частности, это отмечено при таких орфанных заболеваниях, как метилмалоновая ацидемия и гомоцистинурия типа С (cbIc) [7, 49]. Дефекты cbIc (ген *cbIc*) приводят к нарушению превращения витамина В12 в его коферментные формы (MeCbI и AdCbI) [50, 51]. Функциональный дефицит MeCbI и AdCbI приводит к инактивации кобаламинзависимых ферментов и накоплению гомоцистеина и метилмалоновой кисло-

ты. Как уже упоминалось, CNCbI не эффективен при cbIc [31, 32], тогда как пациенты отвечают на лечение высокими дозами НОСbI [31–36], в результате которого увеличивается активность обоих кобаламинзависимых ферментов. Причина различий в результатах лечения препаратами НОСbI и CNCbI до сих пор остается неясной. Между тем, у пациентов с cbIc, получающих высокие дозы НОСbI, наблюдается развитие окислительного стресса, истощение пула глутатиона и цистеина [7]. Это позволяет предположить, что в основе развития окислительного стресса может лежать способность НОСbI катализировать окисление серосодержащих соединений, сопровождающаяся продукцией АФК. Примечательно, что патологические варианты cbIc (R161G/Q) проявляют тиолоксидазную активность, подавленную в cbIc дикого типа [49, 52]. Данные мутанты окисляют GSH и восстанавливают растворенный кислород до супероксид-аниона. Принимая во внимание вышесказанное, можно предположить, что при дефектах cbIc окисление GSH кобаламинами может опосредоваться мутантным cbIc и/или (при лечении высокими дозами НОСbI) происходить спонтанно. В обоих случаях данный окислительно-восстановительный процесс сопровождается продукцией АФК и может вносить вклад в развитие окислительного стресса и истощение пула глутатиона и цистеина у пациентов с cbIc, получающих высокие дозы гидроксокобаламина [7].

Таким образом, полученные данные свидетельствуют в пользу того, что кобаламины способны модулировать развитие окислительного стресса. Однако молекулярно-клеточные механизмы, лежащие в основе их модулирующего действия, не установлены и требуют дальнейшего изучения.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ КОБАЛАМИНОВ И ИХ КОМБИНАЦИЙ С ВОССТАНОВИТЕЛЯМИ (АСКОРБАТ, ТИОЛЫ)

Исследования *in vitro* показали, что CNCbI способен защищать от гибели клетки проксимальных канальцев почки, подвергнутые гипоксии/реперфузии. В присутствии CNCbI снижалась также генерация АФК [47]. Установлено, что кобаламины (НОСbI, CNCbI, MeCbI) в комбинации с такими тиолами, как GSH и *N*-ацетилцистеин (NAC), а также их тиолатокобаламиновые комплексы способны защищать клетки линии Sk-Nep-1 от окислительного повреждения, вызванного добавкой экзогенного пероксида водорода или гомоцистеина [53]. Установлено, что тиолатокобаламины существенно более эффективны, чем сами тиолы или тиолы в комбинации с кобаламинами. Тиолатокобаламины проявляют высокую антиоксидантную активность и могут рассматриваться в качестве средств, способных подавлять окислительный стресс [53].

С другой стороны, результаты, полученные ранее в нашей лаборатории, показали, что комбинация НОСbI с аскорбиновой кислотой, GSH , NAC и дитиотреитолом (DTT) оказывает цитотоксическое действие на клетки линий HEp-2 [54, 55] и MCF-7 [8]. Окисление ряда тиолов и аскорбиновой кислоты катализируется НОСbI и сопровождается накоплением пероксида водорода в культуральной среде [54, 55]. На ключевую роль пероксида водорода в цитотоксическом действии использованных комбинаций указывает способность каталазы полностью предотвращать накопление H_2O_2 и клеточную гибель. Недавно нами было показано, что цитотоксическое действие кобаламинов в комбинации с отдельными соединениями или отсутствием такого действия зависит от формы кобаламина [8]. В частности, цитотоксический эффект вызывает комбинация аскорбиновой кислоты с НОСbI , но не с CNCbI [8]. Согласно нашим данным, это связано с существенно более высокой скоростью окисления аскорбата в присутствии НОСbI , в результате которого наблюдается накопление пероксида водорода в культуральной среде. Кроме того, в присутствии НОСbI (но не CNCbI) существенно увеличивалось цитотоксическое действие еще одного серосодержащего соединения — диэтилдитиокарбамата (DDC). В этом случае каталаза лишь частично предотвращала цитотоксическое действие данной комбинации, и накопление H_2O_2 в среде не было зарегистрировано. Согласно нашим данным, основными продуктами реакции DDC с НОСbI являются дисульфиды и его окисленные формы, сульфоны и сульфоксиды [56]. Вероятно, АФК, формирующиеся в процессе окисления DDC , катализируемого НОСbI , быстро превращаются в активные формы серы. Важно, что гибель клеток (HEp-2 , A431 , A549), индуцированная комбинацией $\text{DDC} + \text{НОСbI}$, отличалась от апоптоза, аутофагии и некроза [57]. Обнаружено развитие тяжелого стресса эндоплазматического ретикулума, экстенсивная вакуолизация эндоплазматического ретикулума, приводящая к индукции парапозоподобной клеточной гибели [57, 58]. Кратковременная инкубация клеток рака молочной железы (линия клеток MCF-7) с активными формами серы переключала регулируемую форму гибели на энтоз (взаимное поглощение/уничтожение клеток) в половине популяции [57, 58]. В свою очередь, комбинации НОСbI с GSH , NAC , DTT и аскорбиновой кислотой приводили к апоптотической гибели опухолевых клеток [54, 55].

Таким образом, существующие данные указывают на то, что окислительно-восстановительные реакции, в которые вовлечены кобаламины, способны приводить как к накоплению, так и к элиминированию АФК и, по всей видимости, активных форм серы. Вопрос о том, какие активные формы серы наиболее токсичны для клеток, требует дальнейшего изучения.

МЕХАНИЗМЫ РЕДОКС-КАТАЛИТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ КОБАЛАМИНОВ

Взаимодействия кобаламинов с высоко- и низкомолекулярными серосодержащими соединениями, в том числе с тиолами, представляют важную часть их окислительно-восстановительной и координационной химии в норме и при патологии [11, 59–62]. Известно, что кобаламины катализируют реакции окисления серосодержащих соединений, включая тиолы. В ходе этих реакций образуются АФК. В частности, кобаламин-катализируемое окисление 2-меркаптоэтанола и дитиотреитола приводит к образованию пероксида водорода и дисульфидов [63]. В результате аквакобаламин-катализируемого окисления 2-меркаптоэтанола формируется супероксид-анион [64]. Недавно методом люминол-зависимой хемилюминесценции нами было показано образование АФК в процессе кобаламин-катализируемого окисления GSH , NAC , DTT и 2-нитро-5-тиобензоата (TNB). Каталитической активностью обладали как $\text{H}_2\text{OCbI}^+/\text{НОСbI}$, так и CNCbI [8]. Согласно существующим данным, координированная вода в аквакобаламине может быть легко замещена другими лигандами [10–13], в отличие от цианогруппы в цианокобаламине, которая формирует прочную связь Co-CN [17]. Следовательно, окисление серосодержащих соединений может протекать по разным механизмам (подробно механизмы рассмотрены в [8]). Кратко, в H_2OCbI^+ происходит координация тиола/тиолат-аниона атомом серы к иону кобальта в β -аксиальном положении. Далее образуется тиильный радикал (схема 1) и тиолатокоб(II)аламин. Тиильный радикал претерпевает дальнейшие превращения, в ходе которых образуется дисульфид, а тиолатокоб(II)аламин окисляется растворенным кислородом, что приводит к образованию супероксид-аниона и регенерации тиолатокоб(III)аламина в системе. Наиболее вероятно, что в CNCbI лиганд координируется к иону кобальта в α -аксиальном положении (схема 1). В результате одноэлектронного переноса далее формируется тиильный радикал и, вероятно, комплекс CbI(II)CN^- (схема 1). Последующее окисление кобальта растворенным кислородом приводит к образованию супероксид-аниона и регенерации цианокобаламина в системе. Тиильный радикал далее превращается в дисульфид. Главное отличие между реакциями тиолов с CNCbI и $\text{H}_2\text{OCbI}^+/\text{НОСbI}$ состоит в том, что последний способен образовывать устойчивые тиолатокобаламиновые комплексы, вероятно, способные взаимодействовать с супероксид-анионом и пероксидом водорода, приводя к их элиминированию. Важно отметить, что в процессе окислительно-восстановительных реакций $\text{H}_2\text{OCbI}^+/\text{НОСbI}$ восстанавливается до коб(II)аламина, который, как показано, спосо-

бен напрямую взаимодействовать с супероксид-анионом и пероксидом водорода [65, 66]. Если же в ходе окисления тиолов формируются неустойчивые комплексы тиолатокобаламинов, то, вероятно, супероксид-анион восстанавливается коб(II)аламином до H_2O_2 . Скорость взаимодействия супероксид-аниона с коб(II)аламином сопоставима со скоростью дисмутации суперок-

сида под действием супероксид-дисмутазы ($7 \times 10^8 M^{-1} c^{-1}$ у коб(II)аламина в сравнении с $10^9 M^{-1} c^{-1}$ у супероксид-дисмутазы) [66], что указывает на способность коб(II)аламина эффективно улавливать супероксид-анион, по всей видимости, не только в модельных, но и в биологических системах.

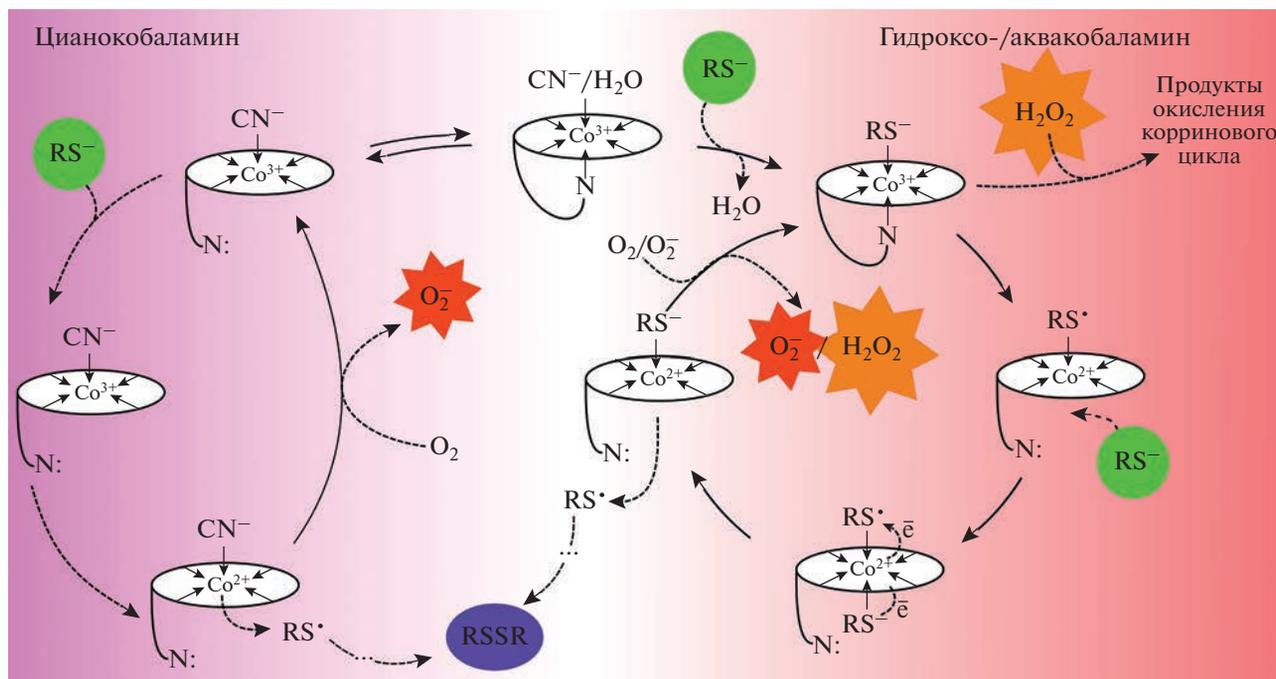


Схема 1. Схематическое представление катализируемого кобаламином окисления тиолов. Тиолы окисляются до дисульфидов. Окисление сопровождается продукцией супероксид-аниона. В случае H_2O_2 / HO_2Cbl^+ / HO_2Cbl -катализируемого окисления тиолов, $O_2^{\cdot-}$, по всей видимости, восстанавливается комплексами тиолатокоб(II)аламина до H_2O_2 .

В условиях *in vivo* в составе ферментативных комплексов, таких, например, как метионинсинтаза, кобаламин восстанавливается до коб(I)аламина, что играет важную физиологическую роль. Коб(I)аламин является сильным восстановителем, способным взаимодействовать с соединениями серы в моделируемых условиях [67]. Однако отсутствуют прямые экспериментальные подтверждения наличия свободного коб(I)аламина в условиях *in vivo*. По-видимому, это связано с низким электрохимическим потенциалом восстановления $Co(II)$ до $Co(I)$. По всей видимости, в условиях *in vivo* этот процесс протекает только в составе ферментативных комплексов, в которых происходит ослабление аксиальных взаимодействий и, как результат, увеличивается окислительно-восстановительный потенциал реакции: $Co(II) \rightarrow Co(I)$ [67].

Хотя в результате кобаламин-катализируемого окисления тиолов формируются дисульфиды,

окисление других серосодержащих соединений может приводить к формированию активных форм серы. В частности, катализируемое кобаламином окисление DDC приводит к образованию дисульфидрама и его окисленных производных, сульфонов и сульфоксидов [56]. Таким образом, превращения радикальных форм, возникающих в результате кобаламин-катализируемого окисления серосодержащих соединений, на данный момент остаются неясными.

Наиболее вероятно, что в условиях низкой концентрации тиола (~ 100 мкМ) и нормального содержания кислорода (260 мкМ) во внеклеточном пространстве тиольные радикалы будут преимущественно реагировать с кислородом (схема 2, путь 1) с контролируемой диффузией скоростью с образованием тиопероксидных радикалов (RSO_2^{\cdot}) [68, 69]. Это связано с тем, что константы скоростей прямой реакции глутатионильного и цистеинильного радикалов с кислородом на по-

рядок превышают константы скоростей взаимодействия этих радикалов с тиолами (табл. 1). Образующиеся тиопероксильные радикалы могут далее распадаться до исходных реагентов с константой скорости 10^5 c^{-1} [68, 69], самоконденсироваться с образованием соответствующего дисульфида и, предположительно, синглетного кислорода [69] (схема 2, путь 2) или, что более вероятно, реагировать с другим тиолом с образованием сульфеновой кислоты и сульфенильного радикала (RSO^\bullet) с константой скорости $2 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$ [70] (схема 2, путь 3). Высокореакционный сульфенил-радикал может взаимодействовать с тиолами (схема 2, путь 4) с образованием сульфеновой кислоты и тиольного радикала [71]. Далее сульфеновая кислота, в зависимости от условий, может реагировать с тиолом с образованием дисульфида (схема 2, путь 5) [72, 73], подвергаться окислению

супероксид-анионом или пероксильным радикалом (схема 2, путь 6), пероксидом водорода (схема 2, путь 7) [74] или самоконденсироваться до тиосульфината (схема 2, путь 8). Эти реакции зарегистрированы в моделируемых условиях (табл. 1), но, по-видимому, в физиологических условиях окисление тиолов останавливается на стадии образования дисульфида. Несмотря на высокую скорость взаимодействия тиольного радикала (путь 1) и сульфеновой кислоты (путь 6) с супероксид-анионом, уровень АФК, образующихся в цикле окисления-восстановления кобаламина, сохраняется на протяжении длительного времени, а образование АФК имеет сложную кинетику [75]. Эти данные позволяют предположить, что окисление тиолов идет сразу по нескольким направлениям.

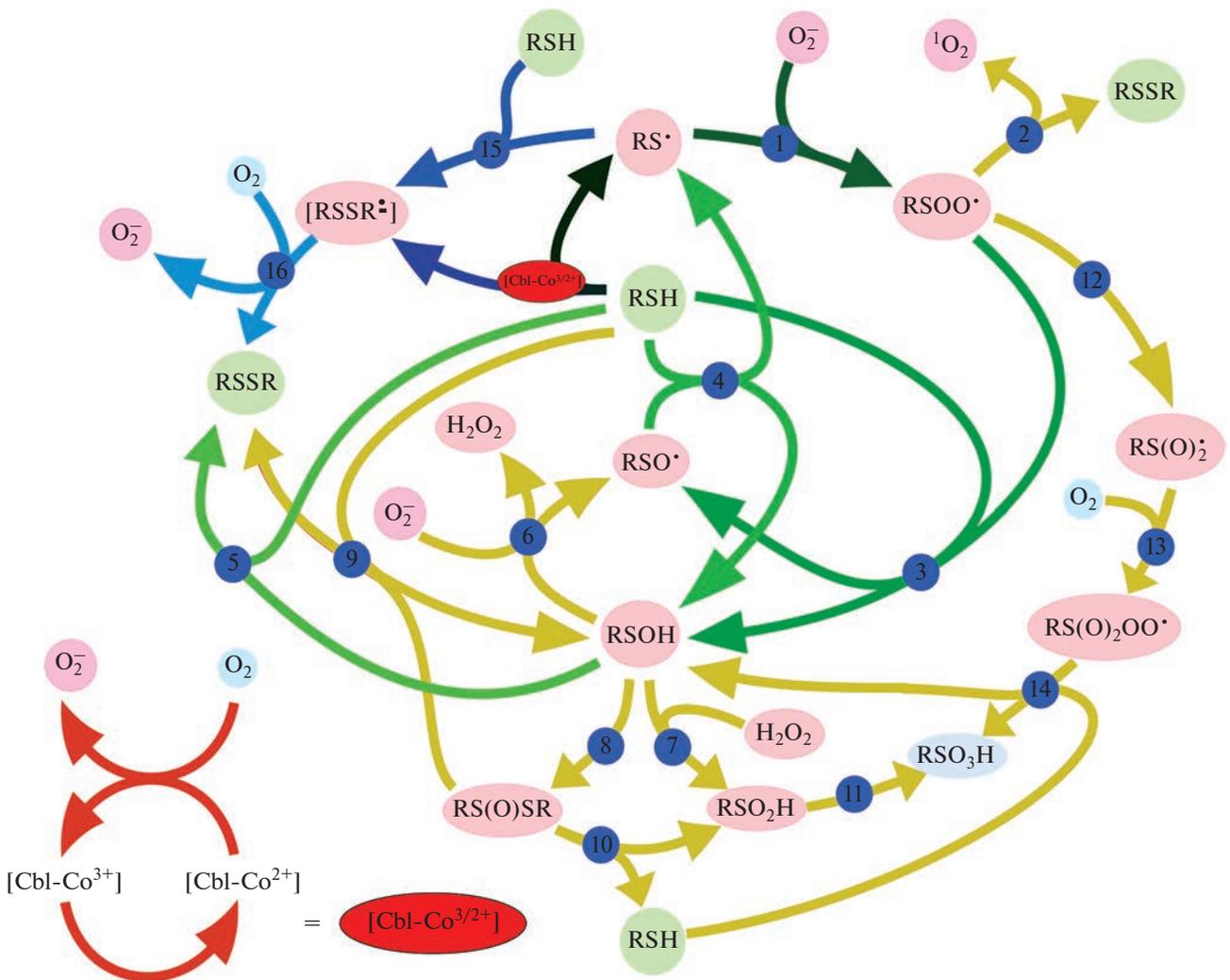


Схема 2. Схематическое представление вероятных путей превращения радикальных форм, формирующихся в результате катализируемого кобаламином окисления тиолов. Цифрами обозначены пути превращений сульфопроизводных; их описание приведено в тексте.

Альтернативные пути окисления серосодержащих соединений включают образование тиосульфатов, тиосульфонов, дисульфоксидов, сульфеновой и сульфоновой кислот. Тиосульфидат является неустойчивым интермедиатом и может восстанавливаться тиолом до дисульфида и сульфеновой кислоты (схема 2, путь 9) [72] или гидролизироваться до сульфеновой кислоты и тиола (схема 2, путь 10) [76]. Сульфеновая кислота окисляется кислородом до сульфоновой кислоты (схема 2, путь 11), аналогично окисляется и сульфонил-радикал (схема 2, пути 13 и 14) [70]. В условиях высокой концентрации тиолов или при реакции дитиолов с кобаламинами тиольный радикал преобразуется в дисульфид-анион-радикал (схема 2, путь 15) [77, 78], окисляющийся растворенным кислородом до дисульфида и супероксидного анион-радикала (схема 2, путь 16) [68]. Согласно приведенным в табл. 1 скоростям реакций, окисление тиолов быстро завершается на стадии образования дисульфида. При этом другим конечным продуктом окисления тиола является сульфеновая кислота. Практически все преобразования сульфопроизводных, за исключением реакций 2 и 16, не связаны с генерацией АФК. На стадиях 6 и 7 происходит даже уменьшение количества супероксид-аниона и пероксида водорода. Остается неясным, при каких условиях возникает окислительный стресс, связанный с нарушением нормальной работы белков, и каковы мишени формирующихся реактивных сульфопроизводных.

Важно также отметить, что в результате метаболических превращений таких биогенных тиолов, как цистеин и глутатион, в организме образуются сероводород, персульфиды, тиосульфаты, сульфиты и другие соединения [79]. Некоторые из этих продуктов обнаружены в плазме крови в норме, в том числе таурин (32.7–80.8 мкМ) и S-сульфоцистеин (0.131–1.7 мкМ) [79].

Необходимо также отметить, что кобаламины способны взаимодействовать не только с тиолами, но и с продуктами их окисления. Как показано недавно, цистеинсульфеновая кислота и гипотаурин способны образовывать комплексы с НОСbI [83]. Эти комплексы характеризуются наличием координационной связи сера-кобальт и более низкой константой связывания по сравнению с тиолатокобаламинами. В частности, константа связывания глутатион-кобаламин составляет 10^9 M^{-1} , тогда как у комплексов цистеинсульфеновая кислота-кобаламин и гипотаурин-кобаламин эти константы составляют 1.1×10^3 и $6.5 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ соответственно [83]. Более окисленные лиганды (цистеинсульфеновая кислота и таурин) формируют комплексы с кобаламином только в области слабощелочных значений pH (7.5–9.5) и характеризуются образованием координационной связи Co-N и существенно меньшими значениями констант связывания [83]. Не-

смотря на то, что комплексы окисленных соединений серы с кобаламинами менее устойчивы по сравнению с тиолатокобаламинами, по-видимому, их образование может играть важную роль в накоплении активных форм серы.

Химия окисленных производных серы становится существенно более сложной при взаимодействии с белками, поскольку образующиеся интермедиаты могут стабилизироваться микроокружением. Время жизни большинства низкомолекулярных редокс-активных производных серы составляет несколько секунд [72], тогда как время полураспада сульфеновой группы в окисленном альбумине или других белках возрастает до нескольких минут [84, 85]. Тем не менее, несмотря на высокую реакционную способность окисленных сульфопроизводных и малое время их жизни, накапливаются данные, свидетельствующие об их формировании не только в патологических, но и в нормальных физиологических условиях. Таким образом, белки, содержащие восстановленные тиольные группы в своей структуре, являются потенциальными мишенями активных форм, формирующихся в условиях тиолат-опосредованного окислительного стресса.

Окислительная модификация тиольных групп белков

Изучению тиол-опосредованной сигнализации посвящено несколько крупных обзоров [86–88]. Такая сигнализация сопровождается окислительной модификацией тиольных групп, в результате которой образуются дисульфидные связи и нитрозотиолы, а также сульфеновые, сульфиновые и сульфоновые кислоты. Последние две модификации считаются необратимыми [86, 87]. Образование сульфеновой кислоты регистрируется в белках, участвующих в регуляции апоптоза, активации и пролиферации иммунных клеток [89–91]. Сульфеновые группы идентифицированы также в каталитических центрах некоторых ферментов, включая пероксиредоксины (Prx), NADH-пероксидазу и другие [86, 87, 92]. Известно, что остатки цистеина в молекулах некоторых факторов транскрипции (например, NF- κ B, Fos и Jun) и белков, участвующих во внутриклеточной сигнализации и метаболизме (например, глицеральдегид-3-фосфат-дегидрогеназы (GPDH), глутатионредуктазы (GR), протеин-тирозинфосфатазы (PTP), киназы и протеазы), могут окисляться до сульфеновых групп в условиях *in vitro* [87]. Согласно [93, 94], уровень окисленных тиолов в клетке коррелирует с редокс-потенциалом клеточных компартментов и увеличивается в следующем порядке: митохондрии, цитоскелет, ядро, митохондриальная мембрана, лизосомы, аппарат Гольджи и эндоплазматический ретикулум. В последнем компартменте уровень глутатионилированных белков достигает 4.6%, тогда как общее количе-

Таблица 1. Основные окислительно-восстановительные реакции соединений серы

Окислитель	Восстановитель	Продукт(ы)	Скорость реакции	Ссылка
Тиильный радикал (RS [•])	Кислород (O ₂)	Тиопероксил-радикал (RSOO [•])	$k_1 = 1.6 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$ (глутатион) $k_1 = 8.1 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$ (цистеин)	[68, 69]
Тиильный радикал (RS [•])	Тиол (RSH)	Дисульфид-анион-радикал (RSS ^{-•} R)	$k_1 = 8.4 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$ (глутатион) $k_1 = 1.2 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$ (цистеин)	[77, 78]
Тиильный радикал (RS [•])	Аскорбат	Тиол; Дигидроаскорбат	$k_1 = 6 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$ (глутатион) $k_1 = 12 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$ (цистеин)	[75]
Дисульфид-анион-радикал (RSS ^{-•} R)	Кислород (O ₂)	Супероксид-анион	$k_1 = 5 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$ (глутатион) $k_1 = 15 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$ (цистеин)	[68]
Тиопероксил-радикал (RSOO [•])	Тиол (RSH)	Сульфенил-радикал (RSO [•]); Сульфеновая кислота (RSOH)	$k_1 = 2 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$ (меркаптоэтанол)	[70]
Тиопероксил-радикал (RSOO [•])		Сульфонил-радикал (RS(O)O [•])	$k_1 = 2 \times 10^3 \text{ c}^{-1}$ (меркаптоэтанол)	[70]
Сульфеновая кислота (RSOH)	Пероксил-радикал (R'OO [•])	Сульфенил-радикал (RSO [•]); Гидроксипероксид (R'OOH)	$k_1 = 3 \times 10^6 \text{ c}^{-1}$ (9-триптиценсульфоновая кислота + пероксил-радикал, 30°C в хлорбензоле)	[80]
Тиосульфат (RS(O)SR)	Тиол (RSH)	Сульфеновая кислота (RSOH); Дисульфид (RSSR)	$k_1 = 3.6\text{--}4.6 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$ (цистеин)	[72]
Сульфеновая кислота (RSOH)	Пероксид водорода	Сульфиновая кислота (RS(O)OH)	$k_1 = 0.4 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$ (альбумин) $k_1 = 57 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$ (пероксиредоксин Prx 1)	[74]
Сульфонил-радикал (RS(O)O [•])	Кислород	Сульфенил пероксилрадикал (RS(O)2OO [•])	$k_1 = 1.1 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$ (метилсульфонил-радикал)	[81]
Сульфенил-радикал (RSO [•])	Тиол (RSH)	Сульфеновая кислота (RSOH)		[71]
Сульфонил-радикал (RS(O)O [•])/ Сульфиновая кислота (RS(O)OH)	Кислород	Сульфиновая кислота (RS(O) ₂ OH)		[70]
Тиосульфат (RS(O)SR)		Тиол; сульфиновая кислота	$k_1 = 1 \times 10^3 \text{ c}^{-1}$ (тиосульфат цистеина)	[76]
Сульфенил пероксил-радикал (RS(O)2OO [•])	Тиол	Сульфиновая кислота (RS(O) ₃ H); сульфеновая кислота (RSOH)		[82]
Сульфеновая кислота	Тиол	Дисульфид	$k_1 > 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$ (цистеин)	[72]

ство окисленных белков, содержащих дисульфидные связи, сульфеновые, сульфиновые и нитрозотиольные группы, составляет 16.4%, что больше, чем в остальных компартментах [93, 94]. Таким образом, эндоплазматический ретикулум содержит больше чувствительных к окислению белков. Эти данные также согласуются с полученными нами результатами, согласно которым ключевой стадией окислительного повреждения, индуцированного комбинацией DDC с HOCbI, является ингибирование ряда белков, отвечающих

за посттрансляционную модификацию и ингибирование деубиквитиназы, ассоциированной с ретротранслоконом, локализованным в мембране эндоплазматического ретикулума [58]. Эти процессы приводят к развитию тяжелого стресса эндоплазматического ретикулума, экстенсивной вакуолизации эндоплазматического ретикулума, а также к индукции параптозо-подобной клеточной гибели. В целом, можно предположить, что взаимодействие кобаламинов с серосодержащими лигандами может приводить к окислительному

стрессу опосредованно, через образование активных форм кислорода и серы, способных индуцировать окислительную модификацию белков, что в ряде случаев сопровождается стрессом эндоплазматического ретикулула. Однако точные механизмы действия формирующихся активных форм и белковые мишени, вовлеченные в развитие стресса эндоплазматического ретикулула, требуют дальнейшего изучения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Витамин В12 необходим для нормального функционирования организма, а его дефицит приводит к развитию серьезных патологических состояний. Лечение дефицита В12, а также ряда других заболеваний, включает введение данного витамина, в отдельных случаях в довольно высоких дозах. Современные данные указывают на необходимость тщательного выбора формы витамина В12 при терапии В12-зависимых заболеваний, в частности, использования гидроксокобаламина как более эффективного при многих патологиях. Несмотря на противовоспалительные и антиоксидантные свойства, кобаламины способны в определенных условиях индуцировать окислительный стресс. В свою очередь, эффект, который оказывает витамин В12, существенно зависит от используемой формы, что может быть связано с формированием устойчивых тиолатокобаламиновых комплексов в случае гидроксокобаламина. Понимание механизмов прооксидантного действия разных форм витамина В12 в сочетании с серосодержащими соединениями и дальнейших превращений образующихся радикальных форм необходимо для разработки стратегий применения В12 в терапии различных заболеваний.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (№ 075-01025-23-01 на 2023 г.)

Настоящая работа выполнена без привлечения людей и животных в качестве объектов исследования.

Авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- McCaddon A., Hudson P.R. (2010) *L*-methylfolate, methylcobalamin, and *N*-acetylcysteine in the treatment of Alzheimer's disease-related cognitive decline. *CNS Spectr.* **15**, 2–5.
- Regland B., Forsmark S., Halaouate L., Matousek M., Peilot B., Zachrisson O., Gottfries C.-G. (2015) Response to vitamin B12 and folic acid in myalgic encephalomyelitis and fibromyalgia. *PLoS One.* **10**, e0124648.
- Wheatley C. (2006) A scarlet pimpernel for the resolution of inflammation? The role of supra-therapeutic doses of cobalamin, in the treatment of systemic inflammatory response syndrome (SIRS), sepsis, severe sepsis, and septic or traumatic shock. *Med. Hypotheses.* **67**, 124–142.
- Patel J.J., Willoughby R., Peterson J., Carver T., Zelten J., Markiewicz A., Spiegelhoff K., Hipp L.A., Canales B., Szabo A., Heyland D.K., Stoppe C., Zielonka J., Freed J.K. (2023) High-dose IV hydroxocobalamin (vitamin B12) in septic shock. *Chest.* **163**, 303–312.
- Kalra S., Ahuja R., Mutti E., Veber D., Seetharam S., Scalabrino G., Seetharam B. (2007) Cobalamin-mediated regulation of transcobalamin receptor levels in rat organs. *Arch. Biochem. Biophys.* **463**, 128–132.
- Rothenberg S.P., Quadros E.V., Regec A. 1999. Transcobalamin II. in: *Chemistry and Biochemistry of Vitamin B12*. Ed. Banerjee R. New York: John Wiley & Sons, pp. 441–473.
- Pastore A., Martinelli D., Piemonte F., Tozzi G., Boenzi S., Di Giovamberardino G., Petrillo S., Bertini E., Dionisi-Vici C. (2014) Glutathione metabolism in cobalamin deficiency type C (cblC). *J. Inherit. Metab. Dis.* **37**, 125–129.
- Shatalin Y.V., Shubina V.S., Solovieva M.E., Akatov V.S. (2022) Differences in the formation of reactive oxygen species and their cytotoxicity between thiols combined with aqua- and cyanocobalamins. *Int. J. Mol. Sci.* **23**, 11032.
- Brayfield A. (2014) *Martindale: the Complete Drug Reference*. London, UK: PhP, Pharmaceut. Press.
- Xia L., Cregan A.G., Berben L.A., Brasch N.E. (2004) Studies on the formation of glutathionylcobalamin: any free intracellular aquacobalamin is likely to be rapidly and irreversibly converted to glutathionylcobalamin. *Inorg. Chem.* **43**, 6848–6857.
- Wingert V., Mukherjee S., Esser A.J., Behringer S., Tanimowo S., Klenzendorf M., Derevenkov I.A., Makarov S.V., Jacobsen D.W., Spiekerkoetter U., Hannibal L. (2021) Thioloatocobalamins repair the activity of pathogenic variants of the human cobalamin processing enzyme CblC. *Biochimie.* **183**, 108–125.
- Salnikov D.S., Kucherenko P.N., Dereven'kov I.A., Makarov S.V., van Eldik R. (2014) Kinetics and mechanism of the reaction of hydrogen sulfide with cobalamin in aqueous solution. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2014**, 852–862.
- Suarez-Moreira E., Hannibal L., Smith C.A., Chavez R.A., Jacobsen D.W., Brasch N.E. (2006) A simple, convenient method to synthesize cobalamins: synthesis of homocysteinylcobalamin, *N*-acetylcysteinylcobalamin, 2-*N*-acetylamino-2-carbomethoxyethanethiolatocobalamin, sulfitecobalamin and nitrocobalamin. *Dalton Trans. Camb. Engl.* **2003**, 5269–5277.
- Paul C., Brady D.M. (2017) Comparative bioavailability and utilization of particular forms of B12 supplements with potential to mitigate B12-related genetic polymorphisms. *Integr. Med. Encinitas Calif.* **16**, 42–49.
- Zhang Y., Hodgson N., Trivedi M., Deth R. (2016) Neuregulin 1 promotes glutathione-dependent neuronal cobalamin metabolism by stimulating cysteine uptake. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2016**, 1–13.
- Pezacka E., Green R., Jacobsen D.W. (1990) Glutathionylcobalamin as an intermediate in the formation of

- cobalamin coenzymes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **169**, 443–450.
17. George P., Irvine D.H., Glauser S.C. (2006) The influence of chelation in determining the reactivity of the iron in hemoproteins. and the cobalt in vitamin B12 derivatives. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **88**, 393–415.
 18. Green R., Allen L.H., Bjørke-Monsen A.L., Brito A., Guéant J.L., Miller J.W., Molloy A.M., Nexo E., Stabler S., Toh B.H., Ueland P.M., Yajnik C. (2017) Correction: Vitamin B₁₂ deficiency. *Nat. Rev. Dis. Primer.* **3**, 17040.
 19. Esser A.J., Mukherjee S., Dereven'kov I.A., Makarov S.V., Jacobsen D.W., Spiekerkoetter U., Hannibal L. (2022) Versatile enzymology and heterogeneous phenotypes in cobalamin complementation type C disease. *iScience.* **25**, 104981.
 20. Rizzo G., Laganà A.S. (2020) A review of vitamin B12. In: *Molecular Nutrition*. Elsevier, pp. 105–129.
 21. Obeid R., Fedosov S.N., Nexo E. (2015) Cobalamin coenzyme forms are not likely to be superior to cyanocobalamin deficiency. *Mol. Nutr. Food Res.* **59**, 1364–1372.
 22. Froese D.S., Gravel R.A. (2010) Genetic disorders of vitamin B12 metabolism: eight complementation groups—eight genes. *Expert. Rev. Mol. Med.* **12**, e37.
 23. Bassila C., Ghemrawi R., Flayac J., Froese D.S., Baumgartner M.R., Guéant J.-L., Coelho D. (2017) Methionine synthase and methionine synthase reductase interact with MMACHC and with MMADHC. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis.* **1863**, 103–112.
 24. Ankar A., Kumar A. (2023) Vitamin B12 deficiency. In: *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publ.
 25. Joint Formulary Committee (Great Britain) (2020) *BNF 80: September 2020–March 2021*. London: BMJ Group; Pharmaceutical Press.
 26. Vidal-Alaball J., Butler C., Cannings-John R., Goringe A., Hood K., McCaddon A., McDowell I., Papaioannou A. (2005) Oral vitamin B12 versus intramuscular vitamin B12 for vitamin B12 deficiency. *Cochrane Database Syst. Rev.* **3**, Ed. Cochrane Metabolic and Endocrine Disorders Group. CD004655.
 27. Клинические рекомендации “Витамин-B12-Дефицитная анемия” 2021, разработанные Национальным гематологическим обществом, Национальным обществом детских гематологов и онкологов – Утверждены Минздравом РФ. https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/536_2
 28. Anon. (2008) *Physicians' desk reference: PDR 2008*. 62-nd. Ed. Montvale N.J. Thomson Healthcare, p. 3480.
 29. Forsyth J.C., Mueller P.D., Becker C.E., Osterloh J., Benowitz N.L., Rumack B.H., Hall A.H. (1993) Hydroxocobalamin as a cyanide antidote: safety, efficacy and pharmacokinetics in heavily smoking normal volunteers. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* **31**, 277–294.
 30. Bak M.A., Smith J.A., Murfin B., Chen Y. (2022) High-dose hydroxocobalamin for refractory vasoplegia post cardiac surgery. *Cureus.* **14**(8), e28267.23.
 31. Andersson H.C., Shapira E. (1998) Biochemical and clinical response to hydroxocobalamin versus cyanocobalamin treatment in patients with methylmalonic acidemia and homocystinuria (*cb1C*). *J. Pediatr.* **132**, 121–124.
 32. Bodamer O.A.F., Rosenblatt D.S., Appel S.H., Beaudet A.L. (2001) Adult-onset combined methylmalonic aciduria and homocystinuria (*cb1C*). *Neurology.* **56**, 1113–1113.
 33. Huemer M., Diodato D., Schwahn B., Schiff M., Banderira A., Benoist J.F., Burlina A., Cerone R., Couce M.L., Garcia-Cazorla A., la Marca G., Pasquini E., Vilarinho L., Weisfeld-Adams J.D., Kožich V., Blom H., Baumgartner M.R., Dionisi-Vici C. (2017) Guidelines for diagnosis and management of the cobalamin-related remethylation disorders *cb1C*, *cb1D*, *cb1E*, *cb1F*, *cb1G*, *cb1I* and *MTHFR* deficiency. *J. Inherit. Metab. Dis.* **40**, 21–48.
 34. Almannaï M., Marom R., Divin K., Scaglia F., Sutton V.R., Craigen W.J., Lee B., Burrage L.C., Graham B.H. (2017) Milder clinical and biochemical phenotypes associated with the c.482G>A (p.Arg161Gln) pathogenic variant in cobalamin C disease: implications for management and screening. *Mol. Genet. Metab.* **122**, 60–66.
 35. Higashimoto T., Kim A.Y., Ogawa J.T., Sloan J.L., Almuqbil M.A., Carlson J.M., Manoli I., Venditti C.P., Gunay-Aygun M., Wang T. (2020) High dose hydroxocobalamin achieves biochemical correction and improvement of neuropsychiatric deficits in adults with late onset cobalamin C deficiency. *JIMD Rep.* **51**, 17–24.
 36. Fischer S., Huemer M., Baumgartner M., Deodato F., Ballhausen D., Boneh A., Burlina A.B., Cerone R., Garcia P., Gökçay G., Grünewald S., Häberle J., Jaeken J., Ketteridge D., Lindner M., Mandel H., Martinelli D., Martins E.G., Schwab K.O., Gruenert S.C., Schwahn B.C., Sztriha L., Tomaske M., Trefz F., Vilarinho L., Rosenblatt D.S., Fowler B., Dionisi-Vici C. (2014) Clinical presentation and outcome in a series of 88 patients with the *cb1C* defect. *J. Inherit. Metab. Dis.* **37**, 831–840.
 37. Carrillo-Carrasco N., Sloan J., Valle D., Hamosh A., Venditti C.P. (2009) Hydroxocobalamin dose escalation improves metabolic control in *cb1C*. *J. Inherit. Metab. Dis.* **32**, 728–731.
 38. Van Hove J.L., Van Damme-Lombaerts R., Grünewald S., Peters H., Van Damme B., Fryns J.P., Arnout J., Wevers R., Baumgartner E.R., Fowler B. (2002) Cobalamin disorder *cb1C* presenting with late-onset thrombotic microangiopathy. *Am. J. Med. Genet.* **111**, 195–201.
 39. Matos I.V., Castejón E., Meavilla S., O'Callaghan M., Garcia-Villoria J., López-Sala A., Ribes A., Artuch R., Garcia-Cazorla A. (2013) Clinical and biochemical outcome after hydroxocobalamin dose escalation in a series of patients with cobalamin C deficiency. *Mol. Genet. Metab.* **109**, 360–365.
 40. Scalabrino G., Carpo M., Bamonti F., Pizzinelli S., D'Avino C., Bresolin N., Meucci G., Martinelli V., Comi G.C., Peracchi M. (2004) High tumor necrosis factor- α in levels in cerebrospinal fluid of cobalamin-deficient patients. *Ann. Neurol.* **56**, 886–890.
 41. Tamura J., Kubota K., Murakami H., Sawamura M., Matsushima T., Tamura T., Saitoh T., Kurabayashi H., Naruse T. (1999) Immunomodulation by vitamin B12: augmentation of CD8⁺ T lymphocytes and natural killer (NK) cell activity in vitamin B12-deficient patients by

- methyl-B12 treatment: vit. B12 augments CD8⁺ cells and NK cell activity. *Clin. Exp. Immunol.* **116**, 28–32.
42. Veber D., Mutti E., Tacchini L., Gammella E., Tredici G., Scalabrino G. (2008) Indirect down-regulation of nuclear NF- κ B levels by cobalamin in the spinal cord and liver of the rat. *J. Neurosci. Res.* **86**, 1380–1387.
 43. Mottram L., Speak A.O., Selek R.M., Cambridge E.L., McIntyre Z., Kane L., Mukhopadhyay S., Grove C., Colin A., Brandt C., Duque-Correa M.A., Forbester J., Nguyen T.A., Hale C., Vasilliou G.S., Arends M.J., Wren B.W., Dougan G., Clare S. (2016) Infection susceptibility in gastric intrinsic factor (vitamin B₁₂)-defective mice is subject to maternal influences. *mBio.* **7**, e00830-16.
<https://doi.org/10.1128/mBio.00830-16>
 44. Vellema P., Rutten V.P.M.G., Hoek A., Moll L., Wentink G.H. (1996) The effect of cobalt supplementation on the immune response in vitamin B12 deficient Texel lambs. *Vet. Immunol. Immunopathol.* **55**, 151–161.
 45. Кочкин А.А., Яворовский А.Г., Берикашвили Л.Б., Лихванцев В.В. (2020) Современная вазопрессорная терапия септического шока (обзор). *Общая реаниматология.* **16**, 77–93.
 46. Misra U.K., Kalita J., Singh S.K., Rahi S.K. (2017) Oxidative stress markers in vitamin B12 deficiency. *Mol. Neurobiol.* **54**, 1278–1284.
 47. Li F., Bahnson E.M., Wilder J., Siletzky R., Hagaman J., Nickeleit V., Hiller S., Ayesha A., Feng L., Levine J.S., Takahashi N., Maeda-Smithies N. (2020) Oral high dose vitamin B12 decreases renal superoxide and post-ischemia/reperfusion injury in mice. *Redox Biol.* **32**, 101504.
 48. Андрианова Н.В., Зоров Д.Б., Плотников Е.Ю. (2020) Воспаление и окислительный стресс как мишени для терапии ишемического повреждения почек (обзор). *Биохимия.* **85**, 1873–1886.
 49. Gherasim C., Ruetz M., Li Z., Hudolin S., Banerjee R. (2015) Pathogenic mutations differentially affect the catalytic activities of the human B12-processing chaperone CblC and increase futile redox cycling. *J. Biol. Chem.* **290**, 11393–11402.
 50. Wang X., Yang Y., Li X., Li C., Wang C. (2019) Distinct clinical, neuroimaging and genetic profiles of late-onset cobalamin C defects (cb1C): a report of 16 Chinese cases. *Orphanet. J. Rare Dis.* **14**, 109.
 51. Sloan J.L., Carrillo N., Adams D., Venditti C.P. (1993) Disorders of intracellular cobalamin metabolism. In: *GeneReviews*®. Eds Adam M.P., Mirzaa G.M., Pagon R.A., Wallace S.E., Bean L.J., Gripp K.W., Amemiya A. Seattle (WA): University of Washington, Seattle.
 52. Li Z., Shanmuganathan A., Ruetz M., Yamada K., Lesniak N.A., Krätzler B., Brunold T.C., Koutmos M., Banerjee R. (2017) Coordination chemistry controls the thiol oxidase activity of the B12-trafficking protein CblC. *J. Biol. Chem.* **292**, 9733–9744.
 53. Birch C.S., Brasch N.E., McCaddon A., Williams J.H.H. (2009) A novel role for vitamin B12: cobalamins are intracellular antioxidants *in vitro*. *Free Radic. Biol. Med.* **47**, 184–188.
 54. Соловьева М.Е., Соловьев В.В., Фасхутдинова А.А., Кудрявцев А.А., Акатов В.С. (2007) Прооксидантное и цитотоксическое действие *N*-ацетилцистеина и глутатиона в сочетаниях с витамином B12b. *Цитология.* **1**, 70–78.
 55. Solovieva M.E., Solovyev V.V., Kudryavtsev A.A., Trizna Y.A., Akatov V.S. (2008) Vitamin B12b enhances the cytotoxicity of dithiothreitol. *Free Radic. Biol. Med.* **44**, 1846–1856.
 56. Solovieva M.E., Shatalin Yu.V., Solovyev V.V., Sazonov A.V., Kutyshenko V.P., Akatov V.S. (2019) Hydroxycobalamin catalyzes the oxidation of diethyldithiocarbamate and increases its cytotoxicity independently of copper ions. *Redox Biol.* **20**, 28–37.
 57. Solovieva M., Shatalin Y., Fadeev R., Krestinina O., Baburina Y., Kruglov A., Kharechkina E., Kobyakova M., Rogachevsky V., Shishkova E., Akatov A.V. (2020) Vitamin B12b enhances the cytotoxicity of diethyldithiocarbamate in a synergistic manner, inducing the paraptosis-like death of human larynx carcinoma cells. *Biomolecules.* **10**, 69.
 58. Solovieva M., Shatalin Y., Odinkova I., Krestinina O., Baburina Y., Lomovskaya Y., Pankratov A., Pankratova N., Buneeva O., Kopylov A., Medvedev A., Akatov V. (2022) Disulfiram oxy-derivatives suppress protein retrotranslocation across the ER membrane to the cytosol and initiate paraptosis-like cell death. *Membranes.* **12**, 845.
 59. Banerjee R., Gouda H., Pillay S. (2021) Redox-linked coordination chemistry directs vitamin B₁₂ trafficking. *Acc. Chem. Res.* **54**, 2003–2013.
 60. Dereven'kov I.A., Salnikov D.S., Silaghi-Dumitrescu R., Makarov S.V., Koifman O.I. (2016) Redox chemistry of cobalamin and its derivatives. *Coord. Chem. Rev.* **309**, 68–83.
 61. Dereven'kov I.A., Hannibal L., Dürr M., Salnikov D.S., Bui Thi T.T., Makarov S.V., Koifman O.I., Ivanović-Burmazović I. (2017) Redox turnover of organometallic B12 cofactors recycles vitamin C: sulfur assisted reduction of dehydroascorbic acid by Cob(II)alamin. *J. Organomet. Chem.* **839**, 53–59.
 62. Li Z., Mascarenhas R., Twahir U.T., Kallon A., Deb A., Yaw M., Penner-Hahn J., Koutmos M., Warncke K., Banerjee R. (2020) An interprotein Co–S coordination complex in the B₁₂-trafficking pathway. *J. Am. Chem. Soc.* **142**, 16334–16345.
 63. Jacobsen D.W., Troxell L.S., Brown K.L. (1984) Catalysis of thiol oxidation by cobalamins and cobinamides: reaction products and kinetics. *Biochemistry.* **23**, 2017–2025.
 64. Jacobsen D.W., Pezacka E.H., Brown K.L. (1993) The inhibition of corrinoid-catalyzed oxidation of mercaptoethanol by methyl iodide: mechanistic implications. *J. Inorg. Biochem.* **50**, 47–63.
 65. Nazhat N.B., Golding B.T., Johnson G.R.A., Jones P. (1989) Destruction of vitamin B12 by reaction with ascorbate: the role of hydrogen peroxide and the oxidation state of cobalt. *J. Inorg. Biochem.* **36**, 75–81.
 66. Suarez-Moreira E., Yun J., Birch C.S., Williams J.H.H., McCaddon A., Brasch N.E. (2009) Vitamin B₁₂ and redox homeostasis: Cob(II)alamin reacts with superoxide at rates approaching superoxide dismutase (SOD). *J. Am. Chem. Soc.* **131**, 15078–15079.
 67. Dereven'kov I.A., Salnikov D.S., Makarov S.V., Boss G.R., Koifman O.I. (2013) Kinetics and mecha-

- nism of oxidation of super-reduced cobalamin and cobinamide species by thiosulfate, sulfite and dithionite. *Dalton Trans.* **42**, 15307–15316.
68. Quintiliani M., Badiello R., Tamba M., Esfandi A., Gorin G. (1977) Radiolysis of glutathione in oxygen-containing solutions of pH 7. *Int. J. Radiat. Biol. Relat. Stud. Phys. Chem. Med.* **32**, 195–202.
 69. Wefers H., Sies H. (1983) Oxidation of glutathione by the superoxide radical to the disulfide and the sulfonate yielding singlet oxygen. *Eur. J. Biochem.* **137**, 29–36.
 70. Zhang X., Zhang N., Schuchmann H.-P., Von Sonntag C. (1994) Pulse radiolysis of 2-mercaptoethanol in oxygenated aqueous solution. Generation and reactions of the thiylperoxyl radical. *J. Phys. Chem.* **98**, 6541–6547.
 71. Winterbourn C.C., Metodiewa D. (1999) Reactivity of biologically important thiol compounds with superoxide and hydrogen peroxide. *Free Radic. Biol. Med.* **27**, 322–328.
 72. Nagy P., Ashby M.T. (2007) Reactive sulfur species: kinetics and mechanisms of the oxidation of cysteine by hypohalous acid to give cysteine sulfenic acid. *J. Am. Chem. Soc.* **129**, 14082–14091.
 73. Chandler J.D., Nichols D.P., Nick J.A., Hondal R.J., Day B.J. (2013) Selective metabolism of hypothiocyanous acid by mammalian thioredoxin reductase promotes lung innate immunity and antioxidant defense. *J. Biol. Chem.* **288**, 18421–18428.
 74. Hugo M., Turell L., Manta B., Botti H., Monteiro G., Netto L.E.S., Alvarez B., Radi R., Trujillo M. (2009) Thiol and sulfenic acid oxidation of ahpE, the one-cysteine peroxiredoxin from *Mycobacterium tuberculosis*: kinetics, acidity constants, and conformational dynamics. *Biochemistry*. **48**, 9416–9426.
 75. Forni L.G., Mönig J., Mora-Arellano V.O., Willson R.L. (1983) Thiyl free radicals: direct observations of electron transfer reactions with phenothiazines and ascorbate. *J. Chem. Soc. Perkin. Trans.* **2**, 961–965.
 76. Nagy P., Ashby M.T. (2007) Reactive sulfur species: kinetics and mechanism of the hydrolysis of cysteine thiosulfinate ester. *Chem. Res. Toxicol.* **20**, 1364–1372.
 77. Mezyk S.P. (1996) Rate constant determination for the reaction of hydroxyl and glutathione thiyl radicals with glutathione in aqueous solution. *J. Phys. Chem.* **100**, 8861–8866.
 78. Zhao R., Lind J., Merenyi G., Eriksen T.E. (1994) Kinetics of one-electron oxidation of thiols and hydrogen abstraction by thiyl radicals from alpha-amino C–H bonds. *J. Am. Chem. Soc.* **116**, 12010–12015.
 79. Kožich V., Schwahn B.C., Sokolová J., Křížková M., Ditroi T., Krijt J., Khalil Y., Křížek T., Vaculíková-Fantlová T., Stibůrková B., Mills P., Clayton P., Barvíková K., Blessing H., Sykut-Cegielska J., Dionisi-Vici C., Gasperini S., García-Cazorla Á., Haack T.B., Honzík T., Ješina P., Kuster A., Laugwitz L., Martignelli D., Porta F., Santer R., Schwarz G., Nagy P. (2022) Human ultrarare genetic disorders of sulfur metabolism demonstrate redundancies in H₂S homeostasis. *Redox Biol.* **58**, 102517.
 80. Amorati R., Lynett P.T., Valgimigli L., Pratt D.A. (2012) The reaction of sulfenic acids with peroxy radicals: insights into the radical-trapping antioxidant activity of plant-derived thiosulfonates. *Chemistry*. **18**, 6370–6379.
 81. Tamba M., Dajka K., Ferreri C., Asmus K.-D., Chatgililoglu C. (2007) One-electron reduction of methanesulfonyl chloride. The fate of MeSO₂ Cl^{•-} and MeSO₂[•] intermediates in oxygenated solutions and their role in the *cis-trans*-isomerization of mono-unsaturated fatty acids. *J. Am. Chem. Soc.* **129**, 8716–8723.
 82. Schöneich C. (2012) Radical-based damage of sulfur-containing amino acid residues. in: *Encyclopedia of Radicals in Chemistry, Biology and Materials*. Eds Chatgililoglu C., Studer A. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, p. rad044.
 83. Dereven'kov I.A., Tsaba L.V., Pokrovskaya E.A., Makarov S.V. (2018) Studies on the interaction of aquacobalamin with cysteinesulfinic and cysteic acids, hypotaurine and taurine. *J. Coord. Chem.* **71**, 3194–3206.
 84. Gupta V., Carroll K.S. (2014) Sulfenic acid chemistry, detection and cellular lifetime. *Biochim. Biophys. Acta.* **1840**, 847–875.
 85. Turell L., Steglich M., Torres M.J., Deambrosi M., Antmann L., Furdui C.M., Schopfer F.J., Alvarez B. (2021) Sulfenic acid in human serum albumin: reaction with thiols, oxidation and spontaneous decay. *Free Radic. Biol. Med.* **165**, 254–264.
 86. Paulsen C.E., Carroll K.S. (2010) Orchestrating redox signaling networks through regulatory cysteine switches. *ACS Chem. Biol.* **5**, 47–62.
 87. Paulsen C.E., Carroll K.S. (2013) Cysteine-mediated redox signaling: chemistry, biology, and tools for discovery. *Chem. Rev.* **113**, 4633–4679.
 88. Lorenzen I., Eble J.A., Hanschmann E.-M. (2021) Thiol switches in membrane proteins – extracellular redox regulation in cell biology. *Biol. Chem.* **402**, 253–269.
 89. Ovalle F., Grimes T., Xu G., Patel A.J., Grayson T.B., Thielen L.A., Li P., Shalev A. (2018) Verapamil and beta cell function in adults with recent-onset type 1 diabetes. *Nat. Med.* **24**, 1108–1112.
 90. Michalek R.D., Nelson K.J., Holbrook B.C., Yi J.S., Stridiron D., Daniel L.W., Fetrow J.S., King S.B., Poole L.B., Grayson J.M. (2007) The requirement of reversible cysteine sulfenic acid formation for T cell activation and function. *J. Immunol.* **179**, 6456–6467.
 91. Pantano C., Reynaert N.L., Vliet A.V.D., Janssen-Heininger Y.M.W. (2006) Redox-sensitive kinases of the nuclear factor-κB signaling pathway. *Antioxid. Redox Signal.* **8**, 1791–806.
 92. Paulsen C.E., Carroll K.S. (2009) Chemical dissection of an essential redox switch in yeast. *Chem. Biol.* **16**, 217–225.
 93. Duan J., Zhang T., Gaffrey M.J., Weitz K.K., Moore R.J., Li X., Xian M., Thrall B.D., Qian W.-J. (2020) Stoichiometric quantification of the thiol redox proteome of macrophages reveals subcellular compartmentalization and susceptibility to oxidative perturbations. *Redox Biol.* **36**, 101649.
 94. Zhang T., Gaffrey M.J., Li X., Qian W.-J. (2021) Characterization of cellular oxidative stress response by stoichiometric redox proteomics. *Am. J. Physiol. – Cell Physiol.* **320**, C182–C194.

Redox-Catalytic Properties of Cobalamins

Yu. V. Shatalin¹, *, V. S. Shubina¹, M. E. Solovieva¹, and V. S. Akatov¹

¹*Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia*

**e-mail: yury.shatalin@yandex.ru*

Vitamin B12, or cobalamin, is essential for normal body function and used in the therapy of different diseases. A several studies have shown that vitamin B12 has anti-inflammatory and antioxidant properties that can play an important role in the prevention of some diseases. On the other hand, it has been reported that vitamin B12 in combination with such reducing agents as ascorbate (vitamin C) and thiols showed prooxidant activity. This review provides information on the roles of vitamin B12 in diseases accompanied by inflammation and oxidative stress and the effects of vitamin B12 administrated alone and in combinations with different reducing agents such as ascorbate and thiols on oxidative stress. In addition, the mechanisms of prooxidant actions of combinations of vitamin B12 with these reducing agents depending on the form of vitamin B12 (hydroxocobalamin and cyanocobalamin) are discussed. Understanding the mechanisms of prooxidant action of vitamin B12 is necessary for developing strategies for therapeutic administration of vitamin B12.

Keywords: hydroxocobalamin, cyanocobalamin, thiol oxidation, reactive oxygen species, cytotoxicity