

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ РАБОТЫ

УДК 616.831–8-08:577.151.33:577.164.14

ЭФФЕКТ МОДУЛЯТОРОВ СИСТЕМЫ БИОСИНТЕЗА КОФЕРМЕНТА А НА ПРОЯВЛЕНИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СТРЕССА И СИСТЕМУ ГЛУТАТИОНА В ЦНС ПРИ АЛЮМИНИЕВОМ НЕЙРОТОКСИКОЗЕ

© 2023 г. Д. С. Семенович³, В. А. Гуринович¹, Е. П. Лукиенко¹, И. Н. Катковская¹, О. В. Титко¹,
Н. П. Канунникова^{2,*}, А. Г. Мойсеёнок¹

¹ГУ “Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси”, Гродно, Беларусь

²Гродненский государственный университет им. Я. Купалы, Гродно, Беларусь

³НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ, Москва, Россия

Поступила в редакцию 01.08.2022 г.

После доработки 04.08.2022 г.

Принята к публикации 09.08.2022 г.

У половозрелых крыс-самок линии Wistar CRL(WI) WUBR моделировали Alzheimer’s-Like Disease внутривенным введением хлорида алюминия в дозе 200 мг/кг массы тела на протяжении 6 недель. На фоне развившегося окислительного стресса (ОС) выявили падение активности ферментов ЦТК и возрастание дегидрогеназ ПФП, падение SH- и SS-групп белков с увеличением соотношения SH/SS и глутатионилирования с одновременным снижением глутатиона (GSH), соотношения GSH/GSSG и его редокс-потенциала. Ферменты системы глутатиона изменялись разнонаправленно при стабильности глутатионредуктазы. Отмечено падение активности ферментов биосинтеза GSH и содержания цистеина. Назначение с 5 недели эксперимента внутривенного введения модуляторов биосинтеза КоА D-пантенола (ПЛ), D-пантетина или D-гомопантотената (ГПК) в дозе 200 мг/кг приводило к ослаблению или нивелированию проявлений окислительного стресса в плазме крови, возрастанию активности ацетилхолинэстеразы, нормализации активности ферментов ЦТК и ПФП, уровня SH-групп (но не соотношения SH/SS) и значительному снижению процесса S-глутатионилирования, росту уровня GSH, соотношения GSH/GSSG и редокс-потенциала в больших полушариях мозга. Эффект модуляторов системы КоА проявился в активации глутатион-трансферазы, снижении глутатионпероксидазы и маловыраженной активации ферментов биосинтеза GSH (ПЛ), хотя они способствовали росту содержания цистеина за счет уменьшения S-цистеинилирования белков. Эффект токсикоза и модуляторов окислительного стресса не проявился на уровне и соотношении КоА/ацетил-КоА (за исключением ПЛ). Возможность некоферментных эффектов подтверждается при назначении ГПК. Обсуждается феномен редокс-активности модуляторов биосинтеза КоА с очевидной направленностью действия на систему глутатиона и активность ферментов ЦТК и ПФП на фоне купирования ОС при алюминиевом нейротоксикозе.

Ключевые слова: алюминиевый нейротоксикоз, биосинтез кофермента А, система глутатиона, окислительный стресс, ферменты цикла трикарбоновых кислот, ферменты пентозофосфатного цикла, D-пантенол, D-пантетин, D-гомопантотенат

DOI: 10.31857/S1027813323010181, EDN: ERGYVL

ВВЕДЕНИЕ

С системой кофермента А (КоА) и его основного ацил-производного ацетил-КоА, являющегося вторичным мессенджером [1] ассоциируются традиционные представления о механизмах воздействия нейродегенеративных факторов, таких как Al, Zn, β-амилоид, избыток NO, падение активности пи-

руватдегидрогеназы и др. [2, 3], приводящих к утрате холинергической функции и ослаблению энергетического метаболизма в дифференцированных нейронах, микроглиальных и астроглиальных клетках в клеточных культурах. В экспериментальной модели болезни Альцгеймера показано, что в холинергических нейронах страдает синтез и выброс ацетилхолина (АХ), лимитированного доступностью ацетил-КоА [4].

Моделирование нейровоспаления, индуцируемого бактериальным липополисахаридом (LPS), обнаруживает резистентность холинергических нейронов, но в микроглиальных клетках с падени-

Принятые в тексте сокращения: КоА – кофермент ацетилирования, ЦТК – цикл трикарбоновых кислот, ПФП – пентозофосфатный путь.

* Адресат для корреспонденции: 230030 Гродно, пл. Тызенгауза, 7; тел +375 29 762 3630; e-mail: n.kanunnikova@grsu.by; andrey.moiseenok@tut.by.

ем жизнеспособности развивается нитрозильный стресс, ингибируются ферменты пируватдегидрогеназного комплекса и цикла Кребса (изоцитратдегидрогеназа, аконитаза, α -кетоглутаратдегидрогеназный комплекс), падает содержание ацетил-КоА и АТФ [5]. Конкуренция за ацетил-КоА митохондриальных (энергетических) и цитоплазматических (АХ-синтезирующих) путей, возможно, определяет высокую восприимчивость холинэргических нейронов к нейродегенеративным патогенным факторам.

Сопутствующим (возможно, равнодействующим) фактором, лимитирующим синтез ацетил-КоА и, соответственно, ацетилхолина, может быть доступность и биосинтез КоА. Впервые описанный в 2001 г. генетический дефект пантотенаткиназы второго типа (PKAN), первого и ключевого фермента биосинтеза КоА, и приводит вследствие мутации гена PANK2 к поражению экстрапирамидной системы, задержке умственного развития и синдрому избыточного накопления железа (NBIA) в *globus pallidus* и *substantia nigra* [6]. Как оказалось впоследствии, NBIA представляет группу нейродегенеративных патологий, включающих BPAN (Beta-propeller Protein-associated Neurodegeneration), CoPAN (CoA-synthetase AN), ацерулоплазмения и некоторые другие аутосомно-рецессивные формы NBIA. Нейродегенеративные синдромы CoPAN и BPAN тесно связаны с мутацией дефосфо-КоА-киназы (КоА-синтазы) ассоциированной с сигнальным путем Akt-mTOR, являющейся модулятором системного клеточного ответа на окислительный стресс (ОС) и ингибитором клеточной аутофагии [7–9]. Это связывает синдром NBIA и, особенно, BPAN патогенетической общностью с “большими” нейродегенерациями типа болезней Паркинсона и Альцгеймера.

Наши ранние исследования системы КоА в ЦНС при моделировании алюминиевого нейротоксикоза и введении подопытным животным *LPS E. coli* показывают драматическое падение фракций общего и свободного КоА на фоне стабильности пантотенаткиназной реакции [10, 11]. Изменения фракций КоА были выявлены как в больших полушариях мозга, так и в гиппокампе, и обусловлены при этом преимущественно действием хлорида алюминия. Введение последнего, как и холинотоксина AF64A, на фоне ОС меняет соотношение GSH/GSSG с падением GSH и общего GSH [12]. Проявление метаболического и окислительного стресса в этих или аналогичных условиях в значительной мере корригировались D-пантенолом — эффективным предшественником КоА, обладающего способностью стабилизировать системы КоА и глутатиона в синапсомембранных [13], а также, вероятно, глиальный ответ на хронический стресс в ЦНС. Способность системы биосинтеза КоА содружественно активировать биосинтез глутатиона — ключевого факто-

ра антиоксидантной защиты нейронов, вероятно, имеет сигнальную природу [14].

Поскольку D-пантенол является ксенобиотическим производным, а D-пантетин физиологическим предшественником КоА, сравнительное изучение эффективности этих соединений при алюминиевом нейротоксикозе представляет значительный интерес. В качестве препарата сравнения избрано назначение D-гомопантотената, являющегося конкурентным ингибитором пантотенаткиназы и воспроизводящим химический нокаут этого фермента в моделях нейродегенеративной патологии [15].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проводили на белых крысах-самках линии Wistar CRL: (WI) WUBR массой 150–200 г, содержащихся в стандартных условиях вивария Института биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси.

Для моделирования метаболических нарушений, характерных для нейродегенеративной патологии, в частности болезни Альцгеймера, нами была использована модель с длительным введением животным хлорида алюминия [16]. Сообщается, что внутрибрюшинное назначение крысам $AlCl_3$ в течение 15 дней вызывало биохимические и ультраструктурные сдвиги в гиппокампе, сходные с Альцгеймер-подобным патологическим процессом с характерными дегенеративными изменениями в пирамидальных нейронах, астроцитах и олигодендроцитах [17].

В нашем эксперименте крысы были разделены на 5 экспериментальных групп ($n = 7$), первой из которых была контрольная группа, получавшая внутрижелудочно физиологический раствор. Для развития алюминиевого нейротоксикоза крысам 2–5 групп внутрижелудочно вводили раствор хлорида алюминия ($AlCl_3$) ежедневно в дозе 200 мг/кг в течение 6 недель. С 5 недели до окончания эксперимента крысам 3, 4 и 5 экспериментальных групп внутрижелудочно вводили следующие препараты в дозах 200 мг/кг: D-пантенол (ПЛ), D-пантетин (ПТ) и гомопантотенат кальция (ГПК).

После декапитации крыс собирали кровь в присутствии гепарина и извлекали мозг, из которого выделяли большие полушария.

Содержание тиобарбитурат-реагирующих соединений (ТБКРС) в плазме крови определяли в реакции с тиобарбитуровой кислотой [18], в мозге — по методу [19]. Содержание свободнорадикальных продуктов, реагирующих с N,N-диметил-*n*-фенилендиамином (ДФАРС), оценивали по методу [20]. Активность супероксиддисмутазы (СОД) определяли с помощью непрямого ферментативного метода, основанного на торможении аутоокисления адреналина в присутствии нитросинего тетразо-

Таблица 1. Изменения общей антиоксидантной активности (ОАА) и продуктов ОС в плазме крови крыс после воздействия хлорида алюминия и введения производных пантотеновой кислоты ($M \pm SD$, $n = 7$)

Группы	ОАА, %	ТБКРС, нмоль/мг белка	ДФАРС, ед/мл
Контроль	59.7 ± 0.8	1.12 ± 0.09	375.64 ± 23.91
$AlCl_3$	$54.0 \pm 1.2^*$	$1.65 \pm 0.13^*$	$406.67 \pm 21.32^*$
$AlCl_3$ + ПЛ	56.5 ± 0.9	$1.31 \pm 0.05\#$	$417.43 \pm 23.76^*$
$AlCl_3$ + ПТ	55.9 ± 1.3	$1.39 \pm 0.17^{*\#}$	$443.86 \pm 30.77^{*\#}$
$AlCl_3$ + ГПК	55.4 ± 1.8	$1.10 \pm 0.05\#$	$321.43 \pm 12.48\#$

Примечание. * — $p < 0.05$ по отношению к контролю, # — $p < 0.05$ по отношению к $AlCl_3$ (ANOVA, тест Тьюки).

лия [21]. Определение карбонильных белков проводили динитрофенилгидразиновым методом [22]. Общую антиоксидантную активность плазмы крови (ОАА) определяли по методу Стокса [23].

Активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ) [24] и 2-оксоглутаратдегидрогеназы (2-ОГДГ) [25] в ткани структур мозга определяли спектрофотометрическим методом, используя в качестве акцептора электронов феррицианид калия. Активность аконитазы измеряли ферментативным методом [26].

Для оценки интенсивности метаболизма по пентозофосфатному пути определяли активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Гл-6-ФДГ) и 6-фосфоглюконатдегидрогеназы (6-ФГДГ) спектрофотометрически с использованием НАДФ [27].

Активность ацетилхолинэстеразы (АХЭ) измеряли по методу Элмана с использованием ацетилтиохолина йодида в качестве субстрата [28]. Содержание церулоплазмينا измеряли по методу [29], активность каталазы по методу [30].

Для оценки тиол-дисульфидного редокс-баланса измеряли содержание общих белковых и небелковых тиолов и дисульфидов, небелковых тиолов спектрофотометрическим методом [31, 32]. Для измерения активности главной редокс-образующей системы клеток — системы глутатиона (GSH) нами было проведено изучение уровня GSH и GSSG, их соотношения и редокс-потенциала. Уровень GSH определяли спектрофотометрически с реактивом Элмана [33], окисленной формы GSSG — ферментативным методом с глутатионредуктазой [32]. Содержание S-глутатионилированных белков измеряли в соответствии с методическими рекомендациями [34].

Другие показатели системы глутатиона в ткани мозга и крови: активность глутатионтрансферазы (ГТ) измеряли в соответствии с методом [35], глутатионредуктазы (ГР) — по методу [36], глутатионпероксидазы (ГПО) — по методу [37]. Активность ферментов биосинтеза глутатиона — гамма-глутамилцистеинсинтетазы (γ -GCS) и глутатионсинтетазы (GS) определяли в соответствии с указаниями [38, 39].

Определение фракций КоА проводили в соответствии с указаниями [40]. Содержание свободного цистеина (CS) и цистеинилированных белков (PSSC) определяли по методу [41]. Содержание общего белка определяли по методу Брэдфорда [42] с использованием стандарта бычьего альбумина.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием программного пакета GraphPad Prism v.6.0. Данные в таблицах представлены в виде $M \pm SD$, где M — среднее значение, SD — стандартное отклонение. Данные проверяли на нормальность распределения по критерию Колмогорова—Смирнова. В случае нормального распределения данных и равенства дисперсий выборок для выявления статистической значимости отличий между группами использовали двухвыборочный непарный t -критерий Стьюдента. Если распределение по выборке отличалось от нормального, то использовали ANOVA с последующим тестом Даннета. Во всех случаях статистически значимыми считали различия при значении $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Исследования показали, что потребление хлорида алюминия в течение 6 недель привело к развитию окислительного стресса, о чем свидетельствуют следующие изменения в плазме крови: повышение уровня ДФАРС и ТБКРС (табл. 1), снижение содержания церулоплазмينا (на 37%) (табл. 2) и ОАА (на 12%) (табл. 1).

Под воздействием $AlCl_3$ наблюдалась также 5-кратная активация СОД без выраженных изменений активности каталазы (табл. 2). Назначение ПТ заметно снижало активность СОД и возвращало уровень церулоплазмينا до значений в контроле, тогда как влияние ПЛ и ГПК на эти показатели проявилось слабее.

Активация свободнорадикального окисления сопровождалась снижением содержания белковых SH-групп (табл. 3), что свидетельствует о сдвигах тиол-дисульфидного баланса в результате длительного токсического воздействия хлорида алюминия. В то же время содержание карбонили-

Таблица 2. Изменения активности каталазы, СОД и уровня церулоплазмينا в плазме крови крыс после воздействия хлорида алюминия и введения производных пантотеновой кислоты ($M \pm SD$, $n = 7$)

Группы	Каталаза, нмоль/мин/мг белка	СОД, Ед/мг белка	Церулоплазмин, мг/л
Контроль	43.41 ± 8.07	0.09 ± 0.04	697.6 ± 26.5
$AlCl_3$	39.09 ± 10.18	$0.47 \pm 0.08^*$	$437.9 \pm 29.6^*$
$AlCl_3$ + ПЛ	37.97 ± 6.63	$0.45 \pm 0.06^*$	$567.3 \pm 33.1^{* \#}$
$AlCl_3$ + ПТ	38.71 ± 6.09	$0.16 \pm 0.06^{\#}$	$679.6 \pm 23.5^{\#}$
$AlCl_3$ + ГПК	30.74 ± 11.79	$0.33 \pm 0.07^{* \#}$	$531 \pm 0.031^{* \#}$

Примечание. * — $p < 0.05$ по отношению к контролю, # — $p < 0.05$ по отношению к $AlCl_3$ (ANOVA, тест Тьюки).

Таблица 3. Изменения состояния белков в плазме крови крыс после воздействия хлорида алюминия и введения производных пантотеновой кислоты ($M \pm SD$, $n = 7$)

Группы	Белковые SH-группы		Карбонилированные белки, нмоль/мг белка
	мкмоль/мл плазмы	мкмоль/мг белка	
Контроль	450.32 ± 13.73	5.58 ± 0.29	0.444 ± 0.035
$AlCl_3$	$396.08 \pm 19.92^*$	$4.89 \pm 0.37^*$	0.450 ± 0.034
$AlCl_3$ + ПЛ	$435.25 \pm 19.01^{\#}$	$4.90 \pm 0.30^*$	0.444 ± 0.052
$AlCl_3$ + ПТ	$453.68 \pm 20.69^{\#}$	$5.09 \pm 0.26^*$	0.426 ± 0.051
$AlCl_3$ + ГПК	$371.32 \pm 18.70^*$	$3.99 \pm 0.35^{* \#}$	$0.534 \pm 0.031^{* \#}$

Примечание. * — $p < 0.05$ по отношению к контролю, # — $p < 0.05$ по отношению к $AlCl_3$ (ANOVA, тест Тьюки).

рованных белков достоверно не изменилось. Дополнительное назначение ПЛ и ПТ, но не ГПК способствовали нормализации уровня тиольных групп белков (особенно заметно по их уровню в плазме крови), а введение ГПК приводило к падению сульфгидрильных групп плазмы крови и больших полушарий мозга, более выраженному, чем эффект хлорида алюминия. Кроме того, ГПК способствовал повышению уровня карбонилирования белков, что достаточно выражено отразило его эффект как потенциального антагониста биосинтеза КоА.

Общепринятым функциональным тестом при моделировании алюминиевого нейротоксикоза является исследование активности ацетилхолинэстеразы. Указывается, что в различных нейроструктурах при моделировании нейродегенеративной патологии активность этого фермента падает или возрастает в зависимости от времени и дозы $AlCl_3$ [43]. В наших исследованиях установлено, что в больших полушариях мозга на фоне длительного потребления крысами хлористого алюминия $per os$ наблюдалось значительное угнетение активности АХЭ, которая снизилась на 46%, что, очевидно, отражает нарушения нейрональной активности на фоне алюминиевого нейротоксикоза (табл. 4). После введения ПЛ и ГПК происходила стабилизация активности АХЭ на значениях, близких в контрольной группе, что только в отношении ПЛ может быть связано с

увеличением ацетил-КоА — субстрата синтеза ацетилхолина, уровень которого в ЦНС при воздействии алюминия снижается.

Несмотря на длительность воздействия хлорида алюминия, не выявлено изменений ключевых метаболитов системы КоА — свободного КоА и ацетил-КоА в ткани больших полушарий головного мозга (табл. 5). Однако при сочетанном введении хлорида алюминия и гомопантотеновой кислоты выявлено падение фракции КоА-SH при стабильности уровня ацетил-КоА. Из двух использованных предшественников КоА только D-пантенол вызвал эффект падения фракции свободного КоА и значительное увеличение содержания ацетил-КоА. Несколько неожиданным оказался эффект предупреждения этого феномена всеми модуляторами КоА, поскольку механизм действия гомопантотената принципиально отличен от пантетина и пантенола. Воздействие ПТ оказалось наиболее выраженным.

Изучение показателей энергетического метаболизма в больших полушариях мозга позволило установить значительное уменьшение интенсивности основных метаболических путей в этой структуре при алюминиевом нейротоксикозе (табл. 6): так, выявлено достоверное угнетение активности ОГДГ (в 2 раза) и аконитазы (на 40%), тогда как активность СДГ оставалась стабильной. Это согласуется с данными работ, в которых было уста-

Таблица 4. Активность ацетилхолинэстеразы в больших полушариях мозга крыс после воздействия хлорида алюминия и введения производных пантотеновой кислоты ($M \pm SD$, $n = 7$)

Группы	АХЭ, нмоль тиохолина/мин/мг белка
Контроль	11.0 ± 0.51
$AlCl_3$	$5.9 \pm 0.79^*$
$AlCl_3$ + ПЛ	$9.1 \pm 0.65^\#$
$AlCl_3$ + ПТ	$6.9 \pm 0.48^*$
$AlCl_3$ + ГПК	$9.4 \pm 0.64^\#$

Примечание. * – $p < 0.05$ по отношению к контролю, # – $p < 0.05$ по отношению к $AlCl_3$ (ANOVA, тест Тьюки).

Таблица 5. Содержание свободного КоASH и ацетил-КоА (нмоль/г ткани) в больших полушариях мозга после воздействия хлорида алюминия и введения производных пантотеновой кислоты ($M \pm SD$, $n = 7$)

Группы	КоASH	Ацетил-КоА
Контроль	23.24 ± 0.73	6.67 ± 0.29
$AlCl_3$	24.08 ± 1.34	7.54 ± 0.37
$AlCl_3$ + ПЛ	$20.46 \pm 0.28^{* \#}$	$9.71 \pm 0.71^{* \#}$
$AlCl_3$ + ПТ	22.41 ± 0.31	7.90 ± 0.47
$AlCl_3$ + ГПК	$19.24 \pm 0.76^{* \#}$	6.96 ± 0.16

Примечание. * – $p < 0.05$ по отношению к контрольной группе; # – $p < 0.05$ по отношению к $AlCl_3$ (ANOVA, тест Тьюки).

новлено снижение активности ОГДГ-комплекса при нейродегенерации [44, 45].

В отношении же влияния производных пантотеновой кислоты можно отметить защитное действие всех изученных производных в отношении активности ОГДГ, тогда как в отношении аконитазы корректирующий эффект не проявился или был слабо выражен (ГПК).

Обращает на себя внимание тот факт, что одновременно с угнетением активности ферментов цикла Кребса отмечалось повышение активности основных ферментов, регулирующих интенсивность метаболизма по пентозофосфатному пути: была обнаружена активация Гл-6-ФДГ и 6-ФДГ в больших полушариях мозга на фоне воздействия хлорида алюминия (табл. 7). Это согласуется с данными работы [46], в которой было установлено, что в мозге больных болезнью Альцгеймера

наблюдалось повышение активности Гл-6-ФДГ, которая является ферментом, лимитирующим скорость метаболизма на первом этапе пентозофосфатного пути, основного пути поддержания цитозольного пула NADPH и, следовательно, редокс-баланса в клетке, опосредованного глутатионредуктазной реакцией.

Все изученные нами производные пантотеновой кислоты проявили высокий корректирующий эффект в отношении активности ферментов пентозофосфатного пути до уровня полной нормализации.

Коль скоро модель алюминиевого нейротоксикоза оказалось весьма патогномичной к нарушению систем КоА и глутатиона, что подтверждено предыдущими исследованиями с полным анализом структуры фракций КоА в больших полушариях и гиппокампе [10], а введение модуляторов биосинтеза КоА проявляет выраженные

Таблица 6. Активность ферментов энергетического метаболизма (нмоль/мг белка/мин) в больших полушариях мозга после воздействия хлорида алюминия и введения производных пантотеновой кислоты ($M \pm SD$, $n = 7$)

Группы	СДГ	ОГДГ	Аконитаза
Контроль	42.53 ± 5.83	11.73 ± 1.63	14.73 ± 1.19
$AlCl_3$	32.80 ± 3.85	$4.963 \pm 0.602^{**}$	$8.80 \pm 1.09^*$
$AlCl_3$ + ПЛ	41.37 ± 6.62	$8.693 \pm 1.112^\#$	$4.11 \pm 0.50^{**}$
$AlCl_3$ + ПТ	38.54 ± 5.02	$11.390 \pm 1.231^\#$	$9.78 \pm 1.22^*$
$AlCl_3$ + ГПК	42.41 ± 2.10	$11.35 \pm 0.92^\#$	10.99 ± 2.89

Примечание. * – $p < 0.05$ по отношению к контролю, # – $p < 0.05$ по отношению к $AlCl_3$ (ANOVA, тест Тьюки).

Таблица 7. Активность ферментов окислительного этапа пентозофосфатного пути (нмоль НАДФН/мг белка/мин) в больших полушариях мозга после воздействия хлорида алюминия и введения производных пантотеновой кислоты ($M \pm SD$, $n = 7$)

Группы	Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа	6-фосфоглюконат-дегидрогеназа
Контроль	29.4 ± 1.8	26.4 ± 1.8
$AlCl_3$	$34.1 \pm 1.4^*$	$31.0 \pm 1.2^*$
$AlCl_3$ + ПЛ	$28.6 \pm 1.6^\#$	$27.4 \pm 1.4^\#$
$AlCl_3$ + ПТ	$27.9 \pm 1.8^\#$	$26.7 \pm 1.6^\#$
$AlCl_3$ + ГПК	$28.1 \pm 1.6^\#$	$27.8 \pm 1.4^\#$

Примечание. * – $p < 0.05$ по отношению к контролю, # – $p < 0.05$ по отношению к $AlCl_3$ (ANOVA, тест Тьюки).

Таблица 8. Содержание белковых тиолов и дисульфидов (мкмоль/г ткани) и глутатионилированных белков (нмоль/г ткани) в больших полушариях мозга после воздействия хлорида алюминия и введения производных пантотеновой кислоты ($M \pm SD$, $n = 7$)

Группы	Белковые тиолы	Белковые дисульфиды	Соотношение белковых SH/SS-групп	S-глутатионилированные белки
Контроль	7.81 ± 0.11	4.03 ± 0.21	1.94 ± 0.13	83.25 ± 7.05
$AlCl_3$	$6.28 \pm 0.61^*$	$2.02 \pm 0.28^*$	$3.15 \pm 0.42^*$	$97.53 \pm 7.35^*$
$AlCl_3$ + ПЛ	$8.31 \pm 0.28^*^\#$	$2.40 \pm 0.23^*^\#$	$3.47 \pm 0.23^*$	89.37 ± 2.45
$AlCl_3$ + ПТ	$8.39 \pm 0.17^*^\#$	$3.32 \pm 0.24^*^\#$	$2.54 \pm 0.19^*$	$75.90 \pm 8.48^\#$
$AlCl_3$ + ГПК	$9.20 \pm 0.30^*^\#$	$3.38 \pm 0.34^*^\#$	$2.74 \pm 0.22^*$	$62.44 \pm 4.69^*^\#$

Примечание. * – $p < 0.05$ по отношению к контролю, # – $p < 0.05$ по отношению к $AlCl_3$ (ANOVA, тест Тьюки).

корректирующие редокс-эффекты, мы исследовали общий редокс-баланс больших полушарий мозга в настоящем эксперименте. Общая оценка событий в тиол-дисульфидном балансе ЦНС свидетельствует (судя по данным показателей ОС в плазме крови) о хронической модификации белков посредством окислительной модификации и нитрозилирования, характерными для алюминиевого нейротоксикоза [15, 16].

Характеристика редокс-статуса ЦНС путем комплексного определения баланса белковых и небелковых SH/SS-групп показала снижение содержания белковых тиолов и дисульфидов с повышением SH/SS-соотношения (табл. 8). При этом производные пантотената оказали модулирующее влияние на показатели тиол-дисульфидного баланса, однако только в отношении белковых тиолов их действие оказалось однонаправленным.

Интересно, что на фоне алюминиевой нейродегенерации повысилось содержание S-глутатионилированных белков (табл. 8), вероятно, отражая протекторные функции этой модификации. С учетом высокой молярной концентрации тиол-модифицированных белков мозга это дает нам ответ на вопрос об основных причинах драматического падения восстановленного глутатиона и его редокс-соотношения в ЦНС при воздействии хлорида алюминия. Практически все модуляторы биосинтеза КоА снизили уровень S-глутатиони-

лированных белков в больших полушариях до уровня контрольной группы или даже ниже этих значений (табл. 8).

Кроме того, важно подчеркнуть то, что основным фактором антиоксидантной защиты и поддержания редокс баланса в мозге является система глутатиона. Нами показано, что хроническое 6-недельное внутрижелудочное введение хлорида алюминия приводит к падению уровня восстановленного глутатиона (на 21%) и значительному увеличению содержания его окисленной формы (на 15%) (табл. 9). При этом происходило сопутствующее уменьшение соотношения GSH/GSSG и, соответственно, сдвиг редокс-потенциала глутатиона в положительную сторону, что свидетельствует о снижении восстановительного потенциала системы глутатиона как основного компонента эффективного редокс-потенциала клетки в условиях алюминиевой нейродегенерации. Все примененные модуляторы биосинтеза КоА, которые вводили на протяжении 5- и 6-ой недель эксперимента, способствовали практически полной нормализации уровня и соотношения окисленной и восстановленной форм глутатиона и редокс-баланса системы глутатиона в больших полушариях мозга.

Вышеуказанные изменения системы глутатиона на фоне действия хлорида алюминия не сопровождались изменениями активности глутатионредуктазы и обеспечением системы глутатиона

Таблица 9. Состояние системы глутатиона (нмоль/мг белка) в больших полушариях мозга после воздействия хлорида алюминия и введения производных пантотеновой кислоты ($M \pm SD$, $n = 7$)

Группы	GSH	GSSG	GSH/GSSG	Eh, мВ
Контроль	28.3 ± 1.0	0.113 ± 0.002	268.4 ± 11.8	-249.3 ± 7.5
$AlCl_3$	$22.0 \pm 2.4^*$	$0.130 \pm 0.003^*$	$168.5 \pm 5.1^*$	$-169.2 \pm 2.4^*$
$AlCl_3$ + ПЛ	$27.0 \pm 2.1\#$	$0.112 \pm 0.002\#$	$231.2 \pm 30.5\#$	$-242.2 \pm 18.5\#$
$AlCl_3$ + ПТ	$27.2 \pm 0.9\#$	0.114 ± 0.03	$229.5 \pm 16.3\#$	$-238.0 \pm 3.7\#$
$AlCl_3$ + ГПК	$24.9 \pm 0.9\#$	0.112 ± 0.002	$209.1 \pm 102^*\#$	$-222.5 \pm 6.88^*\#$

Примечание. * — $p < 0.05$ по отношению к контролю, # — $p < 0.05$ по отношению к $AlCl_3$ (ANOVA, тест Тьюки).

Таблица 10. Активность глутатионредуктазы (ГР), глутатионтрансферазы (ГТ) и ГПО в больших полушариях мозга после воздействия хлорида алюминия и введения производных пантотеновой кислоты ($M \pm SD$, $n = 7$)

Группы	ГР, нмоль NADPH/мин/мг белка	ГТ, нмоль ХДНБ/мин/мг белка	ГПО (t-BOOH), мкмоль GSH/мин/мг белка
Контроль	11.74 ± 1.17	145.90 ± 15.73	36.19 ± 3.02
$AlCl_3$	11.61 ± 1.75	$85.63 \pm 17.35^*$	$65.92 \pm 2.40^*$
$AlCl_3$ + ПЛ	10.69 ± 0.59	$125.90 \pm 11.45\#$	$27.63 \pm 2.08^*\#$
$AlCl_3$ + ПТ	10.58 ± 1.42	$121.70 \pm 10.40\#$	$22.09 \pm 2.65^*\#$
$AlCl_3$ + ГПК	12.63 ± 1.17	$135.00 \pm 10.63\#$	$24.32 \pm 2.68^*\#$

Примечание. * — $p < 0.05$ по отношению к контролю, # — $p < 0.05$ по отношению к $AlCl_3$ (ANOVA, тест Тьюки).

избытком НАДФН (табл. 10), что может быть связано с заметной активацией ферментов окислительного этапа пентозофосфатного пути в этих условиях (см. табл. 7). Активность глутатионтрансферазы при воздействии $AlCl_3$ значительно снизилась (на 42%), а активность ГПО повысилась почти вдвое (табл. 10). При введении производных пантотената активность фермента в значительной мере восстанавливалась (ГТ) или снижалась (ГПО) до значений в контрольной группе.

Исходя из этого, можно полагать, что снижение содержания GSH в этих условиях, скорее, объясняется не изменениями активности ферментов окислительно-восстановительных превращений глутатиона, а усиленным его расходом на экстраклеточный экспорт в глутатионтрансферазной реакции, а также, судя по глутатионпероксидазной реакции, в реакциях посттрансляционной модификации белков на фоне окислительного стресса.

Результаты исследования активности ферментов биосинтеза глутатиона (табл. 11) указывают на его ослабление с предпочтительным снижением γ -глутамилцистеинсинтетазной реакции, зависящей от доступности лимитированного субстрата — цистеина [46]. Все модуляторы биосинтеза КоА не проявили сколько-нибудь выраженного эффекта, что может быть с определенной долей осторожности оговорено в отношении D-пантенола. Только это соединение воздействовало на соотношение КоА/ацетил-КоА в

исследованной нейроструктуре (см. табл. 5) и, возможно, привело к положительному эффекту ацетил-КоА на активность ферментов биосинтеза глутатиона.

Исследование S-глутатионилирования белков (см. табл. 8) в этих условиях приобретает ключевое значение. Высказанное предположение о γ -глутамилцистеинсинтетазной реакции как мишени алюминиевого нейротоксикоза и направленности эффектов модуляторов биосинтеза КоА подтверждается прямым исследованием цистеина. Его падение не столь выражено (13%), но полностью восстанавливается модуляторами системы КоА. Что касается процесса S-цистеинилирования белков в больших полушариях мозга, то этот процесс оказался заметно активированным на фоне действия хлорида алюминия, тогда как уровень цистеина был ниже значений в контрольной группе (табл. 12). Указанные отклонения нивелировались всеми использованными редокс-модуляторами.

ОБСУЖДЕНИЕ

Помимо многочисленных кофакторных функций КоА в протекании ацетил-акцепторных и ацетил-донорных реакций, а также в качестве предшественника фосфопантетеинпротеидов [47], рассматривается неизвестный ранее процесс КоА-илирования ферментов цикла Кребса, β -окисления, метаболизма глюкозы, аминокислот и кетонных тел. Феномен КоА-илирования приобретает

Таблица 11. Активность γ -глутамилцистеинсинтетазы (γ GCS) и глутатионсинтетазы (GS) в больших полушариях мозга после воздействия хлорида алюминия и введения производных пантотеновой кислоты ($M \pm SD$, $n = 7$)

Группы	γ GCS	GS
Контроль	159.9 ± 6.6	143.7 ± 1.4
$AlCl_3$	$122.8 \pm 2.2^*$	$124.6 \pm 1.4^*$
$AlCl_3$ + ПЛ	$136.2 \pm 1.1^{* \#}$	$133.5 \pm 0.9^{* \#}$
$AlCl_3$ + ПТ	$127.7 \pm 1.3^*$	$126.2 \pm 1.4^*$
$AlCl_3$ + ГПК	$123.0 \pm 1.9^*$	$125.1 \pm 1.2^*$

Примечание. * – $p < 0.05$ по отношению к контролю, # – $p < 0.05$ по отношению к $AlCl_3$ (ANOVA, тест Тьюки).

Таблица 12. Содержание свободного цистеина (CSH) и цистеинилированных белков (PSSC) в больших полушариях головного мозга после воздействия хлорида алюминия и введения производных пантотеновой кислоты ($M \pm SD$, $n = 7$)

Группы	CSH	PSSC
Контроль	0.78 ± 0.08	0.82 ± 0.08
$AlCl_3$	$0.68 \pm 0.09^*$	$0.98 \pm 0.07^*$
$AlCl_3$ + ПЛ	$0.76 \pm 0.08\#$	$0.84 \pm 0.05\#$
$AlCl_3$ + ПТ	$0.75 \pm 0.09\#$	$0.89 \pm 0.08\#$
$AlCl_3$ + ГПК	0.73 ± 0.18	$0.79 \pm 0.10\#$

Примечание. * – $p < 0.05$ по отношению к контролю, # – $p < 0.05$ по отношению к $AlCl_3$ (ANOVA, тест Тьюки).

доминирующий характер при ОС и является альтернативным процессу S-глутатионилирования [48]. В качестве основных мишеней КоА-илирования при ОС рассматриваются глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа (регулирующая апоптоз и аксональный транспорт), НАДФ-зависимая изоцитратдегидрогеназа, киназа пируватдекарбоксилазы (PDK2), регулирующая активность пируватдегидрогеназного комплекса, аконитаза и сукцинил-КоА-синтетаза [48]. Это отражает исключительную функцию КоА как метаболического интегратора [49].

По нашим и иным данным в результате длительного воздействия хлорида алюминия происходит усиление образования свободных радикалов, активация ПОЛ и ослабление систем антиоксидантной защиты, проявляющиеся не только в мозге, но и на уровне целого организма. Эти изменения сопровождаются накоплением продуктов ОС и снижением содержания сульфгидрильных групп в белках плазмы крови.

В ЦНС эффекты последствия поступления хлорида алюминия наиболее выражены. Обращают на себя внимание изменения тиол-дисульфидного статуса в больших полушариях мозга, где сдвиг редокс-баланса проявляется в первую очередь на белковой фракции, где происходит снижение содержания и тиолов и в еще большей степени белковых дисульфидов, в результате чего соотношение белковых SH/SS-групп оказывается повышенным. Одновременно отмечается повышение содержания S-глутатионилированных белков.

Очевидно, что важную роль в поддержании редокс-баланса в нервной ткани играет система глутатиона, в которой на фоне действия хлористого алюминия содержание GSH уменьшается, а содержание GSSG увеличивается, в результате чего соотношение GSH/GSSG меньше, чем в контрольной группе. В результате редокс-потенциал системы глутатиона сдвигается в сторону окисления, что драматически сказывается на редокс-сигналинге [14].

Изменения содержания свободного цистеина и цистеинилированных белков на фоне нейродегенерации аналогичны таковым показателям системы глутатиона и являются подтверждением важной роли процессов глутатионилирования, цистеинилирования и, очевидно, КоА-илирования в посттрансляционной модификации белков, клеточной сигнализации и регуляции основных метаболических путей [14, 50], стабильного поддержания редокс-баланса в сохранении жизнедеятельности в клетках в условиях токсического поражения ткани мозга [10, 51]. По-видимому, происходящий на фоне алюминиевого нейротоксикоза сдвиг редокс-баланса за счет изменений тиол-дисульфидного статуса системы глутатиона может быть связан с ослаблением интенсивности реакций цикла трикарбоновых кислот и одновременной активацией пентозофосфатного пути метаболизма и, соответственно, усилением образования $NADPH^+$, в т.ч. для стабилизации глутатионредуктазной реакции. Снижение активности ферментов ЦТК, в частности, активности ОГДГ-комплекса являет-

ся одним из компонентов вклада окислительного стресса в развитие нейродегенеративной патологии, прежде всего вследствие дефицита сукцинил-КоА [52], и это может быть связано с посттрансляционной модификацией белка ОГДГ вследствие реакций глутатионилирования, системной модификации ферментов ЦТК за счет КоА-илирования или прямым результатом ослабления биосинтеза КоА [53].

С точки зрения митохондриального метаболизма, может иметь значение новый элемент посттрансляционной модификации белков, происходящий с участием предшественника биосинтеза КоА (и продукта его гидролиза), а именно 4'-фосфопантетеинилирование. Этот процесс имеет внутримитохондриальную локализацию, не содружественен КоА-илированию и имеет прямое отношение к регуляции реакции липоилирования мультиферментных комплексов окисления α -кетокислот [54].

В оценке митохондриальной дисфункции при моделировании болезни Альцгеймера исходят из ее ключевой роли в нарушении нейронального метаболизма, продукции АТФ, Ca^{2+} -сигналинга, мембранного потенциала и эффективной нейротрансмиссии [17]. Область коры больших полушарий и гиппокампа особенно чувствительна к воздействию ОС по причине относительно низкого уровня антиоксидантов и низкой способности нейронов к восстановлению. Патоморфологические изменения митохондрий и их подверженность воздействию аномальных белковых агрегатов (амилоидный пептид, тау-белок), продуктов ОС и токсинов характерны для клинических и экспериментальных находок при болезни Альцгеймера и ее моделировании [17]. Иммуногистохимическое исследование с использованием КоА-высокоспецифичных моноклональных антител показывает ассоциации КоА-илированных белков с тау-позитивными нейрофибрилярными клубками [55]. Тем не менее, несомненная роль КоА-дефицита в патогенезе нейродегенеративного синдрома может быть существенно дополнена вновь выявленными функциями 4'-фосфопантетеина [54, 56] и, очевидно, некоторых ацил-КоА-метаболизирующих ферментов, например таких, как стеарил-КоА-десатураза — экспрессируемая в мозге (изоформа SCD2) и патогенетически ассоциированная с нейродегенеративными заболеваниями [49, 57].

Иным, столь же мало изученным, эффектом модуляторов биосинтеза КоА является их воздействие на уровень и степень восстановленности клеточного глутатиона. Предполагается, что активация биосинтеза КоА приводит к увеличению биосинтеза глутатиона на уровне γ -глутамилцистеинсинтазной реакции [58], хотя некоторые производные пантотената могут воздействовать на экспорт глутатиона из клетки. Следует учитывать и

многократное концентрационное различие КоА и глутатиона в субклеточных структурах [53], а также роль в тиол-дисульфидном статусе тканей редокс-пар — пантетеин/пантетин и их фосфо-аналогов и дефосфо-КоА [14].

В последнее время уделяется большое внимание поиску редокс-модулирующих фармакологических агентов для предупреждения онкологической, эндокринологической и сердечно-сосудистой патологии, а также для предупреждения и коррекции процесса нейродегенерации. С этой точки зрения в арсенал редокс-фармакологии могут быть рекомендованы предшественники биосинтеза КоА. В наших исследованиях показано наличие редокс-модулирующего эффекта у таких производных пантотеновой кислоты, как пантенол и пантетин. Пантетин, пантенол и ГПК нормализуют инициированное хлоридом алюминия усиление образования свободно-радикальных продуктов и модулируют редокс-баланс ткани мозга за счет повышения редокс-потенциала системы глутатиона, причем пантетин прогнозируемо снижает уровень небелковых дисульфидов, а широко известный D-пантенол проявляет несомненную редокс-протективную (нейро-протективную? [59]) активность. Эффект модуляторов биосинтеза КоА наблюдается и в отношении активности дегидрогеназ пентозофосфатного пути, отражая активацию основного пути наработки NADPH^+ при нарушении пула глутатиона и энергообразования в цикле трикарбоновых кислот в ЦНС.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Воспроизведение алюминиевого нейротоксикоза у половозрелых белых крыс-самок (Al_3Cl_3 — 200 мг/кг внутрижелудочно 6 недель) приводит к развитию ОС с нарушением редокс-статуса, системы глутатиона, активности ферментов ЦТК, ПФП при стабильности уровня КоА и ацетил-КоА в больших полушариях мозга. Назначение с 5 недели эксперимента предшественников биосинтеза КоА (пантенол, пантетин) или его ингибитора (гомопантотенат) в целом обнаруживает сходные эффекты модуляции изученных показателей, включая S-глутатионилирование и S-цистеинилирование белков и редокс-потенциал системы глутатиона, что предполагает некоферментные (редокс-опосредованные) эффекты модуляторов биосинтеза КоА.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке гранта 3.06 ГПНИ “Конвергенция” Республики Беларусь, 2016–2020 гг.; 1.64 ГПНИ Республики Беларусь “Биотехнологии”, 2019–2020 гг.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Конфликт интересов. Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Этическое одобрение. Все эксперименты с лабораторными животными выполнялись в соответствии с этическими нормами, а также правилами проведения научных работ с использованием экспериментальных животных в научных исследованиях, составленными на основании Директивы 2010/63/EU и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях, от 22.09.2010 г.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Pietrocola F., Galluzzi L., Bravo-San Pedro J.M., Madeo F., Kroemer G. // *Cell Metabolism*. 2015. V. 21. № 6. P. 805–821.
2. Szutowicz A., Bielarczyk H., Ronowska A., Gul-Hinc S., Klimaszewska-Łata J., Dyś A., Zysk M., Pawełczyk T. // *Biochem. Soc. Trans.* 2014. V. 42. № 4. P. 1101–1116.
3. Szutowicz A., Bielarczyk H., Ronowska A. // *Neurochem. Res.* 2013 V. 38. № 8. P. 1523–1542.
4. Ronowska A., Szutowicz A., Bielarczyk H., Gul-Hinc S., Klimaszewska-Łata J., Dyś A., Zysk M., Jankowska-Kulawy A. // *Front. Cell. Neurosci.* 2018. V. 10. № 12. P. 169.
5. Ferreira-Vieira T.H., Guimaraes I.M., Silva F.R., Ribeiro F.M. // *Current Neuropharmacol.* 2016. V. 14. № 1. P. 101–115.
6. Klimaszewska-Łata J., Gul-Hinc S., Bielarczyk H., Ronowska A., Zysk M., Grużewska K., Pawełczyk T., Szutowicz A. // *J. Neurochem.* 2015. V. 133. № 2. P. 284–297.
7. Venco P., Dusi S., Valletta L., Tiranti V. // *Biochem. Soc. Trans.* 2014. V. 42. № 4. P. 1069–1074.
8. Paudel R., Li A., Wiethoff S., Bandopadhyay R., Bhatia K., Silva R., Houlden H., Holton J. L. // *Acta Neuropathol. Commun.* 2015. V. 3. P. 39.
9. Hogarth P. // *J. Movement Disorders.* 2015 V. 8. № 1. P. 1–13.
10. Moiseenok A.G., Omelyanchik S.N., Gurinovich V.A., Evkovich I.N., Petukhova T.P. // *News Biomedical Sciences.* 2005. V. 1. P. 51–55.
11. Moiseenok A.G., Omel'yanchik S.N., Sheval'e A.A., Katkovskaya I.N., Elchaninova M.A., Pekhovskaya T.A., Kovalenchik I.L. // *Neurochem. J.* 2010. V. 4. № 1. P. 30–34.
12. Stepanichev M., Libe M.L., Chernyshevskaya I.A., Moiseenok A.G., Gulyaeva N.V. // *Neurochem. J.* 2007. V. 1. № 3. P. 244–248.
13. Слышенков В.С., Курко С.Н., Мойсеев А.Г. // *Весті НАН Беларусі.* 2005. № 2. С. 78–81.
14. Мойсеев А.Г. // *Биохимия и молекулярная биология: сб. науч. тр. Минск.* 2019. Вып. 3. С. 91–93.
15. Zhang Y.-M., Chohnan S., Virga K.G., Stevens R.D., Ilkayeva O.R., Wenner B.R., Bain J.R., Newgard C.B., Lee R.E., Rock C.O., Jackowski S. // *Chemistry & Biology.* 2007. V. 14. P. 291–302.
16. Prakash A., Kumar A. // *Basic Clin. Pharm. Toxicol.* 2009. V. 105. P. 98–104.
17. Aboehwata H.R., El-Kott A.F., Abd-Ella E.M., Yousef H.N. // *Brain Sci.* 2020. V. 10. P. 628. <https://doi.org/10.3390/brainsci10090628>
18. Grintzalis K., Zisimopoulos D., Grune T., Weber D., Georgiou C.D. // *Free Rad. Biol. Med.* 2013. V. 59. P. 27–35.
19. Durfinova M., Brechtlova M., Liska B., Baroskova Z. // *Chem. Pap.* 2007. V. 61. № 4. P. 321–325.
20. Verde V., Fogliano V., Ritieni A., Maiani G., Morisco F., Caporaso N. // *Free Radical Research.* 2002. V. 36. № 8. P. 869–873.
21. Сипома Т.В. // *Биомед. химия.* 2013. Т. 59. Вып. 4. С. 399–410.
22. Levine R.L., Garland D., Oliver C.N., Amici A., Climent I., Lenz A.G., Ahn B.W., Shaltiel S., Stadtman E.R. // *Methods Enzymol.* 1990. V. 186. P. 464–478.
23. Stocks J., Gutteridge J.M., Sharp R.J., Dormandy T.L. // *Clinical Science and Molecular Medicine.* 1974. V. 47. № 3. P. 215–222.
24. Ещенко Н.Д., Вольский Г.Г. // *Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен).* Л.: Изд-во ЛГУ. 1982. С. 207–212.
25. Биссвангер Х. *Практическая энзимология* М.: Бинном. 2013. С. 132.
26. Quirós P.M. // *Meth. Mol. Biol.* 2018. V. 1731. Human Press, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7595-2_5
27. Ninfali P., Aluigi G., Pompella A. // *Brain Research Protocols.* 1997. V. 1. № 4. P. 357–363.
28. Ellman G.L., Courtney K.D., Andres V., Feather-Stone R.M. // *Biochem. Pharmacol.* 1961. V. 7. № 2. P. 91–95.
29. Камышников В.С. *Справочник по клинико-биологической лабораторной диагностике* 2002. Т. 2. 2-е издание. 463 с.
30. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. // *Лаб. дело.* 1988. № 1. С. 16–19.
31. Patsoukis N., Georgiou C.D. // *Anal. Bioanal. Chem.* 2004. V. 378. № 7. P. 1783–1792.
32. Anderson M. // *Methods Enzymol.* 1985. V. 113. P. 548–555.
33. Rahman I., Kode A., Rahman I., Biswas S.K. // *Nat. Protoc.* 2006. V. 1. № 6. P. 3159–3165.
34. Menon D.A., Board P.G. // *Anal. Biochem.* 2013. V. 433. P. 132–136.
35. Habig W.H., Pabst M.J., Jakoby W.B. // *J. Biol. Chem.* 1974. V. 249. № 22. P. 7130–7139.
36. Smith I.K., Vierheller T.L., Thorne C.A. // *Anal. Biochem.* 1988. V. 175. P. 408–413.
37. Flohé L., Günzler W.A. // *Methods Enzymol.* 1984. V. 105. P. 114–121.
38. Volohonsky G., Tuby C.N., Porat N., Wellman-Rousseau M., Visvikis M.A., Leroy P., Rashi S., Steinberg S., Stark A.-A. // *Chem. Biol. Interact.* 2002. V. 140. № 1. P. 49–65.
39. Oppenheimer L. // *J. Biol. Chem.* 1979. V. 254. № 12. P. 5184–5190.
40. Гуринович В.А., Дорофей Д.С. // *Эксперим. и клинич. фармакол. Матер. межд. науч.-практич. конф., Гродно, ГрГМУ.* 2011. С. 49–53.
41. Patsoukis N., Georgiou C.D. // *Anal. Bioanal. Chem.* 2004. V. 378. P. 1783–1792.
42. Bradford M.M. // *Anal. Biochem.* 1976. V. 72. P. 248–254.
43. Verstraeten S.V., Aimo L., Oteiza P.I. // *Arch. Toxicol.* 2008. V. 82(11). P. 789–802.

44. Shi Qingli, Xu Hui, Kleinman W.A., Gibson G.E. // *Biochimica et Biophysica Acta*. 2008. V. 1782. P. 229–238.
45. Mastrogiacomo F., Bergeron C., Kish S.J. // *J. Neurochem.* 1993. V. 61. P. 2007–2014.
46. Bubber P., Haroutunian V. // *Ann. Neurol.* 2005. V. 57. P. 695–703.
47. Мойсеёнок А.Г. Пантотеновая кислота (биохимия и применение витамина). Минск. 1980. С. 33–48.
48. Gout I. // *Biochem. Soc. Trans.* 2018. V. 46. № 3. P. 721–728.
49. Dobrzyn P. // *Int. J. Mol. Sci.* 2022. V. 23. № 8. P. 4371. doi.org/https://doi.org/10.3390/ijms23084371
50. Todorovic S.M., Jevtovic-Todorovic V. // *Antioxid. Redox Signal.* 2016 V. 21. № 6. P. 880–891.
51. Семенович Д.С., Канунникова Н.П., Мойсеёнок А.Г. // Докл. НАН Беларуси. 2020. Т. 64. № 1. С. 78–85.
52. Subramanian C., Yao J., Frank M.W., Rock C.O., Jackowski S. // *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis.* 2020. V. 1866. № 5. P. 165663. https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2020.165663
53. Czumaj A., Szrock-Jurga S., Hebanowska A., Turyn J., Swierczynski J., Sledzinski T., Stelmanska E. // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. V. 21. P. 9057. https://doi.org/10.3390/ijms21239057
54. Мойсеёнок А.Г., Гуринович В.А., Катковская И.Н., Лукиенко Е.П., Максимчик Ю.З. // Кислород и свободные радикалы: сб. матер. науч.-практ. конф. с междунар. участ. Гродно. ГрГМУ. 2022. С. 116–118. https://drive.google.com/drive/folders/1YdEwdKD-KuY_5K2gMxfDarDuu_xDvOfcp?usp=sharing
55. Lashley T., Tossounian M.-A., Heaven N.C., Wallworth S., Peak-Chew S., Bradshaw A., Cooper J.M., Silva R., Srai S.K., Malanchuk O., Filonenko V., Koopman M.B., Rüdiger S.G.D., Skehel M., Gout I. // *Front. Cell Neurosci.* 2021. V. 15. P. 739425. https://doi.org/10.3389/fncel.2021.739425
56. Мойсеёнок А.Г., Катковская И.Н. // Сборник статей междунар. науч.-практ. конф. посвящ. 50-летию Института биохимии биологически активных соединений НАНБ, Гродно. 2021. С. 305–314.
57. O'Neill L.M., Guo C.A., Ding F., Phang Y.X., Liu Z., Shamsuzzama S., Ntambi J.M. // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. V. 21. P. 8619. https://doi.org/10.3390/ijms23084371
58. Iskusnykh I.Y., Zakharova A.A., Pathak D. Glutathione in Brain disorders and aging. *Molecules*. 2022. V. 27. P. 324.
59. Онуфриев М.В., Степанчиков М.Ю., Лазарева Н.А., Катковская И.Н., Тишкина А.О., Мойсеёнок А.Г., Гуляева Н.В. // *Нейрохимия*. 2010. Т. 27. № 2. С. 170–175.

Enzyme a Biosynthesis System on Manifestation of Metabolic Stress and Glutathione System in the CNS under Aluminium Neurotoxicosis

D. S. Semenovich^a, V. A. Gurinovich^a, E. P. Lukiyenko^a,
I. N. Katkovskaya^a, O. V. Titko^a, N. P. Kanunnikova^b, and A. G. Moiseenok^a

^a*Institute of Biochemistry of Biologically Active Substances, NAS of Belarus, Grodno, Belarus*

^b*Yanka Kupala's Grodno State University, Grodno, Belarus*

^c*Belozersky Research Institute of Physico-Chemical Biology MSU, Moscow, Russia*

Alzheimer's-like disease was simulated in female adult Wistar CRL(WI) WUBR rats by 6-week intragastric administration of aluminium chloride at a dose of 200 mg/kg body mass. In the presence of developed oxidative stress (OS), we found a decrease in the activities of tricarboxylic acid cycle (TCA cycle) enzymes and an increase in the activities of pentose phosphate pathway (PPP) dehydrogenases as well as a reduction of SH- and SS-groups in proteins (P) along with the increased SH/SS ratio and glutathionylation with simultaneous decreases of glutathione (GSH) and the GSH/GSSG ratio and its redox potential in the brain hemispheres. The glutathione system enzymes were changed multidirectionally, with glutathione reductase remaining stable. Decreased activities of GSH biosynthesis enzymes and cysteine content were noticed. The intragastric administration of the CoA biosynthesis modulators D-panthenol (PL), D-pantethine or D-homopantothenate (HPA) at a dose of 200 mg/kg since the 5th week of the experiment caused either reduction or leveling of OS manifestations in blood plasma, an increase in acetyl cholinesterase, normalization of the activities of TCA cycle and PPP enzymes, P-SH level (not the SH/SS ratio) and a considerable reduction of S-glutathionylation as well as increases in GSH level, the GSH/GSSG ratio and redox potential in the hemispheres. The effect of CoA system modulators was manifested in activation of glutathione transferase, a decrease of glutathione peroxidase and less evident activation of GSH biosynthesis enzymes (PL) although they contributed to the elevation of cysteine content due to the reduced protein S-cysteinylation. The levels and the ratio of CoA/acetyl-CoA (except for PL) were not changed by toxicosis and the OS modulators. The feasibility of non-coenzyme effects was confirmed by the administration of HPA. The phenomenon of redox activity of the CoA biosynthesis modulators with clearly directional effects on the glutathione system and the TCA cycle and PPP enzymes during alleviation of OS and aluminium neurotoxicosis is discussed.

Keywords: aluminium neurotoxicosis, CoA biosynthesis, glutathione system, oxidative stress, tricarboxylic acid cycle enzymes, pentose phosphate pathway enzymes, D-panthenol, D-pantethine, D-homopantothenate