

ISSN 1561-8323 (Print)
ISSN 2524-2431 (Online)

БИОЛОГИЯ

BIOLOGY

УДК 577.14:577.171.55:616.8-08

<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-6-481-489>

Поступило в редакцию 05.12.2022

Received 05.12.2022

**Н. П. Канунникова^{1,2}, Д. С. Семенович^{1,3}, И. Н. Катковская¹, О. В. Титко¹,
Е. П. Лукиенко¹, В. А. Гуринович¹, член-корреспондент А. Г. Мойсеёнок¹**

¹Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси,
Гродно, Республика Беларусь

²Гродненский государственный университет имени Янки Купалы, Гродно, Республика Беларусь

³Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А. Н. Белозерского
Московского государственного университета, Москва, Российская Федерация

МОДЕЛИРОВАНИЕ РЕДОКС-ДИСБАЛАНСА И ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В ГИППОКАМПЕ ПРИ АЛЮМИНИЕВОМ НЕЙРОТОКСИКОЗЕ И ИНИЦИИРОВАНИИ БИОСИНТЕЗА КОФЕРМЕНТА А

Аннотация. У половозрелых крыс-самок линии Wistar CRL: (WI) WUBR вызывали альцгеймероподобный патологический процесс с использованием хлорида алюминия (200 мг/кг, внутривентрикулярно, 6 недель) с целью моделирования редокс-дисбаланса и окислительного стресса в гиппокампе и оценки возможностей их коррекции двухнедельным назначением модуляторов биосинтеза кофермента А (пантенола, пантетина, гомопантотената в дозе 200 мг/кг, внутривентрикулярно на протяжении 2 недель). На фоне активации процессов перекисного окисления и падения активности ацетилхолинэстеразы (АХЭ) наблюдали снижение восстановительного потенциала глутатиона и уровня кислоторастворимой фракции КоА с одновременным увеличением активности глутатион-метаболизирующих ферментов (GR, GPx, GST), процесса S-глутатионилирования белков и уровня белковых тиолов. Введение предшественников биосинтеза КоА в полной (пантенол, пантетин) или в частичной (гомопантотенат) мере оказывало антиоксидантный эффект, восстанавливало активность АХЭ, уровень и восстановительный потенциал глутатиона и глутатион-метаболизирующих ферментов, процесс S-глутатионилирования и стимулировало активность ферментов, генерирующих НАДФН⁺. С учетом низкого эффекта предшественников кофермента на уровень КоА в гиппокампе и высокую редокс-фармакологическую активность предполагается их внекоферментное действие на редокс-механизмы, приводящие к увеличению биодоступности восстанавливающих эквивалентов и энергетического статуса.

Ключевые слова: окислительный стресс, алюминиевый нейротоксикоз, гиппокамп, глутатион, пентозофосфатный путь, производные пантотеновой кислоты

Для цитирования. Моделирование редокс-дисбаланса и окислительного стресса в гиппокампе при алюминиевом нейротоксикозе и иницировании биосинтеза кофермента А / Н. П. Канунникова [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2023. – Т. 67, № 6. – С. 481–489. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-6-481-489>

**Nina P. Kanunnikova^{1,2}, Dmitry S. Semenovich^{1,3}, Inna N. Katkovskaya¹, Oksana V. Titko¹,
Elena P. Lukiyenko¹, Valery A. Gurinovich¹, Corresponding Member Andrey G. Moiseenok¹**

¹Institute of Biochemistry for Biologically Active Substances of the National Academy of Sciences, Grodno, Republic of Belarus

²Yanka Kupala Grodno State University, Grodno, Republic of Belarus

³Research Institute of Physical and Chemical Biology named after A. N. Belozersky of the Moscow State University,
Moscow, Russian Federation

MODELLING THE REDOX IMBALANCE AND OXIDATIVE STRESS IN THE HIPPOCAMPUS AT ALUMINUM NEUROTOXICITY AND INITIATING THE COENZYME A BIOSYNTHESIS

Abstract. An Alzheimer-like pathological process was induced in mature female Wistar CRL: (WI) WUBR rats using aluminum chloride (200 mg/kg, intragastrically, 6 weeks) in order to model redox imbalance and oxidative stress (OS) in the hippocampus and study the possibilities of their correction 2 weekly administration of coenzyme A biosynthesis modulators (panthenol – PL, pantethine – PT, homopantothenate – HP) at a dose of 200 mg/kg intragastrically for 2 weeks). Against the

background of activation of peroxidation processes and a decrease in acetylcholinesterase activity, a decrease in the reduction potential of glutathione and the level of the acid-soluble fraction of CoA was observed with a simultaneous increase in the activity of glutathione-metabolizing enzymes (GR, GPx, GST), the process of S-glutathionylation of proteins and the level of protein thiols. The consumption of the precursors of CoA biosynthesis in full (PL, PT) or in part (HP) had an antioxidant effect, restored the activity of AChE, the level and reduction potential of glutathione and glutathione-metabolizing enzymes, the process of S-glutathionylation, and stimulated the activity of enzymes generating NADPH⁺. Taking into account the low modulating effect of coenzyme precursors on the level of CoA in the hippocampus and their high redox pharmacological activity, their non-coenzymatic effect on redox mechanisms leading to an increase in the bioavailability of reducing equivalents and energy status is assumed.

Keywords: oxidative stress, aluminum neurotoxicosis, hippocampus, glutathione, pentose phosphate pathway, pantothenic acid derivatives

For citation. Kanunnikova N. P., Semenovich D. S., Katkovskaya I. N., Titko O. V., Lukiyenko E. P., Gurinovich V. A., Moiseenok A. G. Modelling the redox imbalance and oxidative stress in the hippocampus at aluminum neurotoxicity and initiating the coenzyme A biosynthesis. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2023, vol. 67, no. 6, pp. 481–489 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-6-481-489>

Введение. Одной из релевантных моделей для оценки редокс-статуса ЦНС и возможности его коррекции является алюминиевый нейротоксикоз, реально проявляющийся развитием альцгеймероподобного заболевания и, как показали наши предыдущие исследования [1], приводящий к глубоким нарушениям редокс-статуса белков и системы глутатиона в больших полушариях мозга. Современные представления о роли окислительного стресса (ОС) в патогенезе нейродегенеративной патологии обогащены понятием «редокс-кода», получающим свое наполнение использованием новых или модифицированных моделей заболеваний и применением факторов, относящихся к редокс-фармакологии, мишенью которых являются ключевые факторы антиоксидантной защиты в мозге (глутатион), металлсодержащие структуры и белковые тиолы [2].

Мембранотропные эффекты алюминия были подробно исследованы на эритроцитах [3]. Установлено также, что ионы алюминия (Al³⁺) легко проникают в головной мозг и принимают активное участие в развитии нейродегенеративных процессов в ткани мозга и ухудшении когнитивных функций [4], однако механизмы их действия на изменения окислительно-восстановительного баланса исследованы недостаточно. Алюминий не является редокс-активным металлом, однако способен усиливать прооксидантные свойства ионов железа и меди [5]. Нейротоксическое действие солей алюминия приводит к инициированию ОС, снижению активности ацетилхолинэстеразы в головном мозге, вызывая нарушения функционирования холинергических нейронов, характерные для болезни Альцгеймера (БА) [2]. Токсические эффекты алюминия опосредуются также через нарушения биоэнергетических функций митохондрий, усиление продукции активных форм кислорода и снижение активности антиоксидантных ферментов. Al³⁺ угнетает активность репарационных ферментов ДНК, модулирует сигнальные пути с участием ядерного фактора NF-κB, MAPK-сигнальные пути – p53 и JNK, вызывает снижение активности РНК-полимеразы путем связывания с цинковыми пальцами белковых факторов транскрипции, нарушения в самоагрегации высокофосфорилированных белков цитоскелета (нейрофиламентов) или связанных с ними микротрубочек и белка Aβ, которые участвуют в патогенезе БА [6].

Наряду с патологическими изменениями в больших полушариях, наиболее выраженные морфологические и биохимические изменения при БА отмечаются в гиппокампе [7]. При этом хотя дегенерация гиппокампа наблюдается и при других нейродегенеративных заболеваниях, степень повреждения ткани гиппокампа заметно выше при БА. Гиппокамп играет ключевую роль в консолидации следов памяти, а также обеспечивает способность к нейрогенезу во взрослом состоянии. В пожилом возрасте в первую очередь повреждения гиппокампа ответственны за снижение когнитивных функций, характерное для БА. Хотя этиология БА до настоящего времени не до конца понятна, известно, что в этиопатогенезе БА задействованы нейровоспаление, накопление пептидов Aβ и фосфорилированного тау-белка, а также развитие окислительного стресса [8].

Глутатион (GSH), важнейший эндогенный антиоксидант в головном мозге, присутствует в ЦНС в больших количествах с общим содержанием до 3,4 мкмоль/г и в наибольшей концентрации обнаруживается в глиальных клетках коры [9]. Поглощение глутатиона, преимущественно

синтезируемого на периферии, происходит с высокой скоростью в гипоталамусе, среднем и продолговатом мозге, гиппокампе и коре больших полушарий [7].

Целью настоящего исследования была характеристика системы глутатиона в гиппокампе, который аргументированно относят к нейроструктурам с высоким редокс-ландшафтом и высокой активностью системы биосинтеза кофермента А (КоА), важнейшего кофактора энергетического метаболизма, участника биосинтеза ацетилхолина (в форме ацетил-КоА) и фактора нейропротекции при ряде известных нейродегенеративных процессов [1; 9] и изучение способности производных пантотеновой кислоты нивелировать изменения редокс-статуса и энергетического метаболизма в гиппокампе в условиях алюминиевого нейротоксикоза.

Материалы и методы исследования. Были использованы крысы-самки линии Wistar CRL: (WI) WUBR массой 180–200 г, содержащиеся в стандартных условиях вивария. 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 рекомендаций и требований «Всемирного общества защиты животных (WSPA)» и «Европейской конвенции по защите экспериментальных животных» (Страсбург, 1986).

Для развития алюминиевого нейротоксикоза животным в течение 6 недель ежедневно вводили хлорид алюминия (200 мг/кг, внутривенно) [5]. С 5-й недели эксперимента на протяжении 14 дней ежедневно вводили производные пантотеновой кислоты – D-пантенол (ПЛ), D-пантетин (ПТ) или гомопантотенат кальция (ГПК) по 200 мг/кг, внутривенно. После декапитации крыс извлекали головной мозг и с охлаждением выделяли гиппокамп.

Базальный, спонтанный и Fe^{2+} /аскорбат-индуцированный уровни ТБКРС измеряли в соответствии с методическими указаниями [10]. Общая антиоксидантная активность (ОАОА) определялась по восстановлению катион-радикалов ABTS и выражалась в восстановительных эквивалентах глутатиона [11]. Содержание КоА и его фракций определяли используя метод [12] в нашей модификации.

Содержание общего, восстановленного и окисленного глутатиона определяли ферментативным рециклическим методом с использованием глутатионредуктазы [13]. Активность глутатионпероксидазы (GPx, КФ 1.11.1.9), глутатион-S-трансферазы (GST, КФ 2.5.1.18) и глутатионредуктазы (GR, КФ 1.6.4.2) определяли кинетическими спектрофотометрическими методами [14–16] соответственно. Содержание S-глутатионилированных белков определяли спектрофлуориметрическим методом [17]. Уровень белковых тиолов и дисульфидов измеряли по методу Patsoukis, Georgiou [18]. Активность ферментов пентозофосфатного цикла определяли в соответствии с указаниями Ninfali и соавт. [19]. Измерение общего белка проводили методом Брэдфорда.

Экспериментальные данные подвергались статистической обработке с использованием программ Microsoft Excel 2016, GraphPad Prism 6.0 и были представлены в виде $M \pm SD$, где M – среднее значение, SD – стандартное отклонение. Использован однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с применением теста Тьюки и установлением статистически значимых различия при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. О развитии ОС и происходящей в гиппокампе животных с нейротоксикозом активации перекисного окисления липидов (ПОЛ) свидетельствует повышение исходного уровня свободных ТБКРС (на 18 %), спонтанно-индуцированного (на 45 %) и особенно Fe^{2+} /аскорбат-индуцированного (на 49 %) содержания конечных продуктов ПОЛ (табл. 1). При этом отмечалось снижение общей антиоксидантной активности на 22 %. Назначение пантенола, пантетина и ГПК способствовало снижению базального уровня ТБКРС, тогда как в отношении индукции образования свободнорадикальных продуктов и общей антиоксидантной активности корректирующее влияние ГПК и отчасти пантетина было менее выраженным, чем в случае применения ксенобиотического предшественника КоА – пантенола.

Основные структуры мозга, в которых происходят явления нейродегенерации в ходе развития болезни Альцгеймера – это большие полушария и гиппокамп, т. е. те структуры, в которых наблюдаются наиболее заметные морфологические изменения [3]. В настоящем исследовании установлено, что в гиппокампе наблюдалось значительное угнетение активности АХЭ, которая

снизилась на 44 %, что является маркером нарушения нейромедиаторных процессов возбуждения на фоне алюминиевого нейротоксикоза (табл. 1). Активность СДГ оказалась повышенной (на 28 %) на фоне действия хлорида алюминия, что подтверждает ранее полученные данные о митохондриальных нарушениях при алюминиевом нейротоксикозе [1] и, как следует из табл. 1, нормализуется до значений в контрольной группе при действии всех изученных производных пантотената.

Т а б л и ц а 1. Содержание ТБКРС, общая антиоксидантная активность, активность ацетилхолинэстеразы (АХЭ) и сукцинатдегидрогеназы (СДГ) в гиппокампе мозга крыс после воздействия хлорида алюминия и введения производных пантотеновой кислоты ($M \pm SD$, $n = 7$)

Table 1. The TBARS level, total antioxidant activity (TAOA), activities of acetylcholinesterase (AChE) and succinate dehydrogenase (SDH) in the rat brain hippocampus after exposure to aluminum chloride and administration of pantothenic acid derivatives ($M \pm SD$, $n = 7$)

Экспериментальная группа Experimental group	ТБК-реагирующие субстраты, мкмоль/мг белка TBARS, $\mu\text{mol}/\text{mg protein}$			ОАОА, нмоль экв. GSH/мг белка TAOA, nmol equiv. GSH/mg protein	АХЭ, нмоль ацетилтиохолина йодида /мин/мг белка AChE, nmol acetylthiocholine iodide/min/mg protein	СДГ, нмоль/мг белка/мин) SDH, nmol/mg protein/min
	Базальный уровень Basal level	Спонтанно-индуцированный уровень Spontaneously induced level	Fe ²⁺ /аскорбат-индуцированный уровень Fe ²⁺ /ascorbate-induced level			
Контроль	1,25 ± 0,07	4,80 ± 0,50	12,85 ± 0,64	53,87 ± 0,65	9,50 ± 0,50	30,5 ± 1,7
AlCl ₃	1,47 ± 0,05*	6,95 ± 0,68*	19,20 ± 0,62*	42,21 ± 0,38*	5,30 ± 0,60*	39,1 ± 1,6*
AlCl ₃ +ПЛ AlCl ₃ +PL	1,28 ± 0,08#	5,08 ± 0,56#	13,48 ± 0,49#	48,66 ± 0,47#	8,70 ± 0,57#	31,1 ± 1,9#
AlCl ₃ +ПТ AlCl ₃ +PT	1,32 ± 0,05#	5,83 ± 0,41*	13,93 ± 0,68*#	47,87 ± 0,59#	7,63 ± 0,57#	34,3 ± 1,6#
AlCl ₃ +ГПК AlCl ₃ +HP	1,27 ± 0,07#	6,15 ± 0,60*	15,98 ± 0,51*#	44,94 ± 0,74*	8,98 ± 0,80#	32,7 ± 1,2#

Примечание: * – $p < 0,05$ по отношению к контролю, # – $p < 0,05$ по отношению к AlCl₃.
Notes: * – $p < 0.05$ compared to control, # – $p < 0.05$ compared to AlCl₃.

Обращает на себя внимание тот факт, что введение пантенола и ГПК в равной степени способствовало восстановлению активности АХЭ, тогда как действие пантетина было значительно слабее. Аналогичный эффект выявлен в отношении СДГ (табл. 1).

Согласно представленным данным, хроническое введение хлорида алюминия приводит к выраженному падению содержания свободного КоА в гиппокампе, тогда как уровень ацетил-КоА остался стабильным (табл. 2). Наблюдалась тенденция к росту соотношения ацетил-КоА/КоА-SH, по всей вероятности, отражающая адаптивное увеличение фракции субстрата биосинтеза ацетилхолина в условиях угнетения холинэстеразы (табл. 1). Введение ПЛ на фоне хлорида алюминия привело к некоторому повышению уровня свободного КоА, но наиболее выраженным оказалось влияние ПТ, назначение которого вернуло содержание КоА практически до значений в контроле. Несколько неожиданным оказался эффект ГПК (ингибитора пантотенаткиназы), который проявил эффект, аналогичный действию пантенола. Уровень ацетил-КоА при действии всех изученных нами производных пантотената достоверно не изменился, хотя обнаружилась тенденция к росту этого показателя при назначении ПЛ. Также обращает на себя внимание полная нормализация соотношения ацетил-КоА/КоА-SH в гиппокампе животных, получивших ПТ.

Основным компонентом пула небелковых тиолов и дисульфидов в поддержании редокс-баланса в ЦНС и, в частности, в гиппокампе является система глутатиона. Показано, что 6-недельное введение хлорида алюминия привело к падению уровня восстановленного глутатиона и значительному увеличению содержания его окисленной формы в гиппокампе (табл. 3). При этом происходит сопутствующее уменьшение соотношения GSH/GSSG, свидетельствующее о снижении восстановительного потенциала системы глутатиона в условиях алюминиевого нейротоксикоза, что связано, очевидно, с развитием и активацией ПОЛ. Предшественники биосинтеза КоА при назначении в курсовой дозе ПЛ и ПТ способствовали практически полной нормализации

ции уровня и соотношения окисленной и восстановленной форм глутатиона во всех изученных структурах мозга. При этом эффект ГПК отличался от эффекта других препаратов тем, что он в меньшей степени способствовал увеличению уровня GSH и восстановлению соотношения GSH/GSSG.

Таблица 2. Содержание свободного КоА-SH и ацетил-КоА (нмоль/г ткани) в гиппокампе мозга крыс после воздействия хлорида алюминия и введения производных пантотеновой кислоты ($M \pm SD, n = 7$)

Table 2. The content of free CoA-SH and acetyl-CoA (nmol/g tissue) in the rat brain hippocampus after exposure to aluminum chloride and administration of pantothenic acid derivatives ($M \pm SD, n = 7$)

Экспериментальная группа Experimental group	КоА-SH CoA-SH	Ацетил-КоА Acetyl-CoA	Ацетил-КоА/КоА-SH Acetyl-CoA/CoA-SH
Контроль	18,11 ± 0,51	8,94 ± 0,48	0,50 ± 0,09
AlCl ₃	14,68 ± 1,14*	8,67 ± 0,99	0,61 ± 0,17
AlCl ₃ +ПЛ AlCl ₃ +PL	15,84 ± 0,58	10,39 ± 0,86	0,66 ± 0,15
AlCl ₃ +ПТ AlCl ₃ +PT	17,79 ± 0,30#	8,79 ± 0,67	0,50 ± 0,12
AlCl ₃ +ГПК AlCl ₃ +HP	16,20 ± 0,73	8,81 ± 0,72	0,55 ± 0,11

Примечания: * – $p < 0,05$ по отношению к контролю, # – $p < 0,05$ по отношению к AlCl₃.
Notes: * – $p < 0.05$ compared to control, # – $p < 0.05$ compared to AlCl₃.

Таблица 3. Показатели системы глутатиона и белковых тиолов и дисульфидов в гиппокампе мозга крыс после воздействия хлорида алюминия и введения производных пантотеновой кислоты ($M \pm SD, n = 7$)

Table 3. The parameters of glutathione system and protein thiols and disulfides in the rat brain hippocampus after exposure to aluminum chloride and administration of pantothenic acid derivatives ($M \pm SD, n = 7$)

Показатель Parameter	Контроль Control	AlCl ₃	AlCl ₃ +ПЛ AlCl ₃ +PL	AlCl ₃ +ПТ AlCl ₃ +PT	AlCl ₃ +ГПК AlCl ₃ +HP
Содержание (нмоль/мг белка) восстановленного и окисленного глутатиона и его редокс-соотношение The content (nmol/mg of protein) of reduced and oxidized glutathione and its redox ratio					
GSH	27,3 ± 0,9	18,4 ± 0,7*	27,1 ± 0,8#	25,6 ± 0,8#	22,5 ± 0,8*#
GSSG	0,111 ± 0,005	0,116 ± 0,004	0,113 ± 0,003	0,114 ± 0,003	0,115 ± 0,002
GSH/GSSG	247,5 ± 23,8	157,9 ± 6,9*	240,8 ± 12,4#	225,3 ± 7,9#	175,93 ± 14,1*
Содержание S-глутатионилированных белков (нмоль/мг белка) The content of S-glutathionylated proteins (nmol/mg of protein)					
PSSG	0,253 ± 0,036	0,281 ± 0,045*	0,257 ± 0,039#	0,240 ± 0,022#	0,240 ± 0,022#
Активность ключевых ферментов окислительно-восстановительных превращений глутатиона (нмоль/мин/мг белка) Activity of key enzymes of redox transformations of glutathione (nmol/min/mg of protein)					
GR	11,9 ± 0,6	15,4 ± 0,7*	11,3 ± 0,8#	11,9 ± 1,0#	12,3 ± 1,1#
GPx (tBHP)	30,1 ± 1,0	44,5 ± 1,2*	38,8 ± 0,9*#	40,1 ± 1,0*#	37,3 ± 1,2*#
GST	81,2 ± 1,1	95,7 ± 1,1*	83,6 ± 1,1#	88,4 ± 1,2*#	89,4 ± 1,6*#
Содержание белковых тиолов и дисульфидов (мкмоль/г ткани) и их соотношение The content of protein thiols and disulfides and its redox ratio (μmol/g of tissue)					
PSH	6,86 ± 0,93	12,78 ± 0,67*	10,26 ± 0,41*#	11,60 ± 0,72*#	12,60 ± 0,56*
PSSP	3,13 ± 0,49	2,47 ± 0,43	1,73 ± 0,48*	1,35 ± 0,48*#	1,83 ± 0,36*
PSH/PSSP	2,37 ± 0,37	5,36 ± 0,75*	7,76 ± 0,50*#	9,41 ± 1,54*#	6,86 ± 0,70*

Примечания: * – $p < 0,05$ по отношению к контролю, # – $p < 0,05$ по отношению к AlCl₃.
Notes: * – $p < 0.05$ compared to control, # – $p < 0.05$ compared to AlCl₃.

Изучение содержания белковых тиолов и дисульфидов на фоне введения хлорида алюминия показало, что в гиппокампе наблюдалось значительное увеличение содержания белковых форм тиолов без достоверного снижения дисульфидных форм, что привело к значительному повышению соотношения PSH/PSSP (табл. 3). Введение производных пантотеновой кислоты не способствовало восстановлению белкового тиол-дисульфидного баланса и, более того, отмечено дальнейшее снижение белковых дисульфидов, что привело к значительному росту соотношения PSH/PSSP.

Сдвиги в системе глутатиона сопровождались изменениями активности ферментов, контролирующих его окислительно-восстановительный статус (табл. 3). Следует отметить выраженные изменения активности данных ферментов в гиппокампе, в котором наблюдали повышенную активность GPx, GST, а также GR. Это может быть показателем того, что основной вклад в наблюдаемое нами снижение содержания GSH на фоне действия хлорида алюминия вносит основной фермент, окисляющий глутатион, – GPx. Введение ПЛ и ПТ способствовало возвращению активности ферментов к значениям, близким к таковым в контрольной группе.

Действие хлорида алюминия привело также к достоверному увеличению содержания S-глутатионилированных белков в гиппокампе, что, очевидно, является показателем повышения посттрансляционной модификации белков глутатионом в условиях сдвига тиол-дисульфидного баланса (табл. 3). Введение всех изученных нами производных пантотеновой кислоты привело к существенному снижению содержания S-глутатионилированных белков во всех экспериментальных группах до уровня нормальных значений.

Изучение активности ферментов окислительного этапа пентозофосфатного пути в гиппокампе выявило их активацию (на 34 и 20 % соответственно) (табл. 4). Введение производных пантотеновой кислоты привело к возвращению активности обоих ферментов до значений в контрольной группе или близких к ним, при этом эффективность ГПК оказалась наиболее выраженной. Это является подтверждением наблюдаемого нами ранее феномена потенцирования производными пантотеновой кислоты окислительной ветви пентозофосфатного цикла в больших полушариях мозга при алюминиевом нейротоксикозе [1].

Таблица 4. Активность ферментов окислительного этапа пентозофосфатного пути (нмоль НАДФН/мг белка/мин) в гиппокампе мозга крыс после воздействия хлорида алюминия и введения производных пантотеновой кислоты ($M \pm SD$, $n = 7$)

Table 4. Enzyme activity of the oxidative path of the pentose phosphate pathway (nmol NADPH/mg protein/min) in the rat brain hippocampus after exposure to aluminum chloride and administration of pantothenic acid derivatives ($M \pm SD$, $n = 7$)

Экспериментальная группа Experimental group	Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа Glucose-6 phosphate dehydrogenase	6-фосфоглюконат-дегидрогеназа 6-phosphogluconate dehydrogenase
Контроль	22,7 ± 1,3	25,2 ± 1,0
AlCl ₃	30,5 ± 1,5*	30,3 ± 1,4*
AlCl ₃ +ПЛ AlCl ₃ +PL	25,9 ± 1,1#	25,4 ± 1,1#
AlCl ₃ +ПТ AlCl ₃ +PT	25,7 ± 1,4#	27,1 ± 1,3#
AlCl ₃ +ГПК AlCl ₃ +HP	23,8 ± 1,4#	25,4 ± 1,1#

Примечания: * – $p < 0,05$ по отношению к контролю, # – $p < 0,05$ по отношению к AlCl₃.

Notes: * – $p < 0.05$ compared to control, # – $p < 0.05$ compared to AlCl₃.

Как следует из результатов настоящего исследования, для алюминиевого нейротоксикоза характерно нарушение редокс-системы глутатиона в гиппокампе, проявившееся значительным падением уровня GSH и соотношения GSH/GSSG при одновременной активации ферментов его метаболизма (GR, GPx, GST). Наблюдаемый рост фракции S-глутатионилированных белков отражает общий редокс-дисбаланс, характеризующийся резким увеличением SH-групп белков

и их соотношения с белковыми дисульфидами (табл. 3). Вводимые предшественники КоА оказались способны полностью нормализовать редокс-статус глутатиона (в меньшей мере при назначении ГПК), процесс S-глутатионилирования белков, активность GR и GST (менее выражено GRx), но не восстановить (и даже усугубить) тиол-дисульфидный баланс в ткани гиппокампа. Судя по активности маркерных ферментов АХЭ и СДГ, защитный эффект предшественников КоА проявляется в полной мере (табл. 1), равно как и их способность сдерживать в условиях иницирования биосинтеза кофермента перекисное окисление липидов и манифестацию ОС [18]. Избранная модель альцгеймероподобной патологии впервые продемонстрировала падение уровня КоА-SH в гиппокампе и лишь частичное его восстановление при назначении предшественников (табл. 2). С учетом антикоферментных свойств ГПК – конкурентного ингибитора пантотенаткиназы (ключевого фермента биосинтеза КоА), есть все основания полагать, что механизм действия производных пантотеновой кислоты и вовлечение системы биосинтеза КоА вовсе не означает значимость только КоА и его ацил-производных в процессах нейродегенерации и антистрессорной активности. Достаточно упомянуть процессы сигналинга (p53) с участием дефосфо-КоА, существование посттрансляционной модификации белков, опосредованной 4'-фосфо-пантетеином, тиол-дисульфидного взаимодействия редокс-пары пантетин-пантетеин, ассоциированной с процессом гидролиза КоА внеклеточной пантетеиназой [19]. Обращает на себя внимание восстановление предшественниками КоА в гиппокампе активности ферментов окислительного звена пентозофосфатного цикла (табл. 4) – главного источника восстановительных эквивалентов для анаболических реакций синтеза жирных кислот, «окислительного взрыва» и глутатионредуктазной реакции. Если возвратиться к более раннему понятию «редокс-кода» [2], следует исходить из контролируемого ответа организма на стрессорный или иной возмущающий агент (токсикоз), связанного с доступностью восстанавливающих эквивалентов (НАДФН, НАДН) и энергетическим статусом. Не вызывает сомнения факт потенциального восстановления доступности НАДФН при назначении производных пантотеновой кислоты, что подтверждает результаты, описанные в [1]. Тем самым ОС позиционируется как состояние, обусловленное нарушением регуляции передач окислительно-восстановительных сигналов [7; 8]. В действительности все обстоит значительно сложнее, вовлекая в механизмы ОС окислительно-восстановительную систему химических взаимодействий реактивных частиц RSS, RNS, ROS и их биологических мишеней, как и газотрансмиттеров NO, H₂S, CO, COS [2; 4; 7; 18; 19]. Все это является компонентами редокс-ландшафта и может вносить свой вклад в предпринятую нами попытку его модулирования в условиях алюминиевого нейротоксикоза. В данной модели удалось воспроизвести феномен падения в ткани мозга содержания КоА и изменений редокс-статуса системы глутатиона, обнаруженные нами ранее в других моделях нейродегенерации и подтверждающие важную роль систем КоА и глутатиона в поддержании редокс-баланса в ткани мозга. Полученные результаты обосновывают возможности и мишени действия модуляторов биосинтеза КоА как антиоксидантных, редокс-модулирующих и нейропротекторных факторов с определенной перспективой клинического применения.

Список использованных источников

1. Кофермент А, ацил-КоА и система глутатиона в структурах ЦНС при введении гомопантотената и алюминием нейротоксикозе / А. Г. Мойсеёнок [и др.] // Нейрохимия. – 2010. – Т. 27, № 1. – С. 36–39.
2. Oxidative stress in neurodegenerative diseases: from molecular mechanisms to clinical applications / Z. Liu [et al.] // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. – 2017. – Vol. 2017. – Art. 2525967. <https://doi.org/10.1155/2017/2525967>
3. Лукьяненко, Л. М. Влияние ионов алюминия на биофизические параметры мембран эритроцитов / Л. М. Лукьяненко, А. С. Скоробогатова, Е. И. Слобожанина // Вес. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2010. – № 2. – С. 55–58.
4. К вопросу о роли алюминия в развитии деменций / Н. А. Гресь [и др.] // Новости мед.-биол. наук. – 2014. – № 3. – С. 70–78.
5. Kumar, V. Aluminium neurotoxicity: neurobehavioural and oxidative aspects / V. Kumar, K. D. Gill // Arch. Toxicol. – 2009. – Vol. 83, N 11. – P. 965–978. <https://doi.org/10.1007/s00204-009-0455-6>
6. Apoptosis and oxidative stress in neurodegenerative diseases / E. Radi [et al.] // J. Alzheimers Dis. – 2014. – Vol. 42, N 3. – P. S125–S152. <https://doi.org/10.3233/jad-132738>

7. Hippocampus and its involvement in Alzheimer's disease: a review / Y. L. Rao [et al.] // *Biotech.* – 2022. – Vol. 12, N 2. – Art. 55. <https://doi.org/10.1007/s13205-022-03123-4>
8. A critical evaluation of neuroprotective and neurodegenerative MicroRNAs in Alzheimer's disease / P. H. Reddy [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2017. – Vol. 483, N 4. – P. 1156–1165. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.08.067>
9. Johnson, W. M. Dysregulation of glutathione homeostasis in neurodegenerative diseases / W. M. Johnson, A. L. Wilson-Delfosse, J. J. Mieyal // *Nutrients.* – 2012. – Vol. 4, N 10. – P. 1399–1440. <https://doi.org/10.3390/nu4101399>
10. Comparison of spectrophotometric and HPLC methods for determination of lipid peroxidation products in rat brain tissues / M. Ďurfinová [et al.] // *Chem. Pap.* – 2007. – Vol. 61, N 4. – P. 321–325. <https://doi.org/10.2478/s11696-007-0040-5>
11. Erel, O. A novel automated direct measurement for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation / O. Erel // *Clin. Biochem.* – 2004. – Vol. 37, N 4. – P. 277–285. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2003.11.015>
12. Rahman, I. Assay for quantitative determination of glutathione and glutathione disulfide levels using enzymatic recycling method / I. Rahman, A. Kode, S. K. Biswas // *Nat. Protoc.* – 2006. – Vol. 1. – P. 3159–3165. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.378>
13. Tsuchiya, Y. Methods for measuring CoA and CoA derivatives in biological samples / Y. Tsuchiya, U. Pham, I. Gout // *Biochem. Soc. Trans.* – 2014. – Vol. 42, N 4. – P. 1107–1111. <https://doi.org/10.1042/bst20140123>
14. Flohé, L. Assays of glutathione peroxidase / L. Flohé, W. A. Günzler // *Methods Enzymol.* – 1984. – Vol. 105. – P. 114–120. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(84\)05015-1](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(84)05015-1)
15. Habig, W. H. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation / W. H. Habig, M. J. Pabst, W. B. Jakoby // *J. Biol. Chem.* – 1974. – Vol. 249, N 22. – P. 7130–7139. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(19\)42083-8](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(19)42083-8)
16. Smith, I. K. Assay of glutathione reductase in crude tissue homogenates using 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid) / I. K. Smith, T. L. Vierheller, C. A. Thorne // *Anal. Biochem.* – 1988. – Vol. 175, N 2. – P. 408–413. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(88\)90564-7](https://doi.org/10.1016/0003-2697(88)90564-7)
17. Menon, D. A fluorometric method to quantify protein glutathionylation using glutathione derivatization with 2,3-naphthalenedicarboxaldehyde / D. Menon, P. G. Board // *Anal. Biochem.* – 2013. – Vol. 433, N 2. – P. 132–136. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2012.10.009>
18. Patsoukis, N. Determination of the thiol redox state of organisms: new oxidative stress indicators / N. Patsoukis, C. D. Georgiou // *Anal. Bioanal. Chem.* – 2004. – Vol. 378. – P. 1783–1792. <https://doi.org/10.1007/s00216-004-2525-1>
19. Ninfali, P. Methods for studying the glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in brain areas / P. Ninfali, G. Aluigi, A. Pompella // *Brain Research Protocols.* – 1997. – Vol. 1, N 4. – P. 357–363. [https://doi.org/10.1016/s1385-299x\(97\)00011-1](https://doi.org/10.1016/s1385-299x(97)00011-1)

References

1. Moiseenok A. G., Omel'yanchik S. N., Sheval'e A. A., Katkovskaya I. N., El'chaninova M. A., Pekhovskaya T. A., Kovalenchik I. L. Coenzyme A, acyl-CoA, and the glutathione system in CNS structures exposed to homopantothenate or in aluminum neurotoxicity. *Neurochemical Journal*, 2010, vol. 4, no. 1, pp. 30–34. <https://doi.org/10.1134/s181971241001006x>
2. Liu Z., Zhou T., Ziegler A. C., Dimitrion P., Zuo L. Oxidative stress in neurodegenerative diseases: from molecular mechanisms to clinical applications. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, vol. 2017, art. 2525967. <https://doi.org/10.1155/2017/2525967>
3. Lukyanenko L. M., Skorobogatova A. S., Slobozhanina E. I. Aluminum ions influence on biophysics parameters of erythrocyte membranes. *Vesti Natsyynal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya byalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2010, no. 2, s. 55–58 (in Russian).
4. Gres N. A., Skorobogatova A. S., Zubritskaja G. P., Slobozhanina E. I. On the issue of the role of aluminum in the development of dementia. *Novosti mediko-biologicheskikh nauk = News of Biomedical Sciences*, 2014, no. 3, pp. 70–78 (in Russian).
5. Kumar V., Gill K. D. Aluminium neurotoxicity: neurobehavioural and oxidative aspects. *Archives of Toxicology*, 2009, vol. 83, no. 11, pp. 965–978. <https://doi.org/10.1007/s00204-009-0455-6>
6. Radi E., Formichi P., Battisti C., Federico A. Apoptosis and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Journal of Alzheimers Disease*, 2014, vol. 42, no. 3, pp. S125–S152. <https://doi.org/10.3233/jad-132738>
7. Rao Y. L., Ganaraja B., Murlimanju B. V., Joy T., Krishnamurthy A., Agrawal A. Hippocampus and its involvement in Alzheimer's disease: a review. *Biotech*, 2022, vol. 12, no. 2, art. 55. <https://doi.org/10.1007/s13205-022-03123-4>
8. Reddy P. H., Tonk S., Kumar S., Vijayan M., Kandimalla R., Kuruva C. S., Reddy A. P. A critical evaluation of neuroprotective and neurodegenerative MicroRNAs in Alzheimer's disease. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2017, vol. 483, no. 4, pp. 1156–1165. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.08.067>
9. Johnson W. M., Wilson-Delfosse A. L., Mieyal J. J. Dysregulation of glutathione homeostasis in neurodegenerative diseases. *Nutrients*, 2012, vol. 4, no. 10, pp. 1399–1440. <https://doi.org/10.3390/nu4101399>
10. Ďurfinová M., Brechtlová M., Liška B., Barošková Ž. Comparison of spectrophotometric and HPLC methods for determination of lipid peroxidation products in rat brain tissues. *Chemical Papers*, 2007, vol. 61, no. 4, pp. 321–325. <https://doi.org/10.2478/s11696-007-0040-5>
11. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry*, 2004, vol. 37, no. 4, pp. 277–285. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2003.11.015>
12. Rahman I., Kode A., Biswas S. K. Assay for quantitative determination of glutathione and glutathione disulfide levels using enzymatic recycling method. *Nature Protocols*, 2006, vol. 1, pp. 3159–3165. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.378>

13. Tsuchiya Y., Pham U., Gout I. Methods for measuring CoA and CoA derivatives in biological samples. *Biochemical Society Transactions*, 2014, vol. 42, no. 4, pp. 1107–1111. <https://doi.org/10.1042/bst20140123>
14. Flohé L., Günzler W. A. Assays of glutathione peroxidase. *Methods in Enzymology*, 1984, vol. 105, pp. 114–120. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(84\)05015-1](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(84)05015-1)
15. Habig W. H., Pabst M. J., Jakoby W. B. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*, 1974, vol. 249, no. 22, pp. 7130–7139. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(19\)42083-8](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(19)42083-8)
16. Smith I. K., Vierheller T. L., Thorne C. A. Assay of glutathione reductase in crude tissue homogenates using 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid). *Analytical Biochemistry*, 1988, vol. 175, no. 2, pp. 408–413. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(88\)90564-7](https://doi.org/10.1016/0003-2697(88)90564-7)
17. Menon D., Board P. G. A fluorometric method to quantify protein glutathionylation using glutathione derivatization with 2,3-naphthalenedicarboxaldehyde. *Analytical Biochemistry*, 2013, vol. 433, no. 2, pp. 132–136. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2012.10.009>
18. Patsoukis N., Georgiou C. D. Determination of the thiol redox state of organisms: new oxidative stress indicators. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2004, vol. 378, pp. 1783–1792. <https://doi.org/10.1007/s00216-004-2525-1>
19. Ninfali P., Aluigi G., Pompella A. Methods for studying the glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in brain areas. *Brain Research Protocols*, 1997, vol. 1, no. 4, pp. 357–363. [https://doi.org/10.1016/s1385-299x\(97\)00011-1](https://doi.org/10.1016/s1385-299x(97)00011-1)

Информация об авторах

Канунникова Нина Павловна – д-р биол. наук, гл. науч. сотрудник, профессор. Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (пл. Тызенгауза, 7, 230022, Гродно, Республика Беларусь). E-mail: n.kanunnikova@grsu.by.

Семенович Дмитрий Сергеевич – канд. биол. наук, науч. сотрудник. НИИ физико-химической биологии им. А. Н. Белозерского МГУ (ул. Ленинские горы, 1/40, 119992, Москва, Российская Федерация). E-mail: dima-chem1@rambler.ru.

Катковская Инна Николаевна – науч. сотрудник. Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (пл. Тызенгауза, 7, 230022, Гродно, Республика Беларусь). E-mail: inna_katkovskaya@mail.ru.

Титко Оксана Викторовна – науч. сотрудник. Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (пл. Тызенгауза, 7, 230022, Гродно, Республика Беларусь). E-mail: o.titko@mail.ru.

Лукиенко Елена Петровна – заведующий лабораторией. Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (пл. Тызенгауза, 7, 230022, Гродно, Республика Беларусь). E-mail: lukgrodno@mail.ru.

Гуринович Валерий Александрович – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (пл. Тызенгауза, 7, 230022, Гродно, Республика Беларусь). E-mail: gva77@list.ru.

Моисеенок Андрей Георгиевич – член-корреспондент, д-р биол. наук, профессор, заведующий отделом. Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (пл. Тызенгауза, 7, 230022, Гродно, Республика Беларусь). E-mail: andrey.moiseenok@tut.by.

Information about the authors

Kanunnikova Nina P. – D. Sc. (Biology), Chief Researcher, Professor. Institute of Biochemistry for Biologically Active Substances of the National Academy of Sciences (7, Tyzen-gauz Sq., 230022, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: n.kanunnikova@grsu.by.

Semenovich Dmitry S. – Ph. D. (Biology), Researcher. Research Institute of Physical and Chemical Biology named after A. N. Belozersky of the Moscow State University (1/40, Leninskie Gory Str., 119992, Moscow, Russian Federation). E-mail: dima-chem1@rambler.ru.

Katkovskaya Inna N. – Researcher. Institute of Biochemistry for Biologically Active Substances of the National Academy of Sciences (7, Tyzen-gauz Sq., 230022, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: inna_katkovskaya@mail.ru.

Titko Oksana V. – Researcher. Institute of Biochemistry for Biologically Active Substances of the National Academy of Sciences (7, Tyzen-gauz Sq., 230022, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: o.titko@mail.ru.

Lukiyenko Elena P. – Head of the Laboratory. Institute of Biochemistry for Biologically Active Substances of the National Academy of Sciences (7, Tyzen-gauz Sq., 230022, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: lukgrodno@mail.ru.

Gurinovich Valery A. – Ph. D. (Biology), Leading Researcher. Institute of Biochemistry for Biologically Active Substances of the National Academy of Sciences (7, Tyzen-gauz Sq., 230022, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: gva77@list.ru.

Moiseenok Andrey G. – Corresponding Member, D. Sc. (Biology), Professor, Head of the Department. Institute of Biochemistry for Biologically Active Substances of the National Academy of Sciences (7, Tyzen-gauz Sq., 230022, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: andrey.moiseenok@tut.by.