

ISSN 1561-8323 (Print)

ISSN 2524-2431 (Online)

УДК 616.831:577.164.14

<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2020-64-1-78-85>

Поступило в редакцию 10.07.2019

Received 10.07.2019

Д. С. Семенович, Н. П. Канунникова, член-корреспондент А. Г. Мойсеёнок*Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси,
Гродно, Республика Беларусь***ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС В МИТОХОНДРИЯХ МОЗГА ПРИ АЛЮМИНИЕВОМ НЕЙРОТОКСИКОЗЕ И ВВЕДЕНИИ МОДУЛЯТОРОВ БИОСИНТЕЗА ГЛУТАТИОНА И КОФЕРМЕНТА А**

Аннотация. На экспериментальной модели алюминиевого нейротоксикоза установлено, что в условиях хронического введения хлорида алюминия у крыс развиваются явления окислительного стресса и угнетение восстановительного потенциала системы глутатиона в митохондриальной и постмитохондриальной фракциях больших полушарий мозга. Показано, что введение N-ацетилцистеина, а также сочетанного назначения его с модуляторами биосинтеза кофермента А (D-пантенолом или D-пантетин) на фоне алюминиевого нейротоксикоза приводят к выраженному снижению продукции активных форм кислорода митохондриями, снижению наработки тиобарбитурат-реагирующих соединений, нормализации содержания глутатиона и его биосинтеза в ткани мозга. Полученные результаты указывают на высокую эффективность предшественника биосинтеза глутатиона N-ацетилцистеина в предупреждении окислительного стресса в хронической модели алюминиевого нейротоксикоза, что может быть обоснованием для его применения как модулятора редокс-статуса митохондрий при развитии нейродегенеративной патологии.

Ключевые слова: окислительный стресс, митохондрии, алюминиевый нейротоксикоз, глутатион, N-ацетилцистеин, производные пантотеновой кислоты

Для цитирования: Семенович, Д. С. Окислительный стресс в митохондриях мозга при алюминиевом нейротоксикозе и введении модуляторов биосинтеза глутатиона и кофермента А / Д. С. Семенович, Н. П. Канунникова, А. Г. Мойсеёнок // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2020. – Т. 64, № 1. – С. 78–85. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2020-64-1-78-85>

Dmitry S. Semenovich, Nina P. Kanunnikova, Corresponding Member Andrey G. Moiseenok*Institute of Biochemistry of Biologically Active Substances of the National Academy of Sciences of Belarus,
Grodno, Republic of Belarus***OXIDATIVE STRESS IN MITOCHONDRIA OF THE BRAIN TISSUE WITH ALUMINUM NEUROTOXYCOSIS AND APPLYING OF GLUTATHIONE AND MODULATORS OF COENZYME A BIOSYNTHESIS**

Abstract. Using an experimental model of aluminum neurotoxicosis, it was established that under conditions of chronic administration of aluminum chloride to rats, oxidative stress develops and inhibits the redox potential of the glutathione system in the mitochondrial and postmitochondrial fractions of the cerebral hemispheres. It was shown that the ingestion of N-acetylcysteine, as well as its combined use with coenzyme A biosynthesis precursors (D-panthenol or D-pantetin) against the background of aluminum neurotoxicosis, leads to a marked decrease in the production of reactive oxygen species by mitochondria, a decrease in the production of thiobarbituric acid reactive substances, and normalization of GSH content and its biosynthesis in brain tissue. The results indicate a high efficiency of the biosynthesis precursor of glutathione N-acetylcysteine in the prevention of oxidative stress in the chronic model of aluminum neurotoxicosis, which may be the rationale for its use as a modulator of mitochondrial redox status in the development of neurodegenerative pathology.

Keywords: oxidative stress, mitochondria, aluminum neurotoxicosis, glutathione, N-acetylcysteine, pantothenic acid derivatives, coenzyme A

For citation: Semenovich D. S., Kanunnikova N. P., Moiseenok A. G. Oxidative stress in mitochondria of the brain tissue with aluminum neurotoxicosis and applying of glutathione and modulators of coenzyme A biosynthesis. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2020, vol. 64, no. 1, pp. 78–85 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2020-64-1-78-85>

Введение. Важным звеном в патогенезе нейродегенеративных заболеваний являются окислительный стресс (ОС) и нарушения функций митохондриальных клеток нервной ткани [1]. Влияние

митохондриальных повреждений на клеточную функцию наиболее выражено проявляется в нейронах, потому что митохондрии генерируют большую часть продуктов свободнорадикального окисления, формируют внутриклеточный фонд ацетил-КоА, играют важную роль в инициировании апоптоза – запрограммированной гибели клеток. Эти процессы относятся к патогенетическим механизмам многих нейродегенеративных заболеваний [2; 3].

Несмотря на то что синтез глутатиона (GSH) осуществляется исключительно в цитозоле, он представлен и во внутриклеточных органеллах, включая эндоплазматический ретикулум, ядра и митохондрии. Распределение GSH в отдельных субклеточных компартментах имеет ключевое значение для регуляции окислительно-восстановительных процессов внутри клетки и ее ответа на ОС. В митохондриях GSH встречается в основном в восстановленной форме и составляет небольшую долю общего пула GSH (10–15 %). С учетом объема митохондриального матрикса концентрация митохондриального GSH аналогична концентрации в цитозоле (около 10 мМ) [4].

Открытие генетически детерминированных форм нейродегенерации, обусловленных дефектом системы биосинтеза кофермента А, ключевая роль КоА-синтетазы в сигнальном пути mTOR, определяющем клеточный ответ на ОС и нейродегенеративное поражение [5], а также метаболическая сопряженность процесса биосинтеза КоА и глутатиона определяют задачу исследования взаимосвязи этих систем при алюминийевом нейротоксикозе.

С целью уточнения механизмов взаимоотношений процессов свободнорадикального окисления и тиол-дисульфидного баланса в ткани головного мозга нами были изучены изменения этих систем в митохондриальной и постмитохондриальной фракциях больших полушарий мозга в условиях хронического действия хлорида алюминия и введения на его фоне предшественника биосинтеза глутатиона (АЦЦ) индивидуально и в комбинации с предшественниками биосинтеза КоА (D-пантенол, ПЛ; D-пантетин, ПТ; 4'-фосфопантотеновая кислота, ФПК) или его ингибитором (гомопантотеновая кислота, ГПК).

Материалы и методы исследования. Эксперимент выполнен на 48 самках крыс линии Wistar CRL: (WI) WUBR массой 180–200 г, содержащихся в стандартных условиях вивария. Животные были разделены на 7 экспериментальных групп по 8 особей в каждой. 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 у крыс алюминийевого нейротоксикоза в течение 6 недель ежедневно вводили хлорид алюминия (200 мг/кг, внутривентрикулярно) [6; 7]. С первого дня 5-й недели эксперимента на фоне продолжающегося введения хлорида алюминия ежедневно вводили производные пантотеновой кислоты – ПЛ, ПТ, ГПК и ФПК (200 мг/кг, внутривентрикулярно), АЦЦ (100 мг/кг, внутривентрикулярно). Все растворы исследуемых препаратов готовили на дистиллированной воде. Контрольным животным вводили равный объем дистиллированной воды.

Крыс декапитировали, на холоде извлекали головной мозг и выделяли большие полушария. Ткань больших полушарий использовали для выделения грубой митохондриальной и постмитохондриальной фракций [8].

Развитие ОС оценивали по базальному, спонтанному и Fe^{2+} /аскорбат-индуцированному уровням тиобарбитурат-реагирующих соединений (ТБКРС) спектрофотометрическим методом согласно [9].

Содержание общего, восстановленного и окисленного глутатиона определяли ферментативным рециклическим методом с использованием глутатионредуктазы [10]. 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 кинетическим спектрофотометрическим методом [11–13] соответственно. Активность ферментов биосинтеза глутатиона γ -глутамилцистеинсинтетазы (GCS, КФ 6.3.2.2) и глутатионсинтетазы (GS, КФ 6.3.2.3) определяли спектрофотометрическим

методом [14]. Содержание S-глутатионилированных белков определяли спектрофлуориметрическим методом [15]. Содержание общего белка определяли по методу Брэдфорда.

Статистическую обработку экспериментальных данных выполняли с использованием программ Microsoft Excel 2016, GraphPad Prism 6.0. Экспериментальные данные представляли в виде $M \pm SEM$, где M – среднее значение, SEM – стандартная ошибка среднего. Достоверность межгрупповых различий оценивали, используя однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с применением теста Тьюки. Во всех случаях статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Изучение базального содержания ТБКРС и процессов их наработки показало заметную активацию свободнорадикальных процессов как в митохондриях, так и в постмитохондриальной фракции больших полушарий мозга. Так, оказался повышенным базальный, спонтанный и Fe^{2+} /аскорбат-индуцированный уровень ТБКРС у крыс на фоне хлорида алюминия (табл. 1). Корректирующее действие АЦЦ было недостаточно эффективным, тогда как комбинации АЦЦ с ПЛ, ПТ или ФПК в значительной мере способствовали уменьшению интенсивности образования ТБКРС. Комбинация АЦЦ с ГПК также оказала корректирующее влияние, но менее эффективно.

Т а б л и ц а 1. Содержание ТБКРС (нмоль/мг белка) в митохондриальной и постмитохондриальной фракции больших полушарий головного мозга крыс при алюминиевом нейротоксикозе и введении N-ацетилцистеина с производными пантотеновой кислоты

Table 1. TBARS level (nmol/mg protein) in the mitochondrial and post-mitochondrial fractions of the rat brain hemispheres in aluminum neurotoxicosis and the administration of N-acetylcysteine with pantothenic acid derivatives

Экспериментальная группа Experimental group	Базальный уровень Basal level	Спонтанный уровень Spontaneous level	Fe^{2+} /аскорбат-индуцированный уровень Fe^{2+} /ascorbate-induced level
<i>Митохондриальная фракция</i> <i>Mitochondrial fraction</i>			
Контроль	2,28 ± 0,29	12,66 ± 0,80	33,28 ± 0,83
$AlCl_3$	4,08 ± 0,53*	20,66 ± 0,57*	56,86 ± 1,00*
$AlCl_3$ + АЦЦ	2,96 ± 0,34#	16,88 ± 0,48*#	48,70 ± 0,99*#
$AlCl_3$ + АЦЦ + ПЛ	2,82 ± 0,57#	14,76 ± 0,42#	41,66 ± 0,80#
$AlCl_3$ + АЦЦ + ПТ	3,22 ± 0,36*	14,98 ± 0,53*#	44,80 ± 0,82*#
$AlCl_3$ + АЦЦ + ГПК	3,30 ± 0,32*	16,50 ± 0,52*#	49,76 ± 0,87*#
$AlCl_3$ + АЦЦ + ФПК	2,92 ± 0,54#	14,24 ± 0,61*#	47,14 ± 0,73*#
<i>Постмитохондриальная фракция</i> <i>Postmitochondrial fraction</i>			
Контроль	1,09 ± 0,32	8,32 ± 0,51	23,58 ± 0,63
$AlCl_3$	2,35 ± 0,38*	13,21 ± 0,59*	31,26 ± 0,58*
$AlCl_3$ + АЦЦ	1,56 ± 0,34#	11,28 ± 0,50*#	28,41 ± 0,55*#
$AlCl_3$ + АЦЦ + ПЛ	1,24 ± 0,30#	10,12 ± 0,41#	26,63 ± 0,50*#
$AlCl_3$ + АЦЦ + ПТ	1,86 ± 0,32*#	11,29 ± 0,43*#	27,22 ± 0,49*#
$AlCl_3$ + АЦЦ + ГПК	2,28 ± 0,33*	12,95 ± 0,53*	29,16 ± 0,47*#
$AlCl_3$ + АЦЦ + ФПК	1,22 ± 0,30#	10,76 ± 0,51*#	26,71 ± 0,53*#

Примечание. * – $p < 0,05$ относительно контроля, # – $p < 0,05$ относительно $AlCl_3$.

Note. * – $p < 0.05$ concerning intact control; # – $p < 0.05$ concerning $AlCl_3$.

Активация свободнорадикальных процессов в субклеточных структурах больших полушарий мозга, вызванная хроническим введением хлорида алюминия, сопровождалась достоверным снижением содержания GSH и в митохондриальной, и в постмитохондриальной фракциях (табл. 2). Одновременно происходило повышение уровня GSSG, в результате чего соотношение GSH/GSSG падало на 51 % в митохондриальной фракции и на 63 % – в постмитохондриальной фракции. Введение АЦЦ в данной ситуации приводило к возвращению содержания обеих форм глутатиона и их соотношения к уровню контроля в обеих исследованных фракциях. Эффекты действия производных пантотеновой кислоты оказались разными. Так, назначение этих соединений практически не изменило действие АЦЦ на содержание GSH и GSSG в митохондриях, тогда как в постмитохондриальной фракции содержание GSH в присутствии ПЛ, ПТ и ФПК

стало выше, чем в контрольной группе. Соответственно повысилось также соотношение GSH/GSSG, что может отражать усиление восстановительной способности системы глутатиона в постмитохондриальной фракции при действии комбинации АЦЦ с предшественниками биосинтеза КоА. ГПК не является предшественником биосинтеза КоА и такого влияния на систему глутатиона не оказывает, однако может воздействовать на биосинтез КоА опосредованно, являясь конкурентным ингибитором пантотенаткиназы.

Т а б л и ц а 2. Содержание восстановленного, окисленного глутатиона (нмоль/мг белка) в митохондриальной и постмитохондриальной фракциях больших полушарий головного мозга крыс при алюминиевом нейротоксикозе и введении N-ацетилцистеина с производными пантотеновой кислоты

Table 2. The level of reduced and oxidized glutathione (nmol/mg protein) in the mitochondrial and post-mitochondrial fractions of the rat brain hemispheres in aluminum neurotoxicosis and the administration of N-acetylcysteine with pantothenic acid derivatives

Группа Group	GSH	GSSG	GSH/GSSG
<i>Митохондриальная фракция</i> <i>Mitochondrial fraction</i>			
Контроль	2,23 ± 0,10	0,072 ± 0,003	40,28 ± 2,60
AlCl ₃	1,45 ± 0,11*	0,083 ± 0,003*	20,59 ± 2,28*
AlCl ₃ + АЦЦ	2,83 ± 0,10*#	0,071 ± 0,004#	38,52 ± 2,85#
AlCl ₃ + АЦЦ + ПЛ	2,94 ± 0,09*#	0,073 ± 0,005#	42,36 ± 2,55#
AlCl ₃ + АЦЦ + ПТ	2,76 ± 0,12*#	0,074 ± 0,004#	39,82 ± 2,98#
AlCl ₃ + АЦЦ + ГПК	2,88 ± 0,15*#	0,075 ± 0,005#	38,46 ± 2,74#
AlCl ₃ + АЦЦ + ФПК	3,04 ± 0,21*#	0,076 ± 0,006	41,11 ± 2,35#
<i>Постмитохондриальная фракция</i> <i>Postmitochondrial fraction</i>			
Контроль	7,65 ± 0,18	0,082 ± 0,005	96,21 ± 3,45
AlCl ₃	5,53 ± 0,19*	0,098 ± 0,004*	60,84 ± 4,10*
AlCl ₃ + АЦЦ	7,86 ± 0,21#	0,084 ± 0,006#	92,57 ± 3,86#
AlCl ₃ + АЦЦ + ПЛ	8,95 ± 0,20#	0,081 ± 0,006#	112,49 ± 3,61#*
AlCl ₃ + АЦЦ + ПТ	8,16 ± 0,18#	0,083 ± 0,007#	98,64 ± 3,12#
AlCl ₃ + АЦЦ + ГПК	7,53 ± 0,19#	0,086 ± 0,007#	89,52 ± 4,41#
AlCl ₃ + АЦЦ + ФПК	8,42 ± 0,20#	0,080 ± 0,006#	106,46 ± 3,53#

Пр и м е ч а н и е. * – $p < 0,05$ относительно контроля, # – $p < 0,05$ относительно AlCl₃.

Note. * – $p < 0.05$ concerning intact control; # – $p < 0.05$ concerning AlCl₃.

Изучение активности ферментов, катализирующих окислительно-восстановительные превращения глутатиона, показало, что в митохондриальной и постмитохондриальной фракциях на фоне действия хлорида алюминия была повышена активность глутатионпероксидазы (на 36 и 30 %, $p < 0,05$) и глутатионтрансферазы (на 39 и 12 %, $p < 0,05$) соответственно. Введение АЦЦ стабилизировало вызванные хлоридом алюминия изменения в системе глутатиона, способствуя снижению активности GST, GPx в обеих фракциях. В присутствии ПЛ и отчасти ФПК защитные эффекты АЦЦ усиливались. Активность GR в постмитохондриальной фракции также повышалась на 25 % ($p < 0,05$) на фоне хлорида алюминия, но снижалась на 14 % ($p < 0,05$) в присутствии АЦЦ и особенно комбинации АЦЦ + ПЛ и АЦЦ + ФПК (на 20 %, $p < 0,05$). Эффект от назначения ГПК был аналогичным действию предшественников КоА.

Изучение активности ферментов биосинтеза глутатиона в постмитохондриальной фракции больших полушарий головного мозга крыс показало угнетение активности γ -глутамилцистеинсинтетазы и глутатионсинтетазы при хроническом алюминиевом нейротоксикозе (табл. 3). АЦЦ и его композиции с производными пантотеновой кислоты повышали активность обоих изученных ферментов, достигая более высоких значений, чем в группе контроля. Особенно выраженная активация биосинтеза глутатиона наблюдалась при применении ПЛ.

Таблица 3. Активность γ -глутамилцистеинсинтетазы (γ GCS) и глутатионсинтетазы (GS) в постмитохондриальной фракции больших полушарий головного мозга крыс при алюминиевом нейротоксикозе и введении N-ацетилцистеина с производными пантотеновой кислоты (нмоль/мин/мг белка)

Table 3. The activity of γ -glutamylcysteine synthetase (γ GCS) and glutathione synthetase (GS) in the post-mitochondrial fractions of the rat brain hemispheres in aluminum neurotoxicosis and the administration of N-acetylcysteine with pantothenic acid derivatives (nmol/min/mg protein)

Группа Group	γ GCS	GS
Контроль	237,3 \pm 1,8	231,2 \pm 1,1
AlCl ₃	218,0 \pm 1,5*	208,0 \pm 1,5*
AlCl ₃ + АЦЦ	263,9 \pm 1,5*#	250,8 \pm 2,6*#
AlCl ₃ + АЦЦ + ПЛ	283,7 \pm 1,8*#	273,8 \pm 2,9*#
AlCl ₃ + АЦЦ + ПТ	261,9 \pm 1,0*#	245,3 \pm 3,1*#
AlCl ₃ + АЦЦ + ГПК	260,1 \pm 1,7*#	249,5 \pm 1,4*#
AlCl ₃ + АЦЦ + ФПК	262,9 \pm 1,6*#	252,6 \pm 1,4*#

Примечание. * – $p < 0,05$ относительно контроля, # – $p < 0,05$ относительно AlCl₃.

Notes. * – $p < 0.05$ concerning intact control; # – $p < 0.05$ concerning AlCl₃.

Наиболее чувствительным индикатором редокс-состояния тиол-дисульфидной системы в условиях алюминиевого нейротоксикоза явился показатель S-глутатионирования белков (табл. 4). Повышение содержания S-глутатионированных белков наблюдалось в митохондриальной (на 65 %) и в постмитохондриальной (на 47 %) фракциях больших полушарий мозга крыс. Сочетанное введение АЦЦ с производными пантотеновой кислоты приводило к существенному снижению S-глутатионирования белков в данных фракциях, но наиболее выражено данным изменениям способствовали комбинации АЦЦ + ПЛ и АЦЦ + ФПК.

Таблица 4. Содержание S-глутатионированных белков (PSSG, нмоль/мг белка) в митохондриальной и постмитохондриальной фракциях больших полушарий головного мозга крыс при алюминиевом нейротоксикозе и введении N-ацетилцистеина с производными пантотеновой кислоты

Table 4. The level of S-glutathionylated proteins (PSSG, nmol/mg protein) in the mitochondrial and post-mitochondrial fractions of the rat brain hemispheres in aluminum neurotoxicosis and the administration of N-acetylcysteine with pantothenic acid derivatives

Группа Group	PSSG, митохондриальная фракция PSSG, mitochondrial fraction	PSSG, постмитохондриальная фракция PSSG, postmitochondrial fraction
Контроль	0,401 \pm 0,042	0,762 \pm 0,019
AlCl ₃	0,664 \pm 0,051*	1,121 \pm 0,023*
AlCl ₃ + АЦЦ	0,503 \pm 0,033*#	0,715 \pm 0,038#
AlCl ₃ + АЦЦ + ПЛ	0,360 \pm 0,042*#	0,689 \pm 0,033*#
AlCl ₃ + АЦЦ + ПТ	0,415 \pm 0,029#	0,736 \pm 0,041#
AlCl ₃ + АЦЦ + ГПК	0,478 \pm 0,032*#	0,821 \pm 0,031*#
AlCl ₃ + АЦЦ + ФПК	0,384 \pm 0,031#	0,706 \pm 0,020*#

Примечание. * – $p < 0,05$ относительно контроля, # – $p < 0,05$ относительно AlCl₃.

Notes. * – $p < 0.05$ concerning intact control; # – $p < 0.05$ concerning AlCl₃.

Заключение. Показана тесная взаимосвязь показателей окислительного стресса и сходная направленность сдвигов окислительно-восстановительного баланса в митохондриях и постмитохондриальной фракции из ткани больших полушарий мозга крыс на фоне алюминиевого нейротоксикоза. Выявлено повышение содержания стабильных АФК в митохондриях больших полушарий мозга, определяемое с разными субстратами. Содержание гидропероксидов значительно повышается и в митохондриях, и в постмитохондриальной фракции, равно как и базального, спонтанного и Fe²⁺/аскорбат-индуцированного уровней ТБКРС. Установлен феномен паде-ния S-глутатионирования белков цитозоля, вероятно, выполняющих защитную функцию, на

фоне роста содержания восстановленного глутатиона и его соотношения с окисленной формой при введении АЦЦ и предшественников КоА. Можно полагать, что это является проявлением альтернативности процессов КоА-лирования и S-глутатионилирования при ОС, вызванном нейротоксикозом.

Назначение животным предшественника биосинтеза глутатиона (N-ацетилцистеина), как правило, оказывает протекторный эффект. Защитные эффекты изученных нами препаратов (АЦЦ и его композиций с производными пантотеновой кислоты – ПЛ, ПТ, ГПК и ФПК) в этих фракциях проявляются по-разному. Так, нормализующее действие препаратов на образование АФК и свободнорадикальных продуктов более выражено в митохондриях, тогда как в постмитохондриальной фракции воздействие АЦЦ и производных пантотеновой кислоты оказалось минимальным. Назначение ГПК к АЦЦ ослабляет защитное действие предшественника глутатиона, что можно объяснить особенностями воздействия ГПК на патогенаткиназную реакцию (прямое торможение и ослабление торможения конечным продуктом биосинтеза КоА). Уместно указать, что ГПК (пантогам) является действенным фармакологическим средством при неврологических заболеваниях.

Изменения показателей системы глутатиона на фоне действия хлорида алюминия, свидетельствующие о снижении восстановительного потенциала системы глутатиона (снижение содержания GSH, увеличение GSSG и снижение соотношения GSH/GSSG), наблюдаются в обеих фракциях, но в митохондриях они выражены больше, что является подтверждением тесной взаимосвязи свободнорадикальных процессов в митохондриях и редокс-статуса системы глутатиона. Что касается ферментов метаболизма глутатиона, то их активность повышается (GPx, GST) в митохондриях, а в постмитохондриальной фракции повышается активность как GPx, GST, так и GR. Другим фактором напряжения системы глутатиона является возрастание уровня S-глутатионилирования белков как в митохондриальной, так и постмитохондриальной фракции. В то же время активность ферментов биосинтеза глутатиона (γ GCS, GS) в постмитохондриальной фракции достоверно снижается при алюминиевом нейротоксикозе, но восстанавливается при назначении редокс-модуляторов и особенно выражено при их композиции.

Изменения системы глутатиона, а также содержания S-глутатионилированных белков предупреждаются назначением N-ацетилцистеина (АЦЦ) и комплекса АЦЦ с модуляторами биосинтеза кофермента А – D-пантенолом, D-пантетином, гомопантотенатом кальция и 4'-фосфопантотенатом кальция. По-видимому, эти эффекты преимущественно связаны с действием АЦЦ, о чем свидетельствует значительное повышение активности ферментов биосинтеза глутатиона в присутствии АЦЦ на фоне хлорида алюминия, тогда как активность GPx, GR и GST в присутствии АЦЦ и его комбинаций с производными пантотеновой кислоты к уровню контроля не возвращаются. Не вызывает сомнения, что добавление в композицию ПЛ, ПТ или ФПК усиливает нормализующий эффект АЦЦ на S-глутатионилирование белков.

Полученные результаты указывают на высокую эффективность предшественника биосинтеза глутатиона N-ацетилцистеина в предупреждении окислительного стресса в хронической модели алюминиевого нейротоксикоза, что может быть обоснованием его применения как модулятора редокс-статуса митохондрий при развитии нейродегенеративной патологии.

Эффекты предшественников биосинтеза КоА требуют дальнейшего углубленного изучения в связи с открытием альтернативного процесса посттрансляционной модификации белков – КоА-лирования, затрагивающего митохондриальные ферменты и причастного к ответу животного организма на окислительный стресс. В этом плане обращает на себя внимание различие эффектов N-ацетилцистеина с D-пантенолом и гомопантотенатом, что может быть инструментом дальнейшего выяснения взаимоотношений биосинтеза КоА и глутатиона как центральных звеньев реализации сигнального пути mTOR и редокс-сигнализации при иницировании и генерализации окислительного стресса.

Список использованных источников

1. Lezi, E. Mitochondria in neurodegeneration / E. Lezi, R. H. Swerdlow // Adv. Exp. Med. Biol. – 2012. – Vol. 942. – P. 269–286. https://doi.org/10.1007/978-94-007-2869-1_12

2. Mitochondrial dysfunction, oxidative stress and neurodegeneration / M. Mancuso [et al.] // *J. Alzheimers Dis.* – 2006. – Vol. 10, N 1. – P. 59–73. <https://doi.org/10.3233/jad-2006-10110>
3. Dringen, R. Glutathione pathways in the brain / R. Dringen, J. Hirrlinger // *Biol. Chem.* – 2003. – Vol. 384, N 4. – P. 505–516. <https://doi.org/10.1515/bc.2003.059>
4. Кулинский, В. И. Биологическая роль глутатиона / В. И. Кулинский, Л. С. Колесниченко // *Успехи соврем. биол.* – 1990. – Т. 110, № 1. – С. 20–32.
5. Perluigi, M. mTOR signaling in aging and neurodegeneration: At the crossroad between metabolism dysfunction and impairment of autophagy / M. Perluigi, F. Di Domenico, D. A. Butterfield // *Neurobiol. Dis.* – 2015. – Vol. 84. – P. 39–49. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2015.03.014>
6. Mechanisms Underlying Aluminum Neurotoxicity Related to 14-3-3 ζ Protein / H. Wang [et al.] // *Toxicol Sci.* – 2018. – Vol. 163, N 1. – P. 45–56. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfy021>
7. Said, M. M. Neuroprotective effects of eugenol against aluminium induced toxicity in the rat brain / M. M. Said, M. M. Rabo // *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology.* – 2017. – Vol. 68, N 1. – P. 27–37. <https://doi.org/10.1515/aiht-2017-68-2878>
8. Pallotti, F. Isolation and subfractionation of mitochondria from animal cells and tissue culture lines / F. Pallotti, G. Lenaz // *Methods Cell Biol.* – 2007. – Vol. 80. – P. 3–44. [https://doi.org/10.1016/s0091-679x\(06\)80001-4](https://doi.org/10.1016/s0091-679x(06)80001-4)
9. 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>
10. 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, N 6. – P. 3159–3165. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.378>
11. 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)
12. 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.
13. 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)
14. A spectrophotometric assay of gamma-glutamylcysteine synthetase and glutathione synthetase in crude extracts from tissues and cultured mammalian cells / G. Volohonsky [et al.] // *Chem. Biol. Interact.* – 2002. – Vol. 140, N 1. – P. 49–65. [https://doi.org/10.1016/s0009-2797\(02\)00017-0](https://doi.org/10.1016/s0009-2797(02)00017-0)
15. 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>

References

1. Lezi E., Swerdlow R. H. Mitochondria in neurodegeneration. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 2012, vol. 942, pp. 269–286. https://doi.org/10.1007/978-94-007-2869-1_12
2. Mancuso M., Coppede F., Migliore L., Siciliano G., Murri L. Mitochondrial dysfunction, oxidative stress and neurodegeneration. *Journal of Alzheimer's Disease*, 2006, vol. 10, no. 1, pp. 59–73. <https://doi.org/10.3233/jad-2006-10110>
3. Dringen R., Hirrlinger J. Glutathione pathways in the brain. *Biological Chemistry*, 2003, vol. 384, no. 4, pp. 505–516. <https://doi.org/10.1515/bc.2003.059>
4. Kulinsky V. I., Kolesnichenko L. S. The biological role of glutathione. *Uspekhi sovremennoi biologii* [Advances in Modern Biology], 1990, vol. 110, no. 1, pp. 20–32 (in Russian).
5. Perluigi M., Di Domenico F., Butterfield D. A. mTOR signaling in aging and neurodegeneration: At the crossroad between metabolism dysfunction and impairment of autophagy. *Neurobiology of Disease*, 2015, vol. 84, pp. 39–49. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2015.03.014>
6. Wang H., Cheng D., Jiang W., Ma Y. Mechanisms Underlying Aluminum Neurotoxicity Related to 14-3-3 ζ Protein. *Toxicological Sciences*, 2018, vol. 163, no. 1, pp. 45–56. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfy021>
7. Said M. M., Rabo M. M. Neuroprotective effects of eugenol against aluminium induced toxicity in the rat brain. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 2017, vol. 68, no. 1, pp. 27–37. <https://doi.org/10.1515/aiht-2017-68-2878>
8. Pallotti F., Lenaz G. Isolation and subfractionation of mitochondria from animal cells and tissue culture lines. *Methods in Cell Biology*, 2007, vol. 80, pp. 3–44. [https://doi.org/10.1016/s0091-679x\(06\)80001-4](https://doi.org/10.1016/s0091-679x(06)80001-4)
9. Ďurfinová M., Brechtlová M., Líška 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>
10. 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, no. 6, pp. 3159–3165. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.378>
11. 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)
12. 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.

13. 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)

14. Volohonsky G., Tuby C. N. Y. H., Porat N., Wellman-Rousseau M., Visvikis A., Leroy P., Rashi Sh., Steinberg P., Stark A.-A. A spectrophotometric assay of gamma-glutamylcysteine synthetase and glutathione synthetase in crude extracts from tissues and cultured mammalian cells. *Chemico-Biological Interactions*, 2002, vol. 140, no. 1, pp. 49–65. [https://doi.org/10.1016/s0009-2797\(02\)00017-0](https://doi.org/10.1016/s0009-2797(02)00017-0)

15. 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>

Информация об авторах

Семенович Дмитрий Сергеевич – мл. науч. сотрудник. Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (бул. Ленинского Комсомола, 50, 230030, Гродно, Республика Беларусь). E-mail: semenovich@ibiochemistry.by.

Канунникова Нина Павловна – д-р биол. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (бул. Ленинского Комсомола, 50, 230030, Гродно, Республика Беларусь). E-mail: n.kanunnikava@gmail.com.

Мойсеёнок Андрей Георгиевич – член-корреспондент, д-р биол. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (бул. Ленинского Комсомола, 50, 230030, Гродно, Республика Беларусь). E-mail: andrey.moiseenok@tut.by.

Information about the authors

Semenovich Dmitry Sergeevich – Junior researcher. Institute of Biochemistry of Biologically Active Substances of the National Academy of Science of Belarus (50, bul'var Leninskogo Komsomola, 230030, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: semenovich@ibiochemistry.by.

Kannunikova Nina Pavlovna – D. Sc. (Biology), Professor, Chief researcher. Institute of Biochemistry of Biologically Active Substances of the National Academy of Science of Belarus (50, bul'var Leninskogo Komsomola, 230030, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: n.kanunnikava@gmail.com.

Moiseenok Andrey Georgievich – Corresponding Member, D. Sc. (Biology), Professor, Chief researcher. Institute of Biochemistry of Biologically Active Substances of the National Academy of Science of Belarus (50, bul'var Leninskogo Komsomola, 230030, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: andrey.moiseenok@tut.by.