

МОДУЛЯЦИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА И ТИОЛ-ДИСУЛЬФИДНОГО БАЛАНСА В СТРУКТУРАХ МОЗГА ПРОИЗВОДНЫМИ ПАНТОТЕНОВОЙ КИСЛОТЫ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

© 2021 г. Д. С. Семенович¹, Е. П. Лукиенко¹, Н. П. Канунникова^{2, *}

¹Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси, Гродно, Беларусь

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

Поступила в редакцию 03.08.2020 г.

После доработки 10.10.2020 г.

Принята к публикации 25.10.2020 г.

Проведено исследование изменений показателей свободнорадикального окисления и тиол-дисульфидного статуса в структурах головного мозга в экспериментальной модели болезни Паркинсона (БП) на крысах, осуществляемой посредством введения животным ротенона. В качестве нейромодуляторов использовали производные пантотеновой кислоты – пантенол (ПЛ), пантетин (ПТ) и гомопантотеновую кислоту (ГПК). Установлено, что нарушения окислительно-восстановительного баланса в мозге при действии ротенона сопровождаются не только активацией свободнорадикальных процессов, но и выраженным угнетением антиоксидантной защиты, проявляющимся в уменьшении общей антиоксидантной активности, значительном снижении восстановительного потенциала системы глутатиона и усилении глутатионилирования белков. Эти изменения проявляются в наибольшей степени в базальных ганглиях мозга. ПЛ и ПТ, но не ГПК уменьшают изменения свободнорадикального окисления и тиол-дисульфидного баланса в структурах мозга. Механизмы нейротекторного действия ПЛ и ПТ, осуществляемые во взаимосвязи с изменениями биосинтеза CoA на фоне экспериментального нейротоксикоза, очевидно, связаны с их способностью повышать восстановительный потенциал системы глутатиона и таким образом уменьшать проявления окислительного стресса.

Ключевые слова: экспериментальный нейротоксикоз, структуры мозга, болезнь Паркинсона, окислительный стресс, система глутатиона, тиол-дисульфидный баланс, S-глутатионилирование белков, пантенол, пантетин, гомопантотеновая кислота

DOI: 10.31857/S102781332101012X

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время болезнь Паркинсона (БП) является одним из наиболее распространенных нейродегенеративных заболеваний среди людей старших возрастных групп. Симптомы БП развиваются вследствие селективной гибели DA-нейронов в черной субстанции среднего мозга, связанной с образованием избытка свободных радикалов и развитием окислительного стресса [1, 2]. Роль свободнорадикальных продуктов и окислительного стресса в процессах нейродегенерации, в частности при БП, изучена достаточно полно, тогда как исследование систем поддержания редокс-баланса начало привлекать внимание исследователей только в последние годы [3–7], особенно после обобщения данных о том, что применение различ-

ных антиоксидантов с целью связывания избытка свободных радикалов в нервной ткани показало высокую эффективность в условиях эксперимента, но выявило недостаточную эффективность антиоксидантной терапии в условиях клиники. Исходя из этого, изучение изменений антиоксидантной защиты и тиол-дисульфидного баланса при БП и других видах нейродегенеративных нарушений приобретает все большую актуальность.

Доказательством важной роли восстановительного потенциала системы глутатиона в развитии окислительного стресса в мозге является уменьшение содержания GSH в посмертных образцах ткани мозга пациентов с БП по сравнению с тканью мозга пациентов без неврологической симптоматики [8]. Активация систем антиоксидантной защиты, которая сопровождается повышением уровня GSH, защищает DA-нейроны от гибели [9]. Установлены нарушения системы ре-

* Адресат для корреспонденции: 230012 Беларусь, Гродно, БЛК, 50; e-mail: n.kanunnikova@grsu.by.

докс потенциала системы глутатиона в экспериментальной модели БП на крысах, вызванной введением ротенона [10].

Маркерами окислительного стресса, которые наиболее часто обнаруживаются в посмертных экстрактах тканей пациентов с БП, являются белковые карбонилы, аддукты липопереокисления, продукты окисления ДНК [11]. Однако до сих пор не совсем ясно, являются ли эти изменения причиной или следствием нарушения функций белков и клеточных процессов. К настоящему времени накоплено много доказательств в пользу того, что ковалентные модификации цистеиновых остатков могут более эффективно влиять на повреждения тканей при окислительном стрессе при нейродегенеративных патологиях человека, чем реакции, связанные со свободными радикалами [12]. Реакции глутатионилирования/деглутатионилирования регулируются за счет экспрессии и активности глутаредоксина (Grx) и доступности субстрата GSH, который необходим для химического восстановления Grx.

Исходя из этого, мы провели исследование изменений показателей свободнорадикального окисления и тиол-дисульфидного статуса в структурах головного мозга в экспериментальной модели БП на крысах, осуществляемой посредством введения животным ротенона. В качестве нейромодуляторов использовали производные пантотеновой кислоты, которые проявили нейропротекторную активность в моделях алюминиевого нейротоксикоза, ишемии-реперфузии мозга и других [13].

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальные модели были выполнены на самках крыс линии Wistar CRL: (WI) WUBR массой 180–200 г, содержащихся в стандартных условиях вивария в соответствии с существующими нормами содержания лабораторных животных.

Ротенон (Р) вводили ежедневно в течение 6 нед. (2.5 мг/мг, подкожно, растворитель – смесь DMSO с подсолнечным маслом) [14]. С 5 нед. эксперимента на протяжении 14 дней ежедневно вводили производные пантотеновой кислоты (200 мг/кг, внутривенно) – D-пантенол (ПЛ), D-пантетин (ПТ) и гомопантотенат кальция (ГПК). Крысам контрольной группы вводили раствор DMSO в подсолнечном масле. На 43-й день эксперимента крыс декапитировали, извлекали головной мозг и препарировали на холоде, выделяя базальные ганглии, большие полушария и гиппокамп. Ткани помещали в жидкий азот и хранили при температуре -82°C .

Окислительный стресс оценивали по общей антиоксидантной активности (ОАА), определяемой по восстановлению катион-радикалов 2-2'-азино-бис-(3-этил-бензотиазолилсульфоной

кислоты) [15], количеству общих гидропероксидов, измеряемых колориметрическим методом с применением ксиленолового оранжевого [16]. При определении конечных продуктов перекисного окисления липидов использовали методические указания [17, 18], которые позволяют выявлять содержание свободных и белковосвязанных тиобарбитурат-реагирующих соединений (ТБКРС), а также спонтанный и железоаскорбат-индуцированный уровни ТБКРС.

Для определения содержания белковых тиолов (PSH) и дисульфидов (PSSP) в гомогенате ткани использовали спектрофотометрический метод с использованием реактива Элмана [19, 20].

Содержание общего, восстановленного и окисленного глутатиона определяли ферментативным рециклическим методом с использованием глутатионредуктазы [21, 22]. 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 [23–25] соответственно. Содержание S-глутатионилированных белков определяли спектрофлуориметрическим методом [26].

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 значении $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Длительное введение крысам ротенона привело к активации ПОЛ, о чем свидетельствует повышение содержания всех изученных нами фракций ТБКРС в структурах мозга (табл. 1). Наиболее выраженное повышение содержания ТБКРС отмечалось в базальных ганглиях: белковосвязанных форм ТБКРС на 41%, спонтанного уровня ТБКРС на 31% и Fe/аскорбат-индуцированного уровня на 28% ($p < 0.05$), тогда как в гиппокампе содержание всех форм ТБКРС повысилось на 35–34–16–46%, в больших полушариях – на 17–16–9–28% соответственно. Это подтверждает данные литературы о преимущественном повреждающем действии ротенона на базальные ганглии [1, 14]. ПЛ и ПТ способствовали достоверному снижению содержания всех форм ТБКРС до уровня контроля во всех структурах мозга. Введение ГПК крысам на фоне ротенона не привело к

Таблица 1. Содержание ТБКРС в структурах мозга при введении ротенона (2.5 мг/кг, п/к, 6 нед.) и производных пантотеновой кислоты (200 мг/кг, в/ж, 5–6 нед. эксперимента), ($M \pm SEM$, $n = 8$)

Группы	ТБКРС, нмоль/мг белка			
	свободные	белковосвязанные	спонтанный уровень	Fe ²⁺ /аскорбат-индуцированный уровень
Большие полушария				
Контроль	0.576 ± 0.027	8.552 ± 0.039	5.124 ± 0.036	14.12 ± 0.28
Р	0.776 ± 0.025*	11.446 ± 0.042*	5.920 ± 0.035*	20.56 ± 0.34*
Р + ПЛ	0.520 ± 0.031*#	8.439 ± 0.044#	5.226 ± 0.033#	17.08 ± 0.29*#
Р + ПТ	0.626 ± 0.045*	8.135 ± 0.044#	5.304 ± 0.030#	17.89 ± 0.30*#
Р + ГПК	0.750 ± 0.042*	11.562 ± 0.040*	5.945 ± 0.042*	19.56 ± 0.32*
Базальные ганглии				
Контроль	0.582 ± 0.012	8.492 ± 0.038	4.540 ± 0.030	16.08 ± 0.32
Р	0.942 ± 0.013*	14.370 ± 0.037*	6.748 ± 0.023*	22.47 ± 0.30*
Р + ПЛ	0.704 ± 0.015*#	9.274 ± 0.028*#	5.298 ± 0.020*#	19.87 ± 0.54*#
Р + ПТ	0.768 ± 0.019*#	8.362 ± 0.025#	5.522 ± 0.020*#	20.92 ± 0.42*
Р + ГПК	0.904 ± 0.015*	13.994 ± 0.040*	6.650 ± 0.029*	21.32 ± 0.65*
Гиппокамп				
Контроль	0.508 ± 0.012	7.752 ± 0.022	4.792 ± 0.024	15.32 ± 0.24
Р	0.596 ± 0.013*	8.984 ± 0.020*	5.229 ± 0.023*	19.69 ± 0.30*
Р + ПЛ	0.495 ± 0.012#	8.865 ± 0.030*	5.122 ± 0.020*	17.08 ± 0.30*#
Р + ПТ	0.556 ± 0.032	8.921 ± 0.021*	5.168 ± 0.030*	18.86 ± 0.52*
Р + ГПК	0.605 ± 0.020*	8.919 ± 0.020*	5.246 ± 0.031*	20.11 ± 0.31*

Примечание: * $p < 0.05$ по отношению к контролю, # $p < 0.05$ по отношению к ротенону.

заметным изменениям содержания всех изученных форм ТБКРС.

Подтверждением наличия окислительного стресса при действии ротенона явилось повышение содержания общих гидропероксидов и снижение ОАА в структурах мозга крыс (табл. 2). Наиболее выраженные изменения также были отмечены в базальных ганглиях, где наблюдалось увеличение гидропероксидов на 28% и снижение ОАА на 16%, в то время как содержание гидропероксидов повысилось на 22 и 18%, ОАА снизилась на 8 и 5% в гиппокампе и больших полушариях соответственно. Введение животным ПТ и ПЛ на фоне ротенона способствовало нормализации данных показателей, тогда как влияние ГПК было значительно слабее.

Изучение изменений системы глутатиона показало, что введение ротенона сопровождалось снижением содержания GSH на 24%, повышением уровня GSSG на 11% и снижением соотношения GSH/GSSG на 32% в базальных ганглиях (табл. 3). В гиппокампе уровень GSH и соотношение GSH/GSSG снизились на 10 и 20%, а содержание GSSG повысилось на 14%. В больших полушариях содержание GSH при этом снизилось

лишь на 5% и соотношение GSH/GSSG – на 8% при отсутствии изменений уровня GSSG. Введение ПЛ и ПТ на фоне ротенона способствовало восстановлению уровня GSH и GSSG, а также соотношения GSH/GSSG в базальных ганглиях и других изученных структурах мозга. Действие ГПК было более слабым.

Введение ротенона способствовало увеличению активности глутатионредуктазы, глутатион-S-трансферазы и глутатионпероксидазы в структурах мозга (табл. 4). В базальных ганглиях эти изменения были более выраженными, чем в других структурах: активность GST повысилась на 15%, GPx – на 20%, GR – на 30% ($p < 0.05$) выше значений в контрольной группе ($p < 0.05$). Введение животным предшественников биосинтеза КоА ПЛ и ПТ приводило к снижению активности данных ферментов, не достигшему, однако, уровня контроля. ГПК практически не оказал влияния на их активность.

В отношении белковых тиолов и дисульфидов воздействие ротенона также было более выраженным в базальных ганглиях, где наблюдалось снижение содержания PSH на 19% и увеличение содержания PSSP на 30% со снижением соотно-

Таблица 2. Содержание общих гидропероксидов и общая антиоксидантная активность в структурах мозга при хроническом введении ротенона (2.5 мг/кг, п/к, 6 нед.) и производных пантотеновой кислоты (200 мг/кг, в/ж, 5–6 нед. эксперимента), ($M \pm SEM$, $n = 8$)

Группы	ROOH, нмоль/мг белка	ОАА, нмоль экв. GSH/мг белка
Большие полушария		
Контроль	22.36 ± 0.61	81.42 ± 2.70
Р	27.35 ± 0.58*	75.12 ± 2.32*
Р + ПЛ	24.29 ± 0.45*#	78.62 ± 2.29*#
Р + ПТ	25.16 ± 0.44*#	75.12 ± 2.24*
Р + ГПК	28.11 ± 0.60*	75.87 ± 2.52*
Базальные ганглии		
Контроль	28.78 ± 0.36	86.55 ± 2.40
Р	39.72 ± 0.40*	73.12 ± 2.46*
Р + ПЛ	33.43 ± 0.38*#	82.88 ± 2.39*#
Р + ПТ	32.57 ± 0.30*#	79.10 ± 2.38*#
Р + ГПК	40.21 ± 0.52*	75.41 ± 2.37*
Гиппокамп		
Контроль	28.23 ± 0.32	82.10 ± 2.12
Р	33.42 ± 0.30*	78.29 ± 2.23*
Р + ПЛ	33.12 ± 0.31*	78.65 ± 2.24*
Р + ПТ	33.89 ± 0.31*	77.05 ± 2.21*
Р + ГПК	34.92 ± 0.68*	78.49 ± 2.62*

Примечание: * $p < 0.05$ по отношению к контролю, # $p < 0.05$ по отношению к ротенону.

шения PSH/PSSP на 42%, тогда как в больших полушариях и гиппокампе эти показатели изменились на 10–25–30% и 3–18–20% соответственно (табл. 5). Обращает на себя внимание тот факт, что если в базальных ганглиях нормализующее действие на уровень белковых тиолов и дисульфидов оказали только ПЛ и ПТ, то в больших полушариях и гиппокампе показатели белкового тиол-дисульфидного баланса возвратились к контрольным значениям при действии всех изученных нами производных пантотеновой кислоты.

Изменения в системе глутатиона и белковых тиолов и дисульфидов при действии ротенона сопровождались повышением содержания S-глутатионилированных белков на 36% в базальных ганглиях и на 18–19% соответственно в больших полушариях и гиппокампе (табл. 5). Действие ПЛ и ПТ привело к ослаблению эффекта ротенона на данный показатель, тогда как ГПК практически не оказал влияния во всех структурах мозга.

ОБСУЖДЕНИЕ

Воздействие ротенона – ингибитора комплекса I электронтранспортной цепи митохондрий – при-

водит к развитию окислительного стресса в структурах мозга, причем наиболее выражено это проявляется в базальных ганглиях [3, 7]. Так, именно в этой структуре мозга, по нашим данным, отмечается повышение активности ПОЛ и снижение общей антиоксидантной активности что свидетельствует о значительном повышении процессов образования свободных радикалов и угнетении систем антиоксидантной защиты. Снижение уровня восстановленного глутатиона, повлекшее снижение соотношения GSH/GSSG, уменьшение содержания белковых тиолов и повышение уровня S-глутатионилированных белков в этой структуре мозга, активацию GST, очевидно, являются следствием активного участия системы глутатиона в поддержании окислительно-восстановительного баланса на фоне действия ротенона [27]. Это подтверждается данными корреляционного анализа, показавшего наличие тесной взаимосвязи между снижением редокс-соотношения глутатиона и повышением уровня его дисульфидной формы ($r = -0.8762$, $p < 0.05$) при действии ротенона.

Об участии пантотеновой кислоты в поддержании тиольного и иммунного баланса в разных тканях указывалось в работе [28]. Нейропротекторное действие производных пантотеновой кислоты было установлено при ишемии головного мозга [29, 30], в алюминиевой модели нейродегенерации [13], а совсем недавно [31] появились сведения о важной роли пантотената и пантетина в процессах миелинизации в нервной ткани. Нами показано, что ПЛ и ПТ способствуют уменьшению проявлений окислительного стресса, повышению соотношения GSH/GSSG, снижению уровня S-глутатионилированных белков во всех структурах мозга при действии ротенона. Наиболее выраженное влияние данных препаратов наблюдается в базальных ганглиях. При этом наблюдается тесная взаимосвязь между возвращениями соотношения GSH/GSSG к контрольным значениям не только с изменениями уровня дисульфидной формы глутатиона ($r = -0.8333$, $p < 0.05$), но и общей антиоксидантной активности ($r = -0.5476$, $p < 0.05$), что подтверждает наличие прямого антиоксидантного действия ПЛ и ПТ через систему глутатиона. Выявленная положительная корреляция между активностью глутатионпероксидазы и редокс-соотношением глутатиона ($r = 0.6190$, $p < 0.05$) дает основание полагать, что протекторное действие ПЛ при ротеноновом нейротоксикозе реализуется преимущественно через изменения активности глутатионпероксидазы.

Механизмы нейропротекторного действия ПЛ и ПТ на фоне экспериментального нейротоксикоза, по-видимому, связаны с их способностью повышать восстановительный потенциал системы глутатиона и таким образом уменьшать проявления окислительного стресса и осуществляются в значительной степени во взаимосвязи с

Таблица 3. Содержание восстановленного и окисленного глутатиона в структурах мозга при хроническом введении ротенона (2.5 мг/кг, п/к, 6 нед.) и производных пантотеновой кислоты (200 мг/кг, в/ж, 5–6 нед. эксперимента), ($M \pm SEM$, $n = 8$)

Группы	GSH, нмоль/мг белка	GSSG, нмоль/мг белка	GSH/GSSG
Большие полушария			
Контроль	18.26 ± 0.41	0.115 ± 0.004	160.78 ± 4.2
Р	17.42 ± 0.36*	0.121 ± 0.005	146.53 ± 3.9*
Р + ПЛ	18.52 ± 0.44	0.111 ± 0.004	164.12 ± 3.7#
Р + ПТ	18.39 ± 0.41	0.108 ± 0.006	168.67 ± 4.1#
Р + ГПК	18.12 ± 0.39	0.117 ± 0.005	156.87 ± 4.8#
Базальные ганглии			
Контроль	25.87 ± 0.51	0.110 ± 0.004	236.34 ± 3.8
Р	19.54 ± 0.49*	0.124 ± 0.005*	160.58 ± 4.3*
Р + ПЛ	22.89 ± 0.46*#	0.116 ± 0.004#	194.73 ± 5.1*#
Р + ПТ	21.76 ± 0.48*#	0.114 ± 0.005#	193.88 ± 4.5*#
Р + ГПК	20.15 ± 0.52*	0.112 ± 0.006#	180.91 ± 3.9*#
Гиппокамп			
Контроль	21.35 ± 0.38	0.107 ± 0.003	198.68 ± 3.9
Р	19.12 ± 0.40*	0.122 ± 0.005*	158.72 ± 4.6*
Р + ПЛ	21.52 ± 0.41	0.100 ± 0.004#	214.50 ± 3.8*#
Р + ПТ	21.69 ± 0.39	0.098 ± 0.005#	218.38 ± 3.7*#
Р + ГПК	21.41 ± 0.42	0.104 ± 0.003#	210.84 ± 4.2*#

Примечание: * $p < 0.05$ по отношению к контролю, # $p < 0.05$ по отношению к ротенону.**Таблица 4.** Активность ферментов окислительно-восстановительных превращений глутатиона в структурах мозга крыс при хроническом введении ротенона (2.5 мг/кг, п/к, 6 нед.) и производных пантотеновой кислоты (200 мг/кг, в/ж, 5–6 нед. эксперимента), ($M \pm SEM$, $n = 8$)

Группы	GR, нмоль GSH/мин/мг белка	GST, нмоль GSH-CDNB конъюгатов /мин/мг белка	GPx (t-BHP), нмоль NADHP/мин/мг белка
Большие полушария			
Контроль	36.21 ± 0.29	65.11 ± 0.41	28.96 ± 0.32
Р	40.34 ± 0.27*	70.36 ± 0.46*	32.01 ± 0.28*
Р + ПЛ	37.16 ± 0.26*#	68.27 ± 0.39#	31.25 ± 0.30#
Р + ПТ	37.26 ± 0.28*#	67.79 ± 0.42#	30.65 ± 0.29#
Р + ГПК	39.98 ± 0.30*	71.12 ± 0.42*	32.36 ± 0.33*
Базальные ганглии			
Контроль	30.19 ± 0.33	59.73 ± 0.45	32.63 ± 0.29
Р	39.65 ± 0.30*	70.36 ± 0.49*	39.23 ± 0.28*
Р + ПЛ	35.16 ± 0.31*#	64.36 ± 0.48*#	33.21 ± 0.26#
Р + ПТ	34.72 ± 0.29*#	61.83 ± 0.41*#	31.96 ± 0.28#
Р + ГПК	39.33 ± 0.31*	68.17 ± 0.46*	40.10 ± 0.32*
Гиппокамп			
Контроль	31.63 ± 0.30	61.31 ± 0.42	31.42 ± 0.30
Р	35.87 ± 0.34*	68.25 ± 0.44*	36.61 ± 0.31*
Р + ПЛ	34.12 ± 0.28*#	65.12 ± 0.40*#	33.65 ± 0.29*#
Р + ПТ	33.26 ± 0.28*#	64.52 ± 0.41*#	33.12 ± 0.30*#
Р + ГПК	35.61 ± 0.36*	69.32 ± 0.44*	36.42 ± 0.33*

Примечание: * $p < 0.05$ по отношению к контролю, # $p < 0.05$ по отношению к ротенону.

Таблица 5. Содержание белковых тиолов и дисульфидов, глутатионилированных белков в структурах мозга при хроническом введении ротенона (2.5 мг/кг, п/к, 6 нед.) и производных пантотеновой кислоты (200 мг/кг, в/ж, 5–6 нед. эксперимента), ($M \pm SEM$, $n = 8$)

Группы	PSH, мкмоль/г ткани	PSSP, мкмоль/г ткани	PSH/PSSP	PSSG, нмоль/мг белка
Большие полушария				
Контроль	10.12 ± 0.78	4.12 ± 0.51	2.64 ± 0.41	0.495 ± 0.015
P	9.16 ± 0.56*	5.17 ± 0.60*	1.83 ± 0.49*	0.592 ± 0.018*
P + ПЛ	10.28 ± 0.68#	4.21 ± 0.62#	2.53 ± 0.53#	0.515 ± 0.016#
P + ПТ	10.06 ± 0.72#	4.38 ± 0.64#	2.41 ± 0.55#	0.506 ± 0.015#
P + ГПК	10.34 ± 0.70#	4.05 ± 0.52#	2.58 ± 0.60#	0.531 ± 0.014*
Базальные ганглии				
Контроль	10.66 ± 0.64	4.23 ± 0.48	2.62 ± 0.51	0.567 ± 0.019
P	8.65 ± 0.69*	6.05 ± 0.56*	1.53 ± 0.64*	0.884 ± 0.025*
P + ПЛ	10.21 ± 0.67#	4.48 ± 0.52#	2.36 ± 0.59#	0.724 ± 0.021*#
P + ПТ	9.84 ± 0.55*	4.33 ± 0.45#	2.21 ± 0.45#	0.689 ± 0.020*#
P + ГПК	8.59 ± 0.72*	5.19 ± 0.59#	1.55 ± 0.41*	0.898 ± 0.026*#
Гиппокамп				
Контроль	10.33 ± 0.54	4.10 ± 0.42	2.61 ± 0.63	0.511 ± 0.028
P	9.98 ± 0.45*	4.86 ± 0.43	2.08 ± 0.51*	0.603 ± 0.016*
P + ПЛ	10.42 ± 0.60	4.01 ± 0.50	2.58 ± 0.43	0.523 ± 0.011#
P + ПТ	10.51 ± 0.52	4.21 ± 0.51	2.51 ± 0.55	0.509 ± 0.012#
P + ГПК	10.39 ± 0.54	4.12 ± 0.52	2.64 ± 0.60	0.610 ± 0.020*

Примечание: * $p < 0.05$ по отношению к контролю, # $p < 0.05$ по отношению к ротенону.

изменениями биосинтеза CoA [13]. Об этом свидетельствует защитное действие ПЛ и ПТ, которые являются предшественниками биосинтеза CoA, тогда как ГПК, производное пантотеновой кислоты, в которой β-аланиновый остаток замещен на ГАМК, и она не может превращаться в CoA, такого влияния не оказывает. В то же время ГПК успешно восстанавливает белковый тиол-дисульфидный баланс не только в базальных ганглиях, но и в больших полушариях и гиппокампе. Это может быть связано с эффектами ГПК как соединения с выраженной нейротропной активностью, осуществляемой не столько через модуляцию окислительно-восстановительного баланса, сколько через воздействие на нейромедиаторные системы мозга, в частности через воздействие на ГАМК-рецепторы [32].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нарушения окислительно-восстановительного баланса в мозге в экспериментальной модели

БП сопровождаются не только активацией ПОЛ, но и выраженным угнетением антиоксидантной защиты, проявляющимся в уменьшении общей антиоксидантной активности, значительном снижении восстановительного потенциала системы глутатиона. Эти изменения при действии ротенона проявляются в наибольшей степени в базальных ганглиях мозга. Механизмы нейропротекторного действия ПЛ и ПТ, осуществляемые во взаимосвязи с изменениями биосинтеза CoA на фоне экспериментального нейротоксикоза, очевидно, связаны с их способностью повышать восстановительный потенциал системы глутатиона и таким образом уменьшать проявления окислительного стресса.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке гранта 1.64 ГПНИ Республики Беларусь “Биотехнологии”, 2016–2020 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. Miller R.L., James-Kracker M., Sun G.Y., Sun A.Y. // *Neurochem. Res.* 2009. Т. 34. С. 55–65.
2. Sofic E., Lange K.W., Jellinger K., Riederer P. // *Neurosci. Lett.* 1992. V. 142. P. 128–130.
3. Gu F., Chauhan V. // *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* 2015. V. 18. P. 89–95.
4. Aoyama K., Nakaki T. // *Internat. J. Mol. Sci.* 2013. V. 14. № 10. P. 21021–21044.
5. McBean G.J., Mutay Aslan, Griffiths H.R., Torrão R.C. // *Redox Biol.* 2015. V. 5. P. 186–194.
6. McBean G.L., López M.G., Wallner F.K. // *British J. Pharm.* 2017. V. 174. P. 1750–1770.
7. Gitler A.D., Dhillon P., Shorter J. // *Dis. Models Mech.* 2017. V. 10. P. 499–502.
<https://doi.org/10.1242/dmm.030205>
8. Johnson W.M., Wilson-Delfosse A.L., Mieyal J.J. // *Nutrients.* 2012. V. 4. P. 1399–1440.
9. Schulz J.B., Lindenau J., Seyfried J., Dichgans J. // *Eur. J. Biochem.* 2000. V. 267. № 16. P. 4904–4911.
10. Bashun N., Kanunnikova N., Semenov D.S., Raduta E., Lis R. // *German Science Herald.* 2017. № 1. P. 13–18.
11. Chung K.K., Dawson V.L., Dawson T.M. // *Methods Enzymol.* 2005. V. 396. P. 139–150.
12. Melo A., Monteiro L., Lima R.M.F., de Oliveira D.M., de Cerqueira M.D., El-Bachá R.S. // *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2011. V. 2011. P. 467180.
13. Семенович Д.С., Канунникова Н.П., Мойсеёнок А.Г. // Докл. НАН Беларуси. Сер. мед. наук. 2020. Т. 64. № 1. С. 78–85.
14. Zhang Z.N., Zhang J.S., Xiang J., Yu Zh.H., Zhang W., Cai M., Li X.T., Wu T., Li W.W., Cai D.F. // *Brain Res.* 2017. № 1655. P. 104–113.
15. Erel O. // *Clin. Biochem.* 2004. V. 37. P. 277–285.
16. Hermes-Lima M., Willmore W.G., Storey K.B. // *Free Rad. Biol. Med.* 1995. V. 19. № 3. P. 271–280.
17. Mihara M., Uchiyama M. // *Anal. Biochem.* 1978. V. 86. № 1. P. 271–278.
18. Durfinova M., Brechtlova M., Liska B., Baroskova Z. // *Chemical Papers.* 2007. V. 61. № 4. P. 321–325.
19. Robyt J.F., Ackerman R.J., Chittenden C.G. // *Arch. Biochem. Biophys.* 1971. V. 147. P. 262–269.
20. Patsoukis N., Georgiou C.D. // *Anal. Bioanal. Chem.* 2004. V. 378. P. 1783–1792.
21. Anderson M.E. // *Methods Enzymol.* 1985. V. 113. P. 548–555.
22. Rahman I., Kode A., Biswas S.K. // *Nat. Protoc.* 2006. V. 1. № 6. P. 3159–3165.
23. Flohé L., Günzler W.A. // *Methods Enzymol.* 1984. V. 105. P. 114–121.
24. Habig W.H., Pabst M.J., Jakoby W.B. // *J. Biol. Chem.* 1974. V. 249. № 22. P. 7130–7139.
25. Smith I.K., Vierheller T.L., Thorne C.A. // *Anal. Biochem.* 1988. V. 175. P. 408–413.
26. Menon D., Board P.G. // *Anal. Biochem.* 2013. V. 433. P. 132–136.
27. Garrido M., Tereshchenko Y., Zhevtsova Z., Taschenberger G. // *Acta Neuropathol.* 2011. V. 121. P. 475–485.
28. Moiseenok A.G., Komar V.I., Khomich T.I., Kanunnikova N.P., Slyshenkov V.S. // *Biofactors.* 2000. V. 1. P. 53–55.
29. Onufriev M.V., Stepanichev M.Yu., Lazareva N.V., Katkovskaya I.N., Tishkina A.O., Moiseenok A.G., Gulyayeva N.V. // *Neurochem. J.* 2010. V. 4(2). P. 148–152.
30. Kanunnikova N.P., Bashun N.Z., Moiseenok A.G. // *Lipid Peroxidation.* Intechopen, 2012. V. 23. P. 492–513.
31. Ismail N., Kureishy N., Church S., Scholefield M., Unwin R.D., Xu J., Patassini S., Cooper G.J.S. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* V. 522. № 1. P. 220–225.
32. Канунникова Н.П., Семенович Д.С., Гуринович В.А., Мойсеенок А.Г. // Биохимия и молекулярная биология. Вып. 3. Механизмы регуляции процессов жизнедеятельности в норме и патологии. Сб. науч. трудов. Минск: ИВЦ Минфина, 2019. С. 64–67.

Modulation of Oxidative Stress and Thiol-Disulfide Balance Parameters in the Brain Structures by Pantothenic Acid Derivatives in Parkinson's Disease Experimental Model

D. S. Semenovich^a, E. P. Lukiyenko^a, and N. P. Kanunnikova^b

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

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

Parkinson's disease (PD), one of the most common neurodegenerative diseases among people of older age groups, requires long-term maintenance therapy, which makes the search for new means of its metabolic therapy especially urgent. We studied the effect of pantothenic acid derivatives - panthenol (PL), pantethine

(PT), and homopantothenic acid (HPA) on changes in the indices of free radical oxidation and thiol-disulfide status in the brain structures in a rotenone-induced PD model in rats. It was found that the action of rotenone is accompanied not only by the activation of free radical processes but also by a pronounced suppression of antioxidant protection, which manifests itself in a decrease in the total antioxidant activity, a significant decrease in the reducing potential of the glutathione system and an increase in glutathionylation of proteins. These changes are most pronounced in the basal ganglia of the brain. PL and PT but not HPA diminish changes in free radical oxidation and thiol-disulfide balance in brain structures. The mechanisms of the neuroprotective action of PL and PT, which act in parallel with changes in CoA biosynthesis during experimental neurotoxicosis, are apparently associated with their ability to increase the reduction potential of the glutathione system and thus decrease the manifestations of oxidative stress.

Keywords: experimental neurotoxicosis, brain structures, Parkinson's disease, oxidative stress, glutathione system, thiol-disulfide balance, S-glutathionylation of proteins, panthenol, pantethine, homopantothenic acid