

МЕХАНИЗМЫ, ОБУСЛОВЛИВАЮЩИЕ ВЫСОКУЮ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ НЕРВНЫХ КЛЕТОК К ДЕФИЦИТУ ВИТАМИНА В₁

Поступил 28.07.15

Анализируются имеющиеся сведения о механизмах участия витамина В₁ (тиамина) в процессах жизнедеятельности нервных клеток. Сделан вывод, что существование наряду с коферментными функциями, выполняемыми этим витамином, «некоферментных» функций, играющих существенную роль в клеточных процессах, является бесспорным фактом; подобная ситуация характерна для всех клеток. Ряд особенностей структурно-функциональной организации нейронов обуславливают исключительное значение тиаминзависимых процессов для поддержания функциональной активности этих клеток. Накопленные данные о высвобождении тиамина из нейронов при их возбуждении, а также о высокой динамичности метаболизма в нервных клетках, связанной с быстрой сменой состояний возбуждения и торможения, позволяют сформулировать представление о наличии в упомянутых клетках быстро обменивающегося пула тиамина и его биологически активных производных («мобильного пула тиамина»). Предполагается, что циркуляция указанного пула между основной частью внутриклеточного пространства и пресинаптическими компартментами синаптических структур сопряжена с изменениями мембранного потенциала нервных клеток и изменениями клеточного метаболизма. Это подтверждается данными о сопряжении регуляции митохондриального пируватдегидрогеназного мультиэнзимного комплекса с функционированием возбудимых мембран. Высказывается предположение, что в некоферментных механизмах участия тиамина в процессах жизнедеятельности нервных клеток важную роль играет его взаимодействие с протеинами цитоскелета. Анализируется возможная роль дефицита тиамина в развитии нейродегенеративных заболеваний, таких как болезни Альцгеймера, Паркинсона и энцефалопатия Вернике.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: витамин В₁ (тиамин), некоэнзимные механизмы действия тиамина, тиамин и нейродегенеративные заболевания, тиамин и протеины цитоскелета.

ВВЕДЕНИЕ

Витамин В₁ (тиамин) является одним из незаменимых компонентов питания человека и животных. В случае глубокого дефицита тиамина (ДТ) у человека развивается болезнь бери-бери (В₁-авитаминозная полиневропатия), которая характеризуется развитием тяжелых нейрогенных параличей, апатией, угнетением моторной активности, снижением скорости реакции, ухудшением памяти, депрессией, симптомами, сходными с таковыми при истерии, и нарушениями сердечной деятельности [1, 2].

С момента открытия витамина В₁ его биологическую функцию связывали с обеспечением нормальной деятельности нервной системы (первоначальное название данного витамина – «анейрин»). Накопленные на сегодняшний день факты указывают на то, что функциональные нарушения тиаминзависимых процессов в организме человека могут быть одним из важных патогенетических факторов в развитии таких нейродегенеративных заболеваний, как синдром Вернике–Корсакова (энцефаломиелопатия Вернике) [3], болезнь Альцгеймера (БА) [4–6], болезнь Паркинсона (БП) [7, 8]. Тем не менее причины особо высокой чувствительности нервных клеток к ДТ до настоящего времени окончательно не выяснены.

После расшифровки строения молекулы тиами-

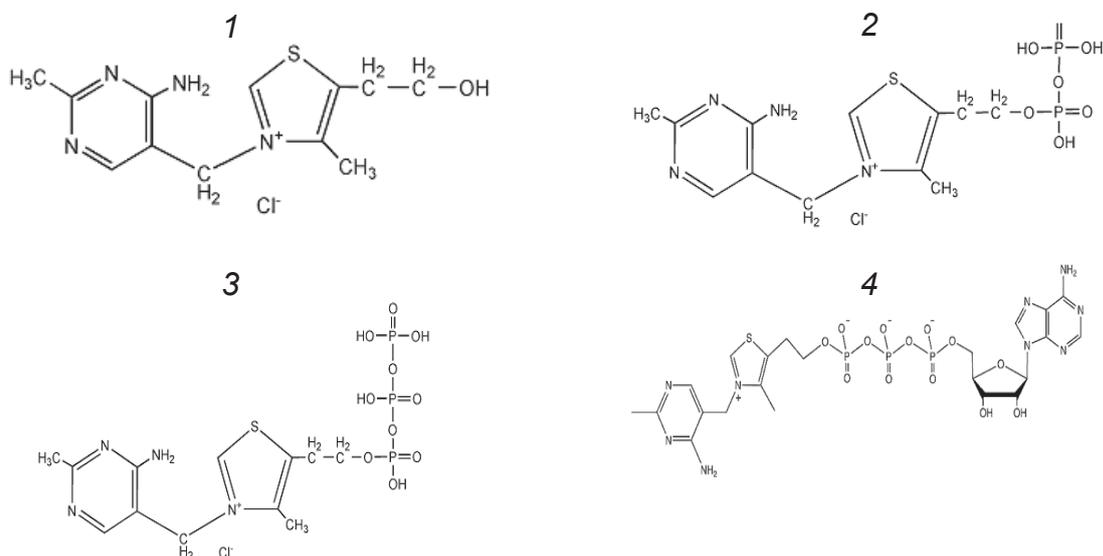
¹ Институт биохимии им. А. В. Палладина НАН Украины, Киев (Украина).
Эл. почта: uipark@biochem.kiev.ua (Ю. М. Пархоменко).

на оказалось, что ее основу составляют пиримидиновое и тиазолиевое кольца, связанные метиленовым мостиком (рис. 1). Наличие в молекуле тиамина нескольких химически активных группировок – оксиэтильной, аминогруппы пиримидинового компонента, лабильной серы тиазолиевого компонента – обуславливает ее высокую реакционную способность. Тиамин легко вступает в различные взаимодействия с белками и клеточными структурами.

В аспекте функциональной биохимии роль тиамина в клеточном метаболизме животных изучена достаточно хорошо [1, 2]. Известно, что такое производное тиамина, как тиаминдифосфат (ТДФ), является коферментом нескольких ферментов, обеспечивающих обмен углеводов. Нарушения функции этих ферментов, как принято считать, приводят к развитию оксидативного стресса. И сами ТДФ-зависимые ферменты, и основные реакции, катализируемые данными ферментами, исследованы и описаны весьма детально. В тканях млекопитающих такими процессами являются, прежде всего, реакции окислительного декарбонирования α -кетокислот, которые катализируются мультиферментными комплексами дегидрогеназ α -кетокислот.

К ним относятся пируватдегидрогеназный комплекс (ПДК), α -оксокетоглутаратдегидрогеназный

комплекс (ОГДК) и аналогичные комплексы разветвленных α -кетокислот. ТДФ является коферментом первого фермента ПДК – собственно дегидрогеназы (ПДГ). Данный комплекс катализирует реакцию окислительного декарбонирования соответствующей кетокислоты. В расщепление и образование α -оксокислот и дикетонов также задействованы ТДФ-зависимые ферменты, среди которых в тканях млекопитающих наиболее значимой является транскетолаза (КФ 2.2.1.1). Адекватная реализация упомянутых реакций весьма важна для нормального функционирования нейронов. Следует, однако, признать, что чрезвычайно высокую чувствительность нервных клеток к дефициту витамина B_1 , значительно превышающую таковую у клеток других тканей, оказалось невозможным объяснить лишь ролью ТДФ как кофермента в функционировании ряда ключевых ферментов углеводного обмена. Это обстоятельство стало причиной зарождения гипотезы о существовании специфической “нейротропной” функции витамина B_1 . Как оказалось, при таком врожденном генетическом заболевании, как болезнь Лея (сверхнекротизирующая энцефаломиелопатия), в мозгу подавлен синтез тиаминтрифосфата (ТТФ) [9, 10] – макроэргического производного тиамина. Роль ТТФ в клетках до настоящего времени окончательно не выяснена. Демонстрация



Р и с. 1. Тиамин и его биологически активные производные.

1 – тиамин; 2 – тиаминдифосфат (ТДФ, коферментная форма витамина B_1); 3 – тиаминтрифосфат (ТТФ); 4 – аденозинтиаминтрифосфат (АТТФ).

Р и с. 1. Тіамін та його біологічно активні похідні.

упомянутого выше факта стимулировала поиск так называемых некоферментных аспектов участия тиамин в клеточном метаболизме.

Термин «некоферментные механизмы» предполагает существование в живых клетках неких важных для их жизнедеятельности процессов, реализуемых (или регулируемых) с непосредственным участием какого-либо биологически активного производного тиамин, но не связанных с ТДФ-зависимым катализом [11]. Существование таких реакций доказать весьма непросто, поскольку множество метаболитов, образующихся в ТДФ-зависимых реакциях, могут также выступать как регулирующие факторы, задействованные в функционирование клеток. Тем не менее именно с некоферментными аспектами действия тиамин связывают его высокую нейроактивность (предполагается, что некоферментные механизмы являются особо критичными для функционирования нервных клеток). Поиск таких механизмов продолжается уже длительное время. В итоге наши представления о механизмах участия витамина В₁ в процессах жизнедеятельности клеток вообще и нервных клеток в частности заметно расширились. В настоящем обзоре мы попытались осветить состояние данного вопроса на сегодняшний день. Принимая во внимание наличие нескольких обзоров, которые обобщают данные предыдущих работ, посвященных роли тиамин в функционировании нервных клеток [12–17], мы лишь кратко остановимся на итогах этих исследований.

ПОИСК ПРИЧИН ВЫСОКОЙ НЕЙРОТРОПНОСТИ ТИАМИНА: КРАТКАЯ ИСТОРИЯ ВОПРОСА

Мембранная гипотеза

Главная идея мембранной гипотезы предусматривает непосредственное участие тиамин и/или его биологически активных производных в процессе генерации нервного импульса на уровне возбудимой мембраны. Развитие этого направления берет начало от исследований Бинет и Минца [18, 19]. Как продемонстрировали авторы, при электрической стимуляции препаратов блуждающего нерва и нервно-мышечных препаратов в инкубационную среду высвобождается некое соединение, которое в 1938 г. Минц идентифицировал как тиамин. Далее ряд групп ученых обнаружили, что тиамин влияет на генерацию и проведение потенциалов действия

в нервных препаратах [20–23]. Было показано, что антагонист тиамин пиритиамин взаимодействует с α -субъединицей Na^+, K^+ -АТФ-азы, блокируя ее работу: это сопровождается окислением двух сульфгидрильных групп в молекуле протеина-энзима [24]. Полученные результаты позволяли полагать, что транспорт тиамин через возбудимые (а возможно, и иные) мембраны может быть связан с функционированием натриевого насоса и сопряжен с обратимым окислением тиазольевого кольца тиамин, а также с последующими конформационными изменениями тиаминтранспортирующего протеина [24, 25]. Было также обнаружено, что при воздействии тиамин может изменяться и проводимость мембраны для ионов калия. Как оказалось, тиамин и его производные способны блокировать эндогенные калиевые каналы в культуре кортикальных нейронов крыс. Результаты экспериментов с гранулярными нейронами мозжечка продемонстрировали, что проводимость потенциал-зависимых калиевых каналов при ДТ значительно снижается, главным образом за счет супрессии калиевых каналов А-типа. Это приводило к повреждению и гибели нейронов [26]. Была показана и связь обмена тиамин с функционированием хлорных каналов. ТТФ усиливал функционирование хлорных каналов плазматических мембран нервных клеток – предположительно в результате фосфорилирования определенных протеинов [27]. Все же следует отметить, что мембранная гипотеза, предполагающая специфическое участие витамина В₁ исключительно в функционировании структур возбудимой мембраны, не получила дальнейшего развития. Наблюдения, сделанные одними авторами, не всегда подтверждались другими исследователями. Большинство упомянутых выше эффектов были получены с использованием слишком высоких (нефизиологических) концентраций тиамин и его производных (10^{-4} – 10^{-5} М). Кроме того, в последующих исследованиях структуры живых клеток с использованием новых методических подходов были выявлены некоторые ранее неизвестные детали структурно-функциональных взаимоотношений митохондрий и других субклеточных компартментов, что в определенной мере изменило представления о роли метаболических процессов в функционировании возбудимых мембран [28]. Тем не менее ряд результатов, полученных в «мембранных» исследованиях, стали базой для дальнейшего изучения молекулярных механизмов участия витамина В₁ в функционировании нервных клеток.

пускает сопряжение функционирования МПТ с метаболическими процессами в нервных клетках и реализацией их специфических функций [13], открывает возможности исследовать молекулярные механизмы действия тиамин, не прибегая к предположениям о существовании в нервных клетках каких-то неизвестных ранее тиаминзависимых биохимических реакций, не свойственных клеткам других тканей. Скорее наоборот, сами особенности структурно-функциональной организации нервных клеток обуславливают существенную важность для них тиаминзависимых реакций. Поэтому при выяснении причин высокой «нейроактивности» витамина В₁ следует принимать во внимание все возможные аспекты некоферментного взаимодействия биологически активных производных данного витамина с клеточными структурами различных тканей.

ПРЯМЫЕ ДОКАЗАТЕЛЬСТВА НЕКОФЕРМЕНТНЫХ МЕХАНИЗМОВ УЧАСТИЯ ВИТАМИНА В₁ В ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ КЛЕТОК

Идея о наличии у витамина В₁ иных биохимических функций, помимо его роли как кофермента, зародилась еще на заре изучения метаболизма этого витамина. В клетках всех живых организмов, кроме коферментной формы тиамин (ТДФ), были обнаружены другие его фосфаты – тиаминмонофосфат и, в особенности, ТТФ. Когда при изучении этиологии болезни Лея было установлено, что одной из основных причин данного заболевания является угнетение синтеза ТТФ в ткани мозга [37], именно это фосфопроизводное тиамин было признано «нейротропной» формой витамина В₁. ТТФ является макроэргическим соединением. В процессе поиска возможных субстратов, для которых ТТФ может быть специфическим донором фосфата, был обнаружен один из них – протеин ацетилхолинового рецептора рапсин [38]. Не исключено, что подобных протеинов может быть несколько. Следует также отметить, что недавно в биологических объектах было идентифицировано еще одно природное производное ТТФ – аденилированный ТТФ (АТТФ) [39]. Таким образом, можно предположить, что функция ТТФ в клетках не ограничивается его ролью донора фосфат-группы. Кроме того, коферментная форма витамина В₁ (ТДФ) также может принимать участие в реализации его некоферментного действия. Как уже упоминалось ранее, было

показано, что ТТФ и ТДФ участвуют в регуляции активности ПДК, воздействуя на реакции фосфорилирования–дефосфорилирования его первого энзима [36, 40], а значит, эти тиаминфосфаты задействованы и в регуляции синтеза предшественника АХ (ацетил-КоА). В дополнение к функции ТДФ как кофермента это фосфопроизводное тиамин оказалось ингибитором киназы пируватдегидрогеназы (ПДГ-киназы), а ТТФ – ингибитором ПДГ-фосфатазы.

Представления о взаимосвязи коферментных и некоферментных функций производных витамина В₁ и их влиянии на клеточные процессы значительно расширились после того, как было обнаружено участие ТДФ в регуляции процессов транскрипции генов. Было показано, что высококонсервативные некодирующие элементы на 5'-конце мРНК, так называемые рибосвитчи (т. е. «переключатели» РНК), связываясь с небольшими молекулами метаболитов (например, некоторыми витаминами, аминокислотами, нуклеотидными основаниями) и подвергаясь при этом конформационным изменениям, контролируют экспрессию кодирующих участков генов [41]. Рибосвитч Thi-box (один из первых открытых рибосвитчей [42]), который связывается с ТДФ, представлен в организмах, относящихся ко всем трем доменам органического мира (археях, бактериях и эукариотах), причем на сегодня этот рибосвитч является единственным, идентифицированным у эукариот.

Вся совокупность полученных на сегодня данных относительно роли тиамин в клетках животных позволяют полагать, что некоферментные механизмы его действия в действительности намного шире, чем мы представляли себе ранее. Коферментные и некоферментные механизмы действия тиамин на клеточный метаболизм, очевидно, тесно взаимосвязаны, и подобное заключение подтверждается в ходе изучения метаболизма тиамин в условиях моделирования его дефицита и при нейродегенеративных патологиях.

ДТ И ПРОЦЕССЫ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ

Накопленные на сегодня данные литературы убедительно свидетельствуют о том, что многие известные нейродегенеративные патологии, в частности такие, как бери-бери, синдром Вернике–Корсакова, некротизирующая энцефаломиелопатия (болезнь Лея), БА, БП, болезнь «мочи кленового сиропа», тиаминзависимая анемия, метаболические

болезни, вызванные дефицитом регуляторных или основных протеинов ПДК, и некоторые другие, сопровождаются в той или иной степени выраженным ДТ [3–8, 43]. При этом нельзя исключить того, что для развития большинства упомянутых патологий ДТ и/или нарушение его обмена могут оказаться иницирующим фактором. Именно поэтому исследователи все чаще используют экспериментальные модели ДТ для изучения механизмов развития нейродегенеративных процессов [44].

МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ ПРИ СОЗДАНИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ МОДЕЛЕЙ ДТ

Воспроизведение ДТ в организме животных – один из основных общепринятых методических подходов при изучении и коферментных, и некоферментных механизмов участия этого витамина в клеточных процессах. На первых этапах изучения биохимии тиамин исследования проводились исключительно на модели алиментарного авитаминоза. Через четыре недели содержания на полностью безтиаминовой диете у животных проявлялись интенсивные симптомы нарушений функционирования нервной системы (судороги, параличи). Такая модель, видимо, достаточно приближена к реальным ситуациям, в которых организм человека или животного регулярно недополучает необходимые количества витамина В₁. Эта модель дает возможность проследить динамику изменений содержания тиамин в органах и/или активности ТДФ-зависимых энзимов и других биохимических показателей. Однако возможность прийти к однозначному выводу, что именно является первичным в поражении функции нервной системы – нарушение функций ТДФ-зависимых энзимов, окислительный стресс, сопровождающий данный процесс, или нарушение иных, еще неизвестных, тиаминзависимых процессов, оказалась весьма проблематичной.

Все же до настоящего времени различные модификации экспериментальной модели алиментарного ДТ достаточно широко используются исследователями [45, 46]. Дополнительные возможности появились после синтеза производных тиамин, обладающих способностью специфически ингибировать отдельные тиаминзависимые реакции. В настоящее время три соединения считаются общепризнанными классическими антагонистами тиамин – это окситиамин, пиритиамин и ампролиум.

Влияние указанных агентов на клеточный метаболизм и их взаимодействие с ТДФ-зависимыми протеинами исследованы достаточно подробно. Эти вещества различаются по механизму действия на известные тиамин- и ТДФ-зависимые протеины [47], а также на функции нервных клеток.

Введение окситиамин, в отличие от пиритиамин, не вызывает у животных типичных для В₁-авитаминоза неврологических проявлений. В то же время окситиамин обуславливает глубокое торможение ТДФ-зависимых ферментативных реакций [47] благодаря тому, что взаимодействуя с тиаминкиназой (хотя значение K_m для него значительно выше, чем для тиамин), он образует антагонист ТДФ – окситДФ [48]. В ряде случаев окситиамин использовался для получения модели недостаточности тиамин, но в этом случае приходится его вводить в очень высоких дозах – до 400 мг/кг массы тела ежедневно [49].

Для воссоздания модели тиаминной недостаточности в опытах *in vitro* чаще всего используют пиритиамин или ампролиум [50], а в опытах *in vivo* – алиментарный В₁-авитаминоз, комбинированный с введением пиритиамин (результат при этом достигается быстрее, чем в первом случае) [51]. Ампролиум не проникает в клетки животных, но очень эффективно ингибирует поглощение тиамин данными клетками; поэтому его используют в опытах с культурами клеток для создания *in vitro* модели В₁-недостаточности, похожей на алиментарную недостаточность *in vivo* [52].

Специфика механизмов действия антагонистов тиамин на его метаболизм дает неплохую возможность использовать подобные различия для интерпретации полученных результатов с целью оценить коферментные и некоферментные аспекты действия этого витамина в нервных клетках.

Анализ изменений метаболизма тиамин при алиментарном В₁-авитаминозе и хроническом алкоголизме, проведенный многими исследователями до настоящего времени, позволяет сделать вывод, что хронический алкоголизм также можно рассматривать как специфическую достаточно адекватную модель В₁-авитаминоза [53, 54]. В последние годы проявляется тенденция использовать для аналогичной цели нокаутных экспериментальных животных, т. е. животных с избирательной инактивацией отдельного гена (иногда – нескольких генов определенного семейства) [55]. В случае тиамин таким неработающим геном чаще всего является ген белка-транспортера тиамин [56]

Оценивая различные экспериментальные модели дефицита витамина В₁ как варианты методического подхода к поиску новых (возможно, некоферментных) механизмов его действия, следует отметить, что все они страдают одним существенным недостатком. А именно, ослабление окислительного метаболизма в условиях ДТ, обусловленное снижением активности ТДФ-зависимых энзимов, ведет к развитию мультифакторного и мультифункционального каскада событий в мозгу, включающего в себя снижение энергетического статуса, развитие оксидативного стресса и ацидоза в результате накопления молочной кислоты, нарушение гемато-энцефалического барьера, дисфункцию астроцитов и др. [44, 54]. Изучению взаимодействия этих факторов при развитии нейродегенеративных процессов посвящено немало работ.

ЧТО ЯВЛЯЕТСЯ КАРДИНАЛЬНЫМ ФАКТОРОМ – ДТ ИЛИ ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС?

Интерес к изучению изменений метаболизма тиамин в нервных клетках в условиях дефицита этого витамина растет в связи с накоплением данных о нарушениях активности ТДФ-зависимых энзимов, окислительном стрессе и снижении интенсивности метаболизма, т. е. комплексе, наблюдаемом в случаях многих нейродегенеративных патологий (см. таблицу). Существенное нарушение тиаминза-

висимых процессов наблюдается и при ряде генетических патологий, таких, например, как болезнь Хантингтона или прогрессирующий супраядерный паралич. Эти заболевания связаны с функционированием генов, содержащих в себе непостоянно увеличивающееся количество повторов кодона *CAG* в кодирующем их регионе, т. е. генов, испытавших динамические мутации [57]. Анализ накопленных к началу нашего века данных относительно изменений показателей, характеризующих гомеостаз тиамин в мозгу при различных нейродегенеративных патологиях, позволяет сделать несколько очевидных выводов, отраженных в публикациях Гибсона и соавт. [46]: 1) ДТ усиливает окислительный стресс; 2) тиаминзависимые энзимы и процессы чувствительны к последнему; 3) тиамин предотвращает развитие окислительного стресса; 4) другие антиоксиданты могут частично устранять изменения, индуцированные ДТ. На основании подобных констатаций можно предположить, что окислительный стресс, являющийся следствием ДТ, и представляет собой основную причину развития нейродегенеративных изменений.

Однако достаточно ли приведенных выше выводов для объяснения особовысокой чувствительности нервных клеток к ДТ и отказа от поисков других молекулярных механизмов, ответственных за нейроактивность тиамин? На первый взгляд, да. Ведь нервные клетки очень чувствительны к уровню обеспеченности энергией, и снижение интенсивности энергогенерирующих процессов (среди

Изменения в мозгу, выявленные при дефиците тиамин и болезнях Альцгеймера (БА) и Паркинсона (БП)

Зміни в мозку, виявлені при дефіциті тіаміну та хворобах Альцгеймера і Паркінсона

Исследуемые процессы и феномены	Патологии (ссылки)		
	БА	ДТ и энцефалопатия Вернике (ЭВ)	БП
Дегенерация нервных клеток	нейродегенеративное заболевание	[15–17, 43, 46, 53, 95, 100] ЭВ [3]	нейродегенеративное заболевание
Изменения тиаминзависимых параметров при высоких количествах β-амилоида в мозгу	[4–6, 67, 71, 76] [5, 60]	ЭВ [3, 16, 53, 87, 88, 90, 91] [64–66, 68, 69, 100, 108]	[7, 8, 77, 78, 84]
Активация белка-предшественника β-амилоида или повышение фосфорилирования тау-протеина в регионах мозга	[60, 62, 132]	[69, 90]	
Активация протеинкиназы PKR	[61, 62, 64]	[61, 64, 106]	[83]
Нарушения функционирования глутаматных рецепторов	[70]	[44] ЭВ: [54, 92]	[79]
Позитивный эффект при лечении тиамином или бенфотиамином в высоких дозах	[75, 76]	ЭВ: [93, 94]	[84–86]

которых одну из ключевых позиций занимают процессы, опосредуемые ТДФ-зависимыми ферментами) неизбежно должно вести к оксидативному стрессу и подавлению жизнедеятельности клеток. Однако если вспомнить болезнь Лея (сверхнекротизирующую энцефаломиелопатию), в частности тот ее вариант, который впервые описали Купер и Пинкус [10], то возникают определенные сомнения. В данном случае активность ТДФ-зависимых ферментов в мозгу не изменена; следовательно, в клетках не должно быть и существенного сдвига в редокс-балансе. Однако нервные клетки при этом заболеванием интенсивно гибнут.

Попробуем объяснить данную ситуацию с учетом представлений о наличии в нервных клетках подвижного пула (МПП) производных тиамин (его фосфатов). Предполагается, что ТДФ является транзитным метаболитом в обмене подвижного пула производных тиамин, о котором упоминалось выше (рис. 1). Блокируется синтез ТДФ – тормозится обмен МПП этих соединений, а вместе с тем нарушается и функционирование нервных клеток.

Сравнительный анализ результатов, полученных в ходе изучения действия различных антагонистов тиамин в условиях экспериментальных моделей, приводит к таким же выводам. Как уже говорилось выше, только при введении животным пиритиамин у них наблюдаются интенсивные симптомы расстройства нервной системы, хотя изменения активности ТДФ-зависимых ферментов при введении окситиамин являются более выраженными [47]. Подобные наблюдения достаточно легко объяснить на основе гипотезы о существовании подвижного пула биологически активных производных тиамин, обеспечивающего сопряжение метаболических реакций в нервной клетке с функционированием ее возбудимой мембраны. Так, пиритиамин более специфично, чем окситиамин, блокирует фосфорилирование тиамин в клетке, прерывая функционирование МПП на уровне тиаминкиназы. К такому же результату приводит блокирование синтеза ТДФ при болезни Лея. В то же время окситиамин, подобно самому тиамину (но при намного более высоких значениях K_m [49, 58]), способен фосфорилироваться до ди- и/или трифосфата, имитируя таким образом регуляторное действие фосфатов тиамин на активность ПДК и синтез АХ [59]. В связи с этим обстоятельством действие окситиамин на нервную систему и является более «мягким».

Ключевыми протеинами обмена МПП являются транспортер тиамин, локализованный в плазматической мембране, и тиаминпирофосфокиназа (КФ 2.7.6.2) – фермент, осуществляющий одноэтапный синтез ТДФ из тиамин [58]. Безусловно, данные протеины являются не единственными, задействованными в функционирование МПП. С учетом этого поиска механизмов нейротропного действия тиамин не должны ограничиваться лишь кругом известных на сегодня тиаминзависимых протеинов или протеинов, принимающих участие в обмене этого витамина. Как свидетельствуют результаты сравнительного анализа изменений в белках-маркерах нейродегенеративных процессов при определенных патологиях и ДТ (анализ приводится далее), круг протеинов в клетках, специфически взаимодействующих с биологически активными производными тиамин или реагирующих на изменение гомеостаза тиамин, может быть значительно шире, чем считалось ранее. Этот вывод подтверждается в ходе анализа результатов современных исследований, как проведенных на экспериментальных моделях ДТ, так и касающихся различных нейродегенеративных патологий человека.

ДТ и БА

Данных о взаимосвязи гомеостаза тиамин и развития нейродегенеративных процессов больше всего накоплено в отношении БА. В последнее время изучение этой болезни приобрело особую актуальность в связи с ее широкой распространённостью и отсутствием эффективных методов лечения. Причины развития данной патологии окончательно не выяснены, но ее симптоматика и конечная морфологическая картина, впервые полученная *postmortem* при исследовании срезов мозга пациентов более ста лет назад (отложение бета-амилоид в мозговой ткани, формирование сенильных бляшек и фибрилл), хорошо известны клиницистам [60]. Показано, что важную роль в патогенезе БА играет оксидативный стресс. Основным признаком БА у пациентов на поздних стадиях ее развития является наличие многочисленных нейрофибриллярных клубков и β -амилоидных бляшек в коре головного мозга [60, 61]. Основным белковым компонентом этих бляшек при БА является белок β -амилоид (beta-amyloid).

ДТ и БА

Было установлено, что данный протеин относится к «нормальным» белкам организма. Он образуется в результате протеолитического процессинга исходного белка, названного предшественником

β -амилоида (ПБА, или APP – amyloid precursor protein). Последний экспрессируется фактически во всех изученных к настоящему времени животных клетках. Результаты современных исследований показали, что β -амилоид и его предшественники выполняют весьма важные физиологические функции. Однако если в нейронах формируются избыточные отложения β -амилоида, это вызывает в данных клетках вторичные внутренние изменения, которые служат причиной гибели этих клеточных элементов.

В настоящее время обнаружено три гена, которые в случаях мутации обуславливают развитие ауто-сомной доминантной формы БА. Мутации любого из этих генов усиливают протеолитический процессинг APP во внутриклеточном метаболическом пути, что приводит к интенсификации образования β -амилоидов. Одним из диагностических маркеров БА может быть протеинкиназа PKR, синтез которой регулируется двухпочечной РНК [62]. PKR является проапоптотической киназой, контролирующей трансляцию протеинов; как свидетельствуют экспериментальные данные [62], ее активность в мозгу при БА существенно увеличена.

Описанные выше процессы представляют интерес в аспекте рассматриваемой нами проблемы в связи с результатами, полученными на моделях ДТ [63, 64]. Показано, что гибель гранулярных нейронов мозжечка при инкубации их с метаболическими антагонистами тиамина, индуцирующими зависимость от ДТ некротизацию нейронов, может быть опосредована активацией PKR. Авторы цитированных работ приводят экспериментальные доказательства значительного усиления активации PKR в мозгу (особенно в таламусе и мозжечке) в условиях ДТ и интенсификации продукции β -амилоида в этих случаях. Представленные данные перекликаются со свидетельствами прогрессивного усиления фосфорилирования PKR в указанных структурах мозга на пятый день развития ДТ [63]. По мнению авторов данной работы, это и является причиной гибели нервных клеток.

Как уже отмечалось выше, интенсификация фосфорилирования белка-предшественника бета-амилоида (APP) и тау-белка считается пусковым фактором развития амилоидоза в нейронах при БА; гибель нейронов особо связывают с гиперфосфорилированием тау-белков, которые образуют нейрофибриллярные клубки внутри нервных клеток и вызывают гибель последних [62]. Еще ранее появилось сообщение о том, что у крыс при инду-

цированной ДТ дегенерации нервных клеток наблюдается накопление APP и предшественника амилоидоподобного белка 2 (A β LP2), выявляемых с помощью иммуноочечения в клетках участков мозга, поврежденных вследствие ДТ [65]. Позже подобные результаты были подтверждены другой группой исследователей [66, 67]. При этом авторы наблюдали в медиальном ядре таламуса (но не в коре) перемещение СОО-терминальных фрагментов (carboxy-terminal fragments – CTF) APP по направлению к ядру и накопление их в клеточных ядрах. Авторы считают, что наиболее чувствительным к ДТ из всех отделов мозга является таламус [67].

Сходство изменений в нервных клетках, наблюдаемых при ДТ различной этиологии и при БА, было подтверждено результатами других исследователей [68–70]. Для наглядности эти данные представлены в таблице.

Анализируя изменения биохимических процессов, наблюдаемые при развитии БА, Гибсон и соавт. [66] отмечали снижение интенсивности метаболизма глюкозы как неотъемлемый признак такой патологии; этот аспект метаболизма рассматривался как возможная мишень для терапевтических воздействий. Цитируемые авторы особо подчеркивали, что в обмене глюкозы тиаминзависимые реакции являются ключевыми. Согласно результатам, полученным *postmortem*, в мозгу у пациентов с БА данные реакции существенно подавлены. При этом авторы отмечали высокую корреляцию между интенсивностью ослабления тиаминзависимых процессов и масштабами клинического слабоумия у пациентов с БА.

В свете приведенных выше данных заслуживает внимания информация Хоши и соавт. [71]. Эти исследователи обнаружили, что ПДГ – первый компонент ПДК – может быть субстратом энзима тау-протеинкиназы I (ТПК I), который идентичен β -изоформе гликогенсинтазакиназы 3 (glycogen synthase kinase 3, GSK-3) – ТПК/GSK-3 β . Данный энзим модифицирует нормальный тау-протеин в высокофосфорилированную форму, несущую эпитоп спаренного спирального филамента (bearing an epitope of a paired helical filament). Гиперфосфорилирование тау-протеина является причиной гибели нейронов [72]. Как предположили авторы, при БА пептид β -амилоид (β A) повышает активность киназы ТПК/GSK-3 β в нейронах, что обуславливает экстенсивное фосфорилирование тау-протеина, а также фосфорилирование ПДГ в митохондриях. Инактивация ПДГ в холинергических нейронах

приводит к ослаблению синтеза АХ, что может уменьшать высвобождение последнего и снижать способность нервных клеток к формированию синапсов (*synapse-forming ability*). Данные о колокализации ПДГ и ТРК/GSK-3 β в митохондриях клеток различных тканей, подтвержденные результатами электронной микроскопии, позволили авторам предположить, что ПДГ-регуляция с участием ТРК/GSK-3 β является общим физиологическим феноменом [73]. Однако, как следует отметить, энзим, непосредственно фосфорилирующий ПДГ, а именно ПДГ-киназа, давно идентифицирован [74]; возможно, ТРК/GSK-3 β включена в сигнальный каскад реакций фосфорилирования, одним из «терминалей» (субстратов) которого является ПДГ-фосфатаза (второй регуляторный энзим ПДГ) и, далее, ПДГ.

Приведенные выше данные подтверждают следующее предположение: протеины, принимающие участие в обмене тиамин или функционировании ТДФ-зависимых энзимов (например, ПДГ), могут использоваться как мишени при терапии БА. Действительно, было отмечено, что бенфотиамин оказывает позитивное влияние на окислительный метаболизм и, в целом, на клиническое течение БА (уменьшался дефицит памяти) [75]. До этого было показано, что попытки использовать тиамин в высоких дозах (до 5 г в сутки) для лечения БА оказались сравнительно успешными; они обеспечивали позитивный эффект, хотя и весьма умеренный [76].

ДТ и БП

БП является второй наиболее распространенной формой нейродегенерации, встречающейся среди лиц пожилого возраста. Клинические признаки БП составляют известную тетраду – тремор покоя, ригидность мышц, замедленность движений и нарушения равновесия [7].

Информация о состоянии гомеостаза тиамин при БП более ограничена по сравнению с таковой для БА. Однако даже в относительно немногочисленных публикациях на эту тему отмечено, что в условиях данной патологии наблюдаются выраженные негативные изменения в обмене тиамин. Так, сообщалось о пониженном по сравнению с контролем уровне свободного тиамин в цереброспинальной жидкости пациентов, страдающих БП [77]. Лафоренза и соавт. [78] отмечали значительное снижение активности ТРП-азы (с оптимумом рН 9.0) в лобной коре пациентов с амиотрофическим лате-

ральным склерозом и БП по сравнению с аналогичным показателем в контрольной группе.

Заслуживает внимания обзор [8], в котором были скрупулезно проанализированы публикации, вышедшие до 2012 г. и имеющие прямое или косвенное отношение к рассматриваемой проблеме. По мнению авторов, генетические исследования дают возможность определить, какие белки могут быть ответственны за связь изменений в системе тиамин с развитием БП. Следует, правда, признать, что соответствующий анализ в ряде случаев имеет формальный (а иногда и несколько спекулятивный) характер. Так, по имеющимся данным [8], мутации в гене *PARK7*, кодирующем протеин DJ-1 (который известен также как “Parkinson disease protein 7”), ассоциированы с БП. С функционированием этого гена связывают множество функций клетки, включая клеточную трансформацию, транскрипционные эффекты, контроль стабильности мРНК, реакции на развитие оксидативного стресса и др. Авторы обращают внимание на то, что *DJ-1*-ортологи у различных видов эукариот подобны бактериальному гену *thiJ*, кодирующему фермент, ответственный за биосинтез тиамин. Далее они подчеркивают определенное сходство изменений функции транспортера глутамата при БП и ДТ [79]. Дисфункция этого транспортера, который обеспечивает удаление глутамата из синаптических структур с повышением концентрации данного транмиттера до токсичной и, как следствие, истощение пула глутатиона (глутамат – один из предшественников глутатиона в его синтезе) в астроцитах, является одним из существенных признаков БП. Указанный феномен наблюдается в условиях как БП, так и ДТ. Отмечено, что при обеих патологиях активность геммоксигеназы-1 (НО-1) заметно снижена.

Обсуждается также сходство изменений экспрессии протеина p53 в случаях БП и ДТ. Этот показатель значительно повышен при обоих указанных состояниях [80]. В то же время установлена способность тиамин ингибировать экспрессию соответствующего гена и внутриклеточную активность p53 [80]. Экспрессия гена p53 при ДТ существенно повышена [81]. Описан еще один признак, характерный для БП, – сверхэкспрессия поли(АДФ-рибозо)полимеразы-1 (PARP-1). Это особенность в условиях ДТ не изучалась, но авторы цитированной выше работы предположили участие тиамин в его регуляции упомянутого феномена. Это предположение основывалось на сообщении о том, что недавно обнаруженное в биологических объектах

новое производное тиамин – аденозин-тиаминтрифосфат, АТТФ (рис. 1) – способно довольно специфично ингибировать активность PARP-1 [82]. Ранее уже была описана роль активации PKR в развитии дегенерационных процессов при БА и ТД. В случае БП имеются основания полагать, что изменения активности PKR задействованы в дегенерацию нейронов экстрастриатума [83].

Все аргументы о возможной причастности ДТ к развитию БП, приведенные в ряде обзоров [7, 8], видимо, заслуживают дальнейшего изучения. Естественно, возникает вопрос, насколько эффективно введение тиамин для лечения этой болезни. Группа итальянских ученых уже сообщили о позитивных результатах использования тиамин в высоких дозах в группе пациентов с БП [84–86].

ДТ И СИНДРОМ ВЕРНИКЕ–КОРСАКОВА

Многочисленные данные литературы свидетельствуют о том, что ДТ является основной причиной развития синдрома Вернике–Корсакова (энцефаломиелопатии Вернике) [51–54]. Хотя хронический алкоголизм заканчивается развитием этой патологии не всегда, признаки ДТ неизменно проявляются при хроническом потреблении алкоголя человеком (или животными в экспериментальных моделях) [87–91].

Синдром Вернике–Корсакова – острое неврологическое расстройство, характеризующееся структурными повреждениями ключевых перивентрикулярных структур головного мозга [89, 90]. Получены многочисленные указания на то, что эти очаговые гистологические деструкции являются признаками глиопатии, в основном связанной с изменениями в астроцитах. Такие изменения включают в себя уменьшение количества глутаматных транспортеров GLT-1 и GLAST (что сопровождается повышением внутриклеточной концентрации глутамата), снижением pH в ткани мозга, ассоциированным с повышением образования лактата, уменьшением содержания глиального кислого белка филаментов (GFAP, glial fibrillary acidic protein), снижением интенсивности синтеза глутамата, набуханием тканей мозга, изменениями уровня такого протеина, как аквапорин-4, и нарушением проницаемости гемато-энцефалического барьера [92].

Предпринимались неоднократные попытки оценить, какой вклад упомянутые факторы вносят в развитие патологических изменений в нервных

клетках при ДТ и болезни Вернике–Корсакова. Тем не менее тиамин уже давно считается необходимым компонентом терапии пациентов с упомянутой болезнью [93, 94].

Данные, приведенные в настоящем разделе, свидетельствуют о том, что нейродегенеративные процессы неразрывно связаны с нарушением гомеостаза тиамин, так же как и ДТ – с оксидативным стрессом. Хотя препараты витамина В₁ в достаточно высоких дозах уже давно используются в лечении нейродегенеративных патологий различной этиологии, молекулярные мишени, которые взаимодействуют с производными тиамин в данных условиях, идентифицировать весьма сложно, если изучать только метаболические процессы в клетке.

Именно поэтому число исследований, направленных на поиски новых подходов для выяснения молекулярных механизмов нейротропности тиамин, все время возрастает. На уровне субклеточных структур и отдельных протеинов ведется поиск мишеней, на которые воздействуют тиамин и/или его биологически активные производные.

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ В ИССЛЕДОВАНИЯХ МЕХАНИЗМОВ НЕЙРОТРОПНОГО ДЕЙСТВИЯ ТИАМИНА

На современном этапе изучения молекулярных механизмов развития нейродегенеративных процессов при ДТ различного происхождения исследователи подчеркивают, что этот вопрос следует изучать комплексно, принимая во внимание не только нейрохимические, но и нейроанатомические и нейропсихологические изменения [16, 95]. Ба [16] попытался проследить обусловленные ДТ изменения структуры нервных клеток мозга тиаминдефицитных крыс разного возраста (начиная с эмбрионального периода). С учетом полученных результатов он заключил, что некоферментные эффекты витамина В₁, в существенной степени обуславливающие его нейротропность, основываются в основном на взаимодействиях тиамин и его производных со структурами биологических мембран. Опираясь на этот вывод, автор интерпретирует влияния витамина В₁ на такие процессы, как клеточное дифференцирование, формирование синапсов, рост аксонов и миелиногенез.

В последние годы накапливаются данные, указывающие на ведущую роль изменений астроцитов в нарушениях функций нервных клеток при ДТ.

Астроциты являются основными клетками глии, ответственными за поддержание целостности нейронов в головном мозгу. Эти клетки играют исключительно важную роль в физиологии и патологии головного мозга, реализуя пластические функции с вовлечением своих глутаматных транспортеров, которые обеспечивают адекватно низкие концентрации внеклеточного глутамата. В условиях ДТ первичные выраженные изменения происходят именно в данной популяции глиальных клеток [92, 96]. В результате изменений метаболизма, связанных с недостатком тиамин, экспрессия ключевых астроцитарных белков резко меняется, что вызывает существенные изменения функций этих клеток и в конечном счете может привести к гибели нейронов. Следует также упомянуть, что при дегенерационных изменениях в таламусе в условиях ДТ были отмечены не только отчетливые изменения в астроцитах, но и активация микроглии [54].

В то же время результаты исследований влияния классических антагонистов тиамин (окситиамин, пиритиамин и ампролиум) на жизнеспособность различных нервных клеток в культуре свидетельствуют о том, что клетки, дифференцирующиеся в нейроны, оказались более чувствительными к действию всех трех антагонистов (т. е. фактически к ДТ), чем астроциты. Учитывая то, что ампролиум является эффективным ингибитором поглощения тиамин клетками, данное наблюдение можно рассматривать как еще одно доказательство важности функционирования в нейронах подвижного пула тиамин, подавление функционирования которого приводит к гибели нервных клеток. При этом такое ингибирование влияло и на нейроны, и на астроциты, но на последние – в несколько меньшей мере, приводя лишь к частичной их гибели [97].

Шином и соавт. [98] были получены указания на то, что работа глутаматных транспортеров в астроцитах существенно связана с функционированием протеинов цитоскелета; соответственно, перестройка последнего и изменения его протеинов будут влиять на упомянутые транспортеры. В аспекте рассматриваемой проблемы представляют интерес также данные о возможном цитопротекторном эффекте тиамин в условиях ишемических повреждений сердца [99]. Тиамин оказывал протекторное действие на культивируемые кардиомиоциты неонатальных крыс при моделировании гипоксического инсульта. Этот витамин также защищал кардиомиоциты от индуцированного гипоксией апоптоза, подавляя активацию каспазы-3

и ингибируя расщепление PARP и фрагментацию ДНК. Кроме того, тиамин повышал уровень белка Hsp70 в кардиомиоцитах, причем даже в условиях длительного гипоксического стресса. Влиянию тиамин на индуцированную гипоксией гибель кардиомиоцитов противодействовал ингибитор Hsp70. Эти результаты свидетельствуют о том, что цитопротекторный эффект тиамин в кардиомиоцитах при гипоксическом стрессе во всяком случае в значительной мере обусловлен его способностью интенсифицировать синтез Hsp70 [99]. Влияние ДТ на состояние определенных субклеточных структур подтверждается также данными о том, что ДТ у мышей вызывает дегенерацию фибрилл в хрусталике глаза [99].

Количество публикаций, посвященных влиянию гомеостаза тиамин на протеины цитоскелета нервных клеток, свидетельствует об активизации подобных исследований.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ТИАМИНА И ЕГО ПРОИЗВОДНЫХ С ПРОТЕИНАМИ ЦИТОСКЕЛЕТА

Анализ накопленных к настоящему времени данных литературы по проблеме некоферментных механизмов участия тиамин в функционировании нервной системы позволяет полагать, что одним из эффективных подходов в поиске таких механизмов может быть идентификация новых функционально активных протеинов нервных клеток, проявляющих высокую аффинность к тиамину и/или его производным, а также интенсивно реагирующих на дефицит данного витамина.

В настоящее время не вызывает сомнения, что цитоскелет клетки и составляющие его протеины принимают активное участие в передаче внутриклеточных сигналов и регуляции экспрессии генов [101], хотя конкретные механизмы соответствующих феноменов до сих пор окончательно не выяснены. Участие белков цитоскелета в качестве скаффолдов, на которых образуются мультимолекулярные комплексы, включающие в себя сигнальные молекулы, может оказаться одним из вероятных механизмов.

С учетом этих представлений, а также упомянутой выше гипотезы о сопряжении функционирования МПТ (который включает в себя и производные тиамин) с функциями нервных клеток мы полагаем, что перспективным может быть изучение взаи-

модействия биологически активных производных тиамин с протеинами, обеспечивающими динамику структуры нервной клетки. Такими протеинами и являются протеины цитоскелета, причем имеются указания на то, что некоторые из этих белков следует отнести к нейроспецифическим [102, 103].

Сведения о возможном взаимодействии биологически активных производных тиамин с протеинами цитоскелета нервных клеток или о влиянии обеспеченности организма тиамин на состояние цитоскелета пока очень ограничены. Первые наблюдения в этом аспекте касаются взаимодействия ТДФ и ТТФ с актомиозином и миозином [104]. Авторы цитированной работы обнаружили ТТФазную активность молекул миозина и способность фосфатов тиамин в определенных концентрациях вызывать преципитацию актомиозина. Значительно позже Ромеро и соавт. [105] на культуре клеток Rbe4 показали, что семидневная инкубация этих клеток в тиаминдефицитной среде с добавлением пиритиамин приводит к существенному снижению содержания F-актина. Наблюдаемые изменения проницаемости мембран и содержания F-актина в клетках Rbe4, культивируемых в условиях V_1 -дефицита, авторы рассматривают как не прямые указания на возможность задействования гемато-энцефалического барьера в патогенез энцефалопатии, которая наблюдается при ДТ.

Логично предполагать, что в условиях ДТ существенную роль в гибели клеток играет стрессирование эндоплазматического ретикулума, поскольку дефицит тиамин оказывает заметное влияние на отдельные маркеры такого стресса [106]. Авторы обнаружили, что при ДТ ингибируется гликозилирование протеинов, нарушаются гомеостаз кальция и восстановление дисульфидных связей. Это провоцирует накопление «развернутых» (потерявших третичную структуру) протеинов в эндоплазматическом ретикулуме, что и рассматривается как стресс последнего. Резенде и соавт. [107] наблюдали изменения состояния нейроспецифического протеина синапсин I в мозгу крыс в условиях ДТ, вызванного введением пиритиамин. Данный протеин принимает участие в связывании малых синаптических везикул с актином цитоскелета. При вызванном пиритиамин ДТ авторы наблюдали в гиппокампе крыс ослабление фосфорилирования синапсин I на 30 %. На основании наблюдений, сделанных в условиях *postmortem*-исследования тканей мозга хронических алкоголиков, алкоголиков с синдромом Вернике–Корсакова и контроль-

ных лиц соответствующего возраста, Куллен и Холлидей [108] пришли к выводу о тиаминзависимости механизма накопления тау-протеинов и клеточной гибели в холинергических структурах переднего мозга лиц с упомянутым выше синдромом. Тау-белки – это протеины, которые стабилизируют микротрубочки и принимают таким образом участие в поддержании структуры клетки.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ РАННЕ НЕИЗВЕСТНЫХ ПРОТЕИНОВ, ПРОЯВЛЯЮЩИХ АФФИННОСТЬ К ТИАМИНУ ИЛИ РЕАГИРУЮЩИХ НА ИЗМЕНЕНИЯ ГОМЕОСТАЗА ПОСЛЕДНЕГО

Выявление новых клеточных протеинов, обладающих сродством к тиамин или имеющих общность первичной структуры с таковой известных тиаминзависимых протеинов, стало возможным в большой степени благодаря развитию генных исследований и использованию возможностей компьютерных технологий. Представляет очевидный интерес информация о сходстве молекулярных характеристик прионов и тиаминсвязывающих протеинов [109, 110]. На основании результатов, полученных с использованием методики *in silico*, авторы предположили возможность связывания прионного протеина ShPrP с тиамин в условиях, когда последний находится в V-конформации, и определили «карманы» в молекуле этого белка, в которых находятся тиаминсвязывающие сайты. В данном исследовании были использованы также некоторые уже известные тиаминсвязывающие протеины – мышьяная пирофосфокиназа (МРРК), онкоассоциированный белок *Mycoplasma hyorhinis* (МНР37), пируватдегидрогеназа *E. coli* (PHD) и человеческая транскетолаза (НТК). Оказалось, что указанные протеины также связываются с молекулой тиамин в V-конформации. На основании этой особенности авторы заключили, что механизмы связывания тиамин и его производных у тиаминзависимых энзимов и прионных протеинов аналогичны и такое связывание может реализоваться *in vivo*. Очевидно, однако, что для подтверждения данного вывода необходима дальнейшая экспериментальная проверка.

Не менее неожиданной оказалась информация Мендоза и соавт. [111, 112] относительно идентификации клеточного рецептора кошачьего амфотропного вируса лейкемии подгруппы А (FeLV-A). Выяснилось, что аминокислотная последовательность в

молекуле этого рецептора, кодирующаяся кДНК, на 93 % идентична таковой человеческого тиаминового транспортера I типа (THTR1). Как известно, ретровирусная инфекция инициируется связыванием гликопротеинового участка вирусной оболочки с определенным клеточным рецептором. Результаты эксперимента показали, что THTR1 функционировал как рецептор по отношению к FeLV-A, т. е. связывался с вирусом (хотя и с меньшей эффективностью, чем собственно кошачий вирусный белок). Приведенные данные четко указывали на то, что кошачий вирусный протеин является ортологом человеческого тиаминового транспортного белка I типа, и на основании этого авторы назвали упомянутый протеин кошачьим рецептором FeTHTR1. Идентификация такого рецептора позволит более детально выявить ранние события в процессе передачи вируса и позволит глубже проникнуть в суть патогенеза данной вирусной инфекции (FeLV), а также в механизмы участия производных тиамин в защите клеток от патогенных вирусов. В этом аспекте представляют интерес сведения об ингибирующем действии дисульфидных производных тиамин на клетки, инфицированные вирусом ВИЧ [113, 114], которые были получены в экспериментах *in vitro*. Авторы цитированных работ исследовали эффективность нескольких тиольных и дитиольных соединений (TSS-тиаминдисульфида, липоевой кислоты и N-ацетилцистеина) как анти-ВИЧ-препаратов, подавляющих опосредованную трансактиватором Tat трансактивацию ВИЧ-1 (HIV-1). Все исследованные соединения значительно уменьшали ВИЧ-1-Tat-активность, но из них только дисульфид тиамин, применяемый в нетоксических концентрациях (0.5–1.0 мМ), проявлял заметное интегральное анти-ВИЧ-Tat-действие, ингибируя продукцию прогена HIV-1 при остром и хроническом HIV-инфицировании клеток СЕМ.

Представляет интерес также информация о том, что белки, ассоциированные с нейродегенеративными процессами (в частности DJ-1, бета-амилоид и мембранный гликопротеин Thy-1), и ряд белков, которые ранее не рассматривались как имеющие сродство к тиамину, могут быть выделены из экстрактов мозга на аффинном сорбенте с тиамин в качестве лиганда [115, 116]. Функция протеина DJ-1 до настоящего времени остается неизвестной; тем не менее имеются основания полагать, что она связана с целым рядом клеточных процессов, в том числе с ответом на окислительный стресс, клеточной трансформацией, связыванием РНК, сигналингом андроген-рецепторов, сперматогенезом и оплодот-

ворением [117]. Белок Thy-1 (CD90, молекулярная масса 25–37 кДа) является гликозил-фосфатидилинозитол (GPI)-связанным гликопротеином. Он экспрессируется в клетках многих типов, в том числе Т-клетках (тимоцитах), нейронах, эндотелиальных клетках и фибробластах [118]. Активация Thy-1 может способствовать активации Т-клеток. Не исключено, что тиамин принимает участие в регуляции активности этого протеина.

Следует упомянуть также данные относительно анестетического действия витамина B₁ и его некоторых производных, полученные в разные периоды времени [119–122]. Молекулярные механизмы этого феномена пока не выяснены. Однако уже в наше время Ли и соавт. [123], изучая молекулярные механизмы боли и обезболивания с использованием фосфопротеомного анализа, обнаружили среди протеинов, фосфорилирование которых уменьшается при акупунктурном обезболивании, тиаминтрифосфатазу, а также сигнальный протеин γ 14-3-3. Последний, наряду с некоторыми другими протеинами, связывался с тиаминным аффинным сорбентом [116]. Представляет интерес тот факт, что среди протеинов, фосфорилирование которых увеличивалось, упоминается также один из белков теплового шока – Hsp90, также способный связываться с тиаминным сорбентом [116]. Ранее мы уже упоминали о результатах исследований Шин и соавт. [99]. Они обнаружили, что цитостатический эффект тиамин в отношении культивируемых кардиомиоцитов новорожденных крыс в условиях моделирования ишемии обусловлен способностью витамина индуцировать экспрессию белка теплового шока Hsp70 (heat shock protein 70). Этот протеин считается важным фактором, задействованным в защиту клеток от вызванного стрессом апоптоза [124].

В аспекте рассматриваемой проблемы интересным и неожиданным является вывод Родригеса и соавт. [125] об участии некоторых низкомолекулярных соединений в процессе фолдинга молекул протеинов. Среди таких агентов авторы упоминают некоторые натуральные субстраты, витамины, кофакторы, конкурентные ингибиторы и др. Основываясь на анализе данных литературы и результатов собственных исследований, авторы упомянутой работы предполагают, что большинство таких соединений обладают специфическим механизмом непосредственного взаимодействия с конкретным белком – так называемым фармакологическим шапероном. Таким образом, и витамин B₁ и/или его биологически активные производные могут быть

вовлечены в фолдинг определенных протеинов. В настоящее время лишь некоторые случайные наблюдения указывают на возможность прямого или косвенного взаимодействия тиамин с клеточными протеинами, которые не являются ТДФ-зависимыми энзимами или протеинами, участвующими в метаболизме витамина В₁. Упомянутую выше информацию можно дополнить данными Петрова и соавт. о взаимодействии производных тиамин с лактатдегидрогеназой и алкогольдегидрогеназой [126–128], данными Вовка и соавт. о взаимодействии производных тиамин со щелочной фосфатазой [129], а также сведениями о действии тиамин на активность малатдегидрогеназы и глутаматдегидрогеназы [116]. Не исключено, что с течением времени будет идентифицирована вся совокупность клеточных протеинов, которые, вместе с уже известными ТДФ-зависимыми энзимными протеинами и протеинами метаболизма тиамин, можно будет рассматривать как «тиаминовый протеом». Именно такой термин для подобной совокупности протеинов предлагает использовать группа авторов [116].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По мере развития исследований в области биохимии и физиологии тиамин накапливались факты, указывающие на то, что широкий спектр метаболических сдвигов, наблюдаемых при недостатке или избытке тиамин, нельзя даже с привлечением сведений об опосредованных метаболических связях объяснить только нарушением известных коферментных функций активной формы тиамин – ТДФ. Это обстоятельство и послужило основанием для формирования представлений о некоферментных механизмах действия тиамин на клеточный метаболизм.

Анализ информации, изложенной в данном обзоре, приводит к выводу, что некоферментный аспект участия витамина В₁ в жизнедеятельности клеток является неоспоримым. Очевидно, что некоферментные механизмы участия витамина В₁ играют в выживании клеток не менее важную роль, чем коферментные.

Наши представления относительно участия витамина В₁ в биохимических процессах, связанных с жизнедеятельностью клеток, расширились и совершенствовались по мере совершенствования методов исследования и детализации наших представлений о структурно-функциональной организации специализированных клеток и регуляции клеточ-

ных процессов. Это касается прежде всего нервных клеток, а также клеток сердечной мышцы, наиболее чувствительных к ДТ. Есть веские основания считать, что некоферментные механизмы действия тиамин, как и коферментные, являются универсальными практически для всех клеток.

На первых порах изучения витамина В₁ было обнаружено, что он высвобождается в свободной форме из возбужденных нервных волокон, т. е. была продемонстрирована связь тиамин с функциональной активностью возбудимых мембран. Следовало полагать, что это – один из основных феноменов, обуславливающих его специфическую нейроактивность. Выяснение универсальной роли ТДФ как кофактора нескольких энзимов, опосредующих важные метаболические процессы практически во всех клетках, не закрыло вопроса о том, какие еще молекулярные механизмы лежат в основе нейроактивности тиамин.

Следует признать, что единственная попытка оформить эти представления в виде строгой научной концепции была сделана в 80-х годах XX века Островским [11]. Допуская, что наличие в живых клетках некоферментных механизмов участия тиамин в клеточных процессах является универсальным феноменом, он взял за основу классификации некоферментных реакций тиамин его способность вступать в различные взаимодействия с белками и клеточными структурами благодаря наличию в молекуле тиамин нескольких химически активных группировок – оксипиридина, аминогруппы пиримидинового компонента и лабильного атома серы в тиазольном компоненте.

Такой подход в свое время послужил стимулом к интенсивному изучению школой Островского биологического действия различных производных тиамин, включая его фосфаты, дисульфиды, тиохроматы, а также синтетические аналоги и антагонисты тиамин (окситиамин, тетрагидротиамин и др.) [130, 131]. Сейчас можно констатировать, что подобная классификация намного опередила события. Ее можно будет «наполнить содержанием» только в условиях, когда станут известны те белковые или иные биологически активные структуры, взаимодействуя с которыми производные тиамин влияют на клеточный метаболизм некоферментным путем. Этот подход, на наш взгляд, является перспективным в плане разработки новых лекарственных препаратов целенаправленного действия на основе производных тиамин.

Учитывая вышесказанное, следует упомянуть появление в публикациях последних лет сообщений

о фармакологически активных соединениях, содержащих в молекуле гетероциклы, которые структурно близки к гетероциклам молекулы тиамин и способны мимикрировать некоторые его эффекты. В частности, такое производное тиазола, как децил-оксикарбонил-4-метил-5-β-гидроксиэтил-тиазолия хлорид, оказалось способным воспроизводить влияния тиамин на синтез АХ из пирувата в синапсоматах [59]. Некоторые из описанных препаратов, уменьшающие гиперфосфорилирование тау-белка в моделях БА на мышах [132], также обладают структурным сходством с тиазолиевым компонентом молекулы тиамин. Другая группа авторов сообщила о способности производных тиазола из семейства четырехзамещенных метоксibenзоил-арил-тиазолов (SMART) ингибировать полимеризацию тубулина, задерживать раковые клетки в фазе клеточного цикла G2/M и индуцировать их апоптоз [133].

Упомянутые выше наблюдения, касающиеся негативного влияния на определенные клеточные процессы отдельных соединений, в молекулу которых входит кольцо тиазолия, аналогичное структурному компоненту молекулы тиамин, и которые могут быть антагонистами последнего, наводят на мысль о том, что тиамин или его биологически активные производные являются необходимыми участниками этих процессов, в частности процессов формирования и функционирования протеинов цитоскелета. Включение производных витамина В₁ в такие «некоферментные» процессы в дополнение к его коферментной роли могло бы объяснить отсутствие надежной корреляции между положительным эффектом тиамин на у некоторых пациентов, страдающих нейродегенеративными заболеваниями, с одной стороны, и активностью ТДФ-зависимых энзимов и уровнем ТДФ в мозгу таких пациентов – с другой [12, 13, 15, 88].

Настоящая работа является обзором и не связана с какими-либо тестами или экспериментами на людях или животных, и формальное указание на соответствие существующим этическим нормам не требуется.

Авторы работы – Ю. М. Пархоменко, А. С. Павлова и О. А. Меженская – подтверждают отсутствие конфликтов любого рода, касающихся коммерческих или финансовых отношений, отношений с организациями или лицами, которые каким-либо образом могли быть связаны с работой, и взаимоотношений соавторов обзора.

Ю. М. Пархоменко¹, О. С. Павлова¹, О. О. Меженська¹

МЕХАНІЗМИ, ЯКІ ЗУМОВЛЮЮТЬ ВИСОКУ ЧУТЛИВІСТЬ НЕРВОВИХ КЛІТИН ДО ДЕФІЦИТУ ВІТАМІНУ В₁

¹Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ (Україна).

Резюме

Аналізуються існуючі відомості щодо механізмів участі вітаміну В₁ (тіаміну) в процесах життєдіяльності нервових клітин. Зроблено висновок, що існування поряд з коферментними функціями, виконуваними цим вітаміном, некоферментних функцій, які відіграють істотну роль у клітинних процесах, є безперечним фактом; подібна ситуація є характерною для всіх клітин. Низка особливостей структурно-функціональної організації нейронів зумовлюють виняткове значення тіамінзалежних процесів для підтримання функціональної активності цих клітин. Накоплені дані щодо вивільнення тіаміну з нейронів при їх збудженні, а також щодо динамічності метаболізму в нервових клітинах, пов'язаної зі швидкою зміною станів збудження та гальмування, дозволяють сформулювати уявлення про наявність у згаданих клітинах швидко обмінного пулу тіаміну та його біологічно активних похідних («мобільного пулу тіаміну»). Робиться припущення, що циркуляція вказаного пулу між основною частиною внутрішньоклітинного простору та пресинаптичними компартментами синаптичних структур пов'язана зі змінами мембранного потенціалу нервових клітин та змінами клітинного метаболізму. Це підтверджується даними про спряження регуляції піруватдегідрогеназного метаболічного комплексу із функціонуванням збудливих мембран. Висловлюється припущення, що в некоферментних механізмах участі тіаміну в процесах життєдіяльності нервових клітин важливу роль відіграє його взаємодія з протеїнами цитоскелета. Аналізується можлива роль дефіциту тіаміну в розвитку нейродегенеративних захворювань, таких як хвороби Альцгеймера, Паркінсона та енцефалопатія Верніке.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. D. Lonsdale, "A review of the biochemistry, metabolism and clinical benefits of thiamin(e) and its derivatives," *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, **3**, No. 1, 49-50 (2006).
2. S. Manzetti, J. Zhang, and D. van der Spoel, "Thiamin function, metabolism, uptake, and transport," *Biochemistry*, **53**, No. 5, 821-835 (2014).
3. R. F. Butterworth, J. J. Kril, and C. G. Harper, "Thiamine-dependent enzyme changes in the brains of alcoholics: relationship to the Wernicke-Korsakoff syndrome," *Alcohol Clin. Exp. Res.*, **17**, No. 5, 1084-1088 (1993).

4. K. V. Lu'o'ng and L. T. Nguyen, "Role of thiamine in Alzheimer's disease," *Am. J. Alzheimers Dis. Other Demen.*, **26**, No. 8, 588-598 (2011).
5. J. P. Blass, P. Gleason, D. Brush, et al., "Thiamin and Alzheimer's disease. A pilot study," *Arch. Neurol.*, **45**, No. 8, 833-835 (1988).
6. X. Pan, G. Fei, J. Lu, et al., "Measurement of blood thiamine metabolites for Alzheimer's disease diagnosis," *EBioMedicine*, **26**, No. 3, 155-162 (2015).
7. K. V. Luong and L. T. Nguyễn, "Thiamine and Parkinson's disease," *J. Neurol. Sci.*, **316**, Nos. 1/2, 1-8 (2012).
8. K. V. Luong and L. T. Nguyễn, "The beneficial role of thiamine in Parkinson disease," *CNS Neurosci. Ther.*, **19**, No. 7, 461-468 (2011).
9. A. Plaitakis, W. O. Whetsell, and M. D. Yahr, "Subacute necrotizing encephalomyelopathy (Leigh's disease): clinical and genetic considerations of its adult form," *Trans. Am. Neurol. Ass.*, **102**, No. 1, 32-35 (1977).
10. J. R. Cooper and J. H. Pincus, "Roles of thiamine triphosphate in subacute necrotizing encephalomyelopathy," *J. Agr. Food Chem.*, **20**, No. 3, 490-493 (1972).
11. Yu. M. Ostrovsky, "On the mechanism of coenzymic and noncoenzymic action of thiamine," *J. Vitaminol.*, **14**, Suppl., 98-102 (1968).
12. R. H. Haas, "Thiamin and the brain," *Annu. Rev. Nutr.*, **8**, 483-515 (1988).
13. Ю. М. Пархоменко, Г. В. Донченко, З. С. Протасова, "Нейроактивность тиамин: факты и гипотезы", *Укр. биохим. журн.*, **68**, № 2, 3-14 (1996).
14. L. Bettendorff, "A non-cofactor role of thiamine derivatives in excitable cells?" *Arch. Physiol. Biochem.*, **104**, No. 6, 745-751 (1996).
15. Y. Itokawa, "Thiamine and nervous system function: an historical sketch," *Metab. Brain Dis.*, **11**, No. 1, 1-7 (1996).
16. A. Ba, "Metabolic and structural tissues role of thiamine in nervous," *Cell Mol. Neurobiol.*, **28**, No. 7, 923-931 (2008).
17. I. Bubko, B. M. Gruber, and E. L. Anuszewska, "The role of thiamine in neurodegenerative diseases," *Postepy Hig. Med. Dosw. (Online)* [in Polish], **21**, No. 69, 1096-1106 (2015).
18. L. Binet and B. Minz, "Sur les reactions biochimiques des nerf au repos et au cours d'une excitation electrique," *Arch. Int. Physiol.*, **42**, 281-300 (1936).
19. B. Minz, "Sur la liberation de la vitamin B₁ par le trone isole de nerf pneumogastrique soumis a l'excitation electrique," *Comp. Rend. Soc. Biol.*, **127**, No. 6, 1251-1253 (1938).
20. H. A. Kunz, "Effect of aneurin antimetabolites on a single labeled nerve fiber," *Helv. Physiol. Pharmacol. Acta*, **1**, No. 14, 411-423 (1956).
21. S. F. Petropulos, "The action of an antimetabolite of thiamine on single myelinated nerve fibers," *J. Cell Comp. Physiol.*, **56**, No. 1, 7-13 (1960).
22. M. Sasa, I. Takemoto, and K. Nishino, "The role of thiamine on excitable membrane of crayfish giant axon," *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **22**, Suppl., 21-24 (1976).
23. А. В. Романенко, "Влияние тиамин на нервно-мышечную передачу у лягушки", *Нейрофизиология*, **17**, № 6, 794-800 (1985).
24. T. Matsuda, H. Iwata, and J. R. Cooper, "Involvement of sulfhydryl groups in the inhibition of brain (Na⁺,K⁺)-ATPase by pyriithiamin," *Biochim. Biophys. Acta*, **817**, No. 1, 17-24 (1985).
25. J. M. Duclos and P. Haake, "Ring opening of thiamine analogs. The role of ring opening in physiological function," *Biochemistry*, **13**, No. 26, 5358-5362 (1974).
26. F. A. Oliveira, D. T. Galan, A. M. Ribeiro, et al., "Thiamine deficiency during pregnancy leads to cerebellar neuronal death in rat offspring: role of voltage-dependent K⁺ channels," *Brain Res.*, **1134**, No. 1, 79-86 (2007).
27. L. Bettendorff, H. A. Kolb, and E. Schoffeniels, "Thiamine triphosphate activates an anion channel of large unit conductance in neuroblastoma cells," *J. Membrane Biol.*, **136**, No. 3, 281-288 (1993).
28. R. S. Gupta, "Microtubules, mitochondria and molecular chaperons: a new hypothesis for *in vivo* assembly of microtubules," *Biochem. Cell Biol.*, **68**, No. 12, 1352-1363 (1990).
29. K. Berman and R. A. Fishman, "Thiamine phosphate metabolism and possible coenzyme independent functions of thiamine in brain," *J. Neurochem.*, **24**, No. 3, 457-465 (1975).
30. E. Shoffeniels and D. C. Marginetu, "Thiamine triphosphate as specific operating substance in axonal conduction," in: *The Molecular Bases of Nerve Active Processes*, Walter de Gruyter & Co., Berlin, New York (1984-1985), pp. 401-415.
31. R. V. Čhagovec and A. A. Rybina, "Investigating on the forms & metabolism of thiamine in tissues of the animal organism by means of thiamine S35," in: *International Symposium B Vitamins*, Poznan (1959), pp. 324-338.
32. Ю. М. Пархоменко, А. А. Строкина, С. Ю. Пилипчук и др., "Наличие двух различных активных центров на тиаминсвязывающем протеине плазматических мембран синапсом", *Укр. биохим. журн.*, **82**, № 1, 34-41 (2010).
33. Ch. Tanaka, Y. Itokawa, and S. Tanaka, "The axoplasmic transport of thiamine in rat sciatic nerve," *J. Histochem. Cytochem.*, **21**, No. 1, 81-85 (1973).
34. A. Aiuchi, M. Matsunaga, T. Daimatsu, et al., "Effect of glucose and pyruvate metabolism on membrane potential in synaptosomes," *Biochim. Biophys. Acta*, **771**, No. 20, 228-234 (1984).
35. M. Browing, W. Benneff, P. Kelley, et al., "Evidence that the 40000 Mr phosphoprotein influenced by high frequency synaptic stimulation is the alpha subunit of pyruvate dehydrogenase," *Brain Res.*, **218**, No. 1, 255-266 (1981).
36. Ю. М. Пархоменко, И. Ю. Черныш, Т. Я. Чурилова и др., "Влияние тиаминфосфатов на активность регуляторных энзимов пируватдегидрогеназного комплекса", *Укр. биохим. журн.*, **59**, № 5, 49-54 (1987).
37. J. R. Cooper, J. H. Pincus, Y. Itokawa, et al., "Enzyme inhibiting factor in subacute necrotizing encephalomyelopathy," *Neurology*, **19**, No. 6, 841-845 (1969).
38. H. O. Ngiêm, L. Bettendorff, and J. P. Changeux, "Specific phosphorylation of Torpedo 43K rapsyn by endogenous kinase(s) with thiamine triphosphate as the phosphate donor," *FASEB J.*, **14**, No. 3, 543-554 (2000).
39. L. Bettendorff, B. Lakaye, G. Kohn, et al., "Thiamine triphosphate: a ubiquitous molecule in search of a physiological role," *Metab. Brain Dis.*, **29**, No. 4, 1069-1082 (2014).
40. F. Hucho, D. D. Randall, T. E. Roche, et al., "Keto acid dehydrogenase complexes. XVII. Kinetic and regulatory properties of pyruvate dehydrogenase kinase and pyruvate dehydrogenase phosphatase from bovine kidney and heart," *Arch. Biochem. Biophys.*, **151**, No. 1, 328-340 (1972).
41. A. G. Vitreschak, D. A. Rodionov, and A. A. Mironov, "Riboswitches: the oldest mechanism for the regulation of gene expression?" *Trends Gen.*, **20**, No. 1, 44-50 (2004).
42. Li Sanshu and R. Ronald, "Breaker eukaryotic TPP riboswitch

- regulation of alternative splicing involving long-distance base pairing," *Nucl. Acids Res.*, **41**, No. 5, 3022-3031 (2013).
43. F. Pavlik, A. Bischoff, and I. Bitsch, "Peripheral nerve changes in thiamine deficiency and starvation," *Acta Neuropathol.*, **39**, 211-218 (1977).
 44. S. S. Jhala and A. S. Hazell, "Modeling neurodegenerative disease pathophysiology in thiamine deficiency: consequences of impaired oxidative metabolism," *Neurochem. Int.*, **58**, No. 3, 248-260 (2011).
 45. Ю. М. Пархоменко, И. Ю. Черныш, З. С. Протасова и др., "Взаимосвязь между содержанием тиамин, активностью тиаминдифосфатзависимых энзимов и уровнем восстановленного глутатиона в печени крыс", *Укр. биохим. журн.*, **62**, № 6, 52-58 (1990).
 46. G. E. Gibson and H. Zhang, "Interactions of oxidative stress with thiamine homeostasis promote neurodegeneration," *Neurochem. Int.*, **40**, No. 6, 493-504 (2002).
 47. Ю. М. Островский, *Тиамин*, Беларусь, Минск (1971).
 48. Ю. М. Островский, С. В. Забродская, Д. А. Опарин, "Некоэнзимный механизм ингибирования пируват дегидрогеназы фосфорилированными аналогами тиамин", *Докл. АН СССР*, **295**, № 5, 1247-1249 (1987).
 49. М. Г. Величко, Р. В. Требухина, Ю. М. Островский и др., "Эффект окситиамин на метаболизм пирувата и лактата в тканях крыс", *Вопр. мед. химии*, **25**, № 2, 166-170 (1979).
 50. S. Chornyy, J. Parkhomenko and N. Chorna, "Thiamine deficiency caused by thiamine antagonists triggers upregulation of apoptosis inducing factor gene expression and leads to caspase 3-mediated apoptosis in neuronally differentiated rat PC-12 cells," *Acta Biochim. Pol.*, **54**, No. 2, 315-322 (2007).
 51. L. C. Vedder, J. M. Hall, K. R. Jabrouin, et al., "Interactions between chronic ethanol consumption and thiamine deficiency on neural plasticity, spatial memory, and cognitive flexibility," *Alcohol Clin. Exp. Res.*, **39**, No. 11, 2143-2153 (2015).
 52. X. Wang, B. Wang, Z. Fanb, et al., "Thiamine deficiency induced endoplasmic reiculum stress in neurons," *Neuroscience*, **144**, No. 3, 1045-1056 (2007).
 53. A. Ba, "Comparative effects of alcohol and thiamine deficiency on the developing central nervous system," *Brain Res.*, **225**, No. 1, 235-242 (2011).
 54. L. Qin and F. T. Crews, "Focal thalamic degeneration from ethanol and thiamine deficiency is associated with neuroimmune gene induction, microglial activation, and lack of monocarboxylic acid transporters," *Alcoholism: Clin. Exp. Res.*, **38**, No. 3, 657-671 (2014).
 55. М. Л. Семенова, "Что такое трансгенные животные", *Сорос. образоват. журн.*, **7**, № 4, 13-20 (2001).
 56. M. J. Lindhurst, G. Fiermonte, S. Song, et al., "Knockout of Slc25a19 causes mitochondrial thiamine pyrophosphate depletion, embryonic lethality, CNS malformations, and anemia," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, No. 43, 15927-15932 (2006).
 57. A. J. Cooper, K. F. Sheu, J. R. Burke, et al., "Pathogenesis of inclusion bodies in (CAG)_n/Qn-expansion diseases with special reference to the role of tissue transglutaminase and to selective vulnerability," *J. Neurochem.*, **72**, No. 3, 889-899 (1999).
 58. А. И. Воскобоев, И. П. Черникевич, *Биосинтез, деградация и транспорт фосфорных эфиров тиамин*, Наука и техника, Минск (1987).
 59. Yu. Parkhomenko, A. Vovk, Z. Protasova, et al., "Thiamine derivatives use to investigate the modulator role of thiamine in the biosynthesis of acetylcholine from pyruvate," in: *The 8th International Conference on Thiamine: From Catalise to Patology (Liege, May 23-26)*, Liege (2014), p. 30.
 60. A. V. Maltsev, N. V. Davidenko, V. K. Uteshev, et al., "Intensive protein synthesis in neurons and phosphorylation of precursor protein and beta-amyloid and tau protein factors are the triggers amyloidosis and Alzheimer's disease neurons," *Biochemistry, Suppl. Ser. B, Biomed. Chem.*, **59**, No. 2, 144-170 (2013).
 61. F. Mouton-Liger, C. Paquet, J. Dumurgier, et al., "Increased cerebrospinal fluid levels of double-stranded RNA-dependent protein kinase in Alzheimer's disease," *Biol. Psychiat.*, **71**, No. 9, 829-835 (2012).
 62. A. Bose, F. Mouton-Liger, C. Paquet, et al., "Modulation of tau phosphorylation by the kinase PKR implication in Alzheimer's disease," *Brain Pathol.*, **21**, No. 2, 189-200 (2011).
 63. X. Wang, B. Fan, J. Luo, et al., "Activation of double-stranded RNA-activated protein kinase by mild impairment of oxidative metabolism in neurons," *J. Neurochem.*, **103**, No. 6, 2380-2390 (2007).
 64. F. Mouton-Liger, A. S. Rebillat, S. Gourmaud, et al., "PKR downregulation prevents neurodegeneration and β -amyloid production in a thiamine-deficient model," *Cell Death Dis.*, **6**, No. 1, 1-8 (2015).
 65. N. Y. Calingasan, S. E. Gandy, H. Baker, et al., "Novel neuritic clusters with accumulations of amiloid precursor protein and amyloid precursor-like protein 2 immunoreactivity in brain regions damages by thiamine deficiency," *Am. J. Pathol.*, **149**, No. 3, 1063-1071 (1996).
 66. S. S. Karuppagounder, X. Hui, D. Pechman, et al., "Translocation of amiloid precursor protein C-terminal fragment (s) to the nucleus precedes neuronal death due to thiamine deficiency induced mild impairment of oxidative metabolism," *Neurochem. Res.*, **33**, No. 7, 1365-1372 (2008).
 67. G. E. Gibson, J. A. Hirsch, R. T. Cirio1, et al., "Abnormal thiamine-dependent processes in Alzheimer's disease. Lessons from diabetes," *Mol. Cell. Neurosci.*, **55**, No. 1, 17-25 (2013).
 68. Q. Zhang, G. Yang, W. Li, et al., "Thiamine deficiency increases β -secretase activity and accumulation of β -amyloid peptides," *Neurobiol. Aging*, **32**, No. 1, 42-53 (2011).
 69. J. Zhao, X. Sun, Z. Yu, et al., "Exposure to pyriothiamine increases β -amyloid accumulation, Tau hyperphosphorylation, and glycogen synthase kinase-3 activity in the brain," *Neurotox. Res.*, **19**, No. 4, 575-583 (2011).
 70. A. Schallier, I. Smolders, D. Van Dam, et al., "Region- and age-specific changes in glutamate transport in the A β PP23 mouse model for Alzheimer's disease," *J. Alzheimers. Dis.*, **24**, No. 2, 287-300 (2011).
 71. M. Hoshi, A. Takashima, K. Noguchi, et al., "Regulation of mitochondrial pyruvate dehydrogenase activity by tau protein kinase I/glycogen synthase kinase 3beta in brain," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **93**, No. 7, 2719-2723 (1996).
 72. A. Takashima, K. Noguchi, K. Sato, et al., "Tau protein kinase I is essential for amyloid beta-protein-induced neurotoxicity," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**, No. 16, 7789-7793 (1993).
 73. M. Hoshi, M. Sato, S. Kondo, et al., "Different localization of tau protein kinase I/glycogen synthase kinase-3 beta from glycogen synthase kinase-3 alpha in cerebellum mitochondria," *J. Biochem.*, **118**, No. 4, 683-685 (1995).
 74. J. E. Lawson, S. H. Park, A. R. Mattison, et al., "Cloning, expression, and properties of the regulatory subunit of bovine

- pyruvate dehydrogenase phosphatase," *J. Biol. Chem.*, **272**, No. 50, 31625-31629 (1997).
75. X. Pan, N. Gong, J. Zhao, et al., "Powerful beneficial effects of benfotiamine on cognitive impairment and beta-amyloid deposition in amyloid precursor protein/presenilin-1 transgenic mice," *Brain*, **133**, No. 5, 1342-1351 (2010).
 76. K. Meador, D. Loring, M. Nichols, et al., "Preliminary findings of high-dose thiamine in dementia of Alzheimer's type," *J. Geriatr. Psychiat. Neurol.*, **6**, No. 4, 222-229 (1993).
 77. F. J. Jiménez-Jiménez, J. A. Molina, A. Hernánz, et al., "Cerebrospinal fluid levels of thiamine in patients with Parkinson's disease," *Neurosci. Lett.*, **271**, No. 1, 33-36 (1999).
 78. U. Laforenza, C. Patrini, M. Poloni, et al., "Thiamin mono- and pyrophosphatase activities from brain homogenate of Guamanian amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonism-dementia patients," *J. Neurol. Sci.*, **109**, No. 2, 156-161 (1992).
 79. M. Favier, C. Carcenac, G. Drui, et al., "High-frequency stimulation of the subthalamic nucleus modifies the expression of vesicular glutamate transporters in basal ganglia in a rat model of Parkinson's disease," *BMC Neurosci.*, **14**, No. 152, 1-13 (2013).
 80. K. G. McLure, M. Nakagi, and M. B. Kastan, "NAD⁺ modulates p53 DNA binding specificity and function," *Mol. Cell. Biol.*, **24**, No. 22, 9958-9967 (2004).
 81. С. А. Чорный, *Влияние антагонистов тиаминна на сигнальные пути апоптоза в нервных клетках в культуре*, Автореф. дис. ... канд. биол. наук, Киев (2010).
 82. T. Tanaka, D. Yamamoto, T. Sato, et al., "Adenosine thiamine triphosphate (AThTP) inhibits Poly(ADP-Ribose) polymerase-1 (PARP-1) activity," *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **57**, No. 2, 192-196 (2011).
 83. Y. Bando, R. Onuki, T. Katayama, et al., "Author information Double-strand RNA dependent protein kinase (PKR) is involved in the extrastriatal degeneration in Parkinson's disease and Huntington's disease," *Neurochem. Int.*, **46**, No. 1, 11-18 (2005).
 84. A. Costantini, M. I. Pala, L. Compagnoni, and M. Colangely, "High-dose thiamine as initial treatment for Parkinson's disease," *BMJ Case Reports* (2013); doi: 10.1136/bcr-2013-009289.
 85. A. Costantini and R. Fancellu, "An open-label pilot study with high-dose thiamine in Parkinson's disease," *Neural Regen. Res.*, **11**, No. 3, 406-407 (2016).
 86. A. Costantini, M. I. Pala, E. Grossi, et al., "Long-term treatment with high-dose thiamine in Parkinson disease: an open-label pilot study," *J. Altern. Complement. Med.*, **21**, No. 12, 740-747 (2015).
 87. L. C. Heap, O. E. Pratt, R. J. Ward, et al., "Individual susceptibility to Wernicke-Korsakoff syndrome and alcoholism-induced cognitive deficit: impaired thiamine utilization found in alcoholics and alcohol abusers," *Psychiat. Genet.*, **12**, No. 4, 217-224 (2002).
 88. Y. M. Parkhomenko, P. A. Kudryavtsev, S. Y. Pylypchuk, et al., "Chronic alcoholism in rats induces a compensatory response, preserving brain thiamine diphosphate, but the brain 2-oxo acid dehydrogenases are inactivated despite unchanged coenzyme levels," *J. Neurochem.*, **117**, No. 6, 1055-1065 (2011).
 89. K. O. Bueno, L. de Souza Resende, A. F. Ribeiro, et al., "Spatial cognitive deficits in an animal model of Wernicke-Korsakoff syndrome are related to changes in thalamic VDAC protein concentrations," *Neuroscience*, **294**, No. 1, 29-37 (2015).
 90. D. W. Frijlink, J. J. Tilanus, and G. Roks, "Elevated cerebrospinal fluid tau in Wernicke encephalopathy," *BMJ Case Rep.* (2012), doi: 10.1136/bcr-2012-006661.
 91. Yu. M. Parkhomenko, G. V. Donchenko, S. A. Chorny, et al., "Thiamine metabolism in neurons and their vital capacity upon the action of ethanol and acetaldehyde," *Neurophysiology / Нейрофизиология*, **46**, No. 1, 1-9 (2014).
 92. A. S. Hazell, K. V. Rao, N. C. Danbolt, et al., "Selective down-regulation of the astrocyte glutamate transporters GLT-1 and GLAST within the medial thalamus in experimental Wernicke's encephalopathy," *J. Neurochem.*, **78**, No. 3, 560-568 (2001).
 93. N. Latt and G. Dore, "Thiamine in the treatment of Wernicke encephalopathy in patients with alcohol use disorders," *Int. Med. J.*, **44**, No. 9, 911-915 (2014).
 94. E. Rees and L. R. Gowing, "Supplementary thiamine is still important in Alcohol dependence," *Alcohol Alcohol.*, **48**, No. 1, 88-92 (2013).
 95. R. Nardone, Y. Höller, M. Storti, et al., "Thiamine deficiency induced neurochemical, neuroanatomical, and neuropsychological alterations: a reappraisal," *Sci. World J.*, 2013, 2013:309143, doi:10.1155/2013/309143. eCollection2013.
 96. S. Afadlal, R. Labetoulle, and A. S. Hazell, "Role of astrocytes in thiamine deficiency," *Metab. Brain Dis.*, **29**, No. 4, 1061-1068 (2014).
 97. S. A. Chorny and Y. M. Parkhomenko, "Comparative characteristic of action of thiamine antagonists as apoptosis inducers in different types of nerve cells," *Укр. биохим. журн.*, **80**, № 5, 76-84 (2008).
 98. R. K. Sheean, C. L. Lau, Y. S. Shin, et al., "Links between L-glutamate transporters, Na⁺/K⁺-ATPase and cytoskeleton in astrocytes: evidence following inhibition with rottlerin," *Neuroscience*, **254**, 335-346 (2013).
 99. B. H. Shin, S. H. Choi, E. Y. Cho, et al., "Thiamine attenuates hypoxia-induced cell death in cultured neonatal rat cardiomyocytes," *J. Mol. Cells*, **18**, No. 2, 133-140 (2004).
 100. P. H. Frederikse, I. P. Farnsworth, and J. S. Zigler, "Thiamine deficiency in vivo produces fiber cell degeneration in mouse lenses," *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **258**, No. 3, 703-707 (1999).
 101. Д. Е. Бобков, И. В. Кропачёва, Г. П. Пинаев, "Мультимолекулярные комплексы, содержащие P65 субъединицу фактора NF-κB и белки цитоскелета в клетках A431", *Биол. мембраны*, **27**, № 1, 133-137 (2010).
 102. R. Comming and R. D. Burgoyne, "Compartmentalization of neuronal cytoskeletal proteins," *Biosci. Reports*, **3**, No. 11, 997-1006 (1983).
 103. В. А. Березин, Г. М. Шевченко, "Нейроспецифические протеины цитоскелета", *Укр. биохим. журн.*, **59**, № 1, 105-115 (1987).
 104. A. Murai and E. Katsura, "Thiamine triphosphatase activity of myosin and accelerating effect of thiamine di- and triphosphates on superprecipitation of actomyosin," *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **21**, No. 3, 169-183 (1975).
 105. I. A. Romero, R. J. Rist, A. Aleshaiker, et al., "Metabolic and permeability changes caused by thiamine deficiency in immortalized rat brain microvessel endothelial cells," *Brain Res.*, **756**, Nos. 1/2, 133-140 (1997).
 106. Z. J. Ke, X. Wang, Z. Fan, and J. Lou, "Ethanol promotes thiamine deficiency-induced neuronal death: involvement of double-stranded RNA-activated protein kinase," *Alcohol Clin. Exp. Res.*, **33**, No. 6, 1097-1103 (2009).

107. L. S. Resende, A. M. Ribeiro, D. Werner, et al., "Thiamine deficiency degrades the link between spatial behavior and hippocampal synapsin I and phosphorylated synapsin I protein levels," *Behav. Brain Res.*, **232**, No. 2, 421-425 (2012).
108. K. M. Cullen and G. M. Halliday, "Mechanisms of cell death in cholinergic basal forebrain neurons in chronic alcoholics," *Metab. Brain Dis.*, **10**, No. 1, 81-91 (1995).
109. R. Perez-Pineiro, T. C. Bjorndahl, M. V. Berjanski, et al., "The prion protein binds thiamine," *FEBS J.*, **278**, No. 21, 4002-4014 (2011).
110. N. S. Pagadala, T. C. Bjorndahl, N. Blinov, et al., "Molecular docking of thiamine reveals similarity in binding properties between the prion protein and other thiamine-binding proteins," *J. Mol. Model.*, **19**, No. 2, 5225-5235 (2013).
111. R. Mendoza, M. M. Anderson, and J. Overbaugh, "A putative thiamine transport protein is a receptor for feline leukemia virus subgroup A," *J. Virol.*, **80**, No. 7, 3378-3385 (2006).
112. R. Mendoza, A. D. Miller, and J. Overbaugh, "Disruption of thiamine uptake and growth of cells by feline leukemia virus subgroup A," *J. Virol.*, **87**, No. 5, 2412-2419 (2013).
113. S. Shoji, K. Furuishi, S. Misumi, et al., "Thiamine disulfide as a potent inhibitor of human immunodeficiency virus (type-1) production," *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **205**, No. 1, 967-975 (1994).
114. S. Shoji, K. Furuishi, A. Ogata, et al., "An allosteric drug, o,o'-bismyristoyl thiamine disulfide, suppresses HIV-1 replication through prevention of nuclear translocation of both HIV-1 Tat and NF-kappa B," *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **249**, No. 3, 745-753 (1998).
115. V. Bunik, Y. Parkhomenko, T. Kaehne, et al., "Thiamine and thiazole binding proteome includes DJ-1, amyloid beta and several membrane proteins," in: *Proceeding of the 11th International Conference on Alzheimer's and Parkinson's Diseases (Florence, Italy, March 6-10)*, Florence (2013), Abstract-No: A-459-0001-00462.
116. G. Mkrtchyan, V. Aleshin, Yu. Parkhomenko, et al., "Molecular mechanisms of the non-coenzyme action of thiamine in brain: biochemical, structural and pathway analysis," *Sci. Rep.* **2015**, **5**, 1258, 1-26, doi: 10.1038/srep 12583 (2015).
117. N. Lev, D. Roncevic, D. Ickowicz, et al., "Role of DJ-1 in Parkinson's disease," *J. Mol. Neurosci.*, **29**, No. 3, 215-225 (2006).
118. N. A. Rege and J. S. Hagood, "Thy-1, a versatile modulator of signaling affecting cellular adhesion, proliferation, survival, and cytokine/growth factor responses," *Biochim. Biophys. Acta*, **1763**, No. 10, 991-999 (2006).
119. E. Szirmai, "Thiamine (vitamin B₁) and its effects on the uterine musculature and on the pain during delivery (preliminary report)," *Zentralbl. Gynakol.*, **83**, No. 1, 554-555 (1961).
120. E. Fujihira, Y. Tarumoto, M. Ajioka, et al., "Analgesic effect of o-isobutyrylthiamine disulfide on experimentally induced," *Yakugaku Zasshi.*, **93**, No. 3, 388-391 (1973).
121. H. Quirin, "Pain and vitamin B therapy," *Bibl. Nutr. Dieta*, **38**, No. 1, 110-111 (1986).
122. A. Costantini, M. I. Pala, S. Tundo, et al., "High-dose thiamine improves the symptoms of fibromyalgia," *BMJ Case Rep.*, 2013, 1-4, doi: 10.1136/bcr-2013-009019 (2013).
123. S. H. Lee, S. Y. Kim, J. H. Kim, et al., "Phosphoproteomic analysis of electroacupuncture analgesia in an inflammatory pain rat model," *Mol. Med. Rep.*, **6**, No. 1, 157-162 (2012).
124. H. M. Beere and D. R. Green, "Stress management – heat shock protein-70 and the regulation of apoptosis," *Trends Cell. Biol.*, **11**, No. 1, 6-10 (2001).
125. J. V. Y. Rodrigues, B. J. Henriques, T. G. Lucas, et al., "Cofactors and metabolites as protein folding helpers in metabolic diseases," *Current Med. Chem.*, **2**, No. 22, 2546-2559 (2012).
126. С. А. Петров, "Некоэнзимные эффекты тиамин и его метаболитов", *Биомед. химия*, **52**, № 4, 335-345 (2006).
127. С. А. Петров, "Ингибирование тиохромом алкоголь дегидрогеназы", *Укр. биохим. журн.*, **64**, № 6, 91-94 (1992).
128. С. А. Петров, О. А. Котенко, М. Ел-Абси, "Эффект тиамин и его метаболитов на активность тканевой и очищенной лактат дегидрогеназы", *Укр. биохим. журн.*, **63**, № 2, 105-108 (1991).
129. А. И. Вовк, Л. В. Бабий, И. В. Муравьева, "Относительная реактивность тиаминмонофосфата и тиаминдифосфата при взаимодействии со щелочной фосфатазой", *Укр. биохим. журн.*, **74**, № 1, 93-96 (2002).
130. Ю. М. Островский, С. В. Забродская, Т. И. Зиматкина и др. "Избирательное ингибирование пируватдегидрогеназы в печени и сердце мыши трифосфорными эфирами тиохрома и тетрагидротиамина", *Биохимия*, **48**, № 6, 928-931 (1983).
131. С. А. Струмило, Ю. В. Киселевский, Н. И. Таранда и др., "Взаимодействие пируватдегидрогеназного комплекса из сердечной мышцы с тиаминдифосфатом и его производными", *Вопр. мед. хим.*, **35**, № 2, 102-105 (1989).
132. X. Zhang, I. Hernandez, D. Rei, et al., "Diaminotiazoles modify Tau phosphorylation and improve the tauopathy in mouse models," *J. Biol. Chem.*, **288**, No. 3, 22042-22056 (2013).
133. Li Chien-Ming, Z. Wang, Y. Lu, et al., "Biological activity of 4-substituted methoxybenzoyl-aryl-thiazole: an active microtubule inhibitor," *Cancer Res.*, **71**, No. 1, 216-224 (2011).