

Оксалоацетат: сигнальная молекула, молекулярные механизмы взаимодействия, перспективы клинического применения

Н.А. Колотьева*, Ф.Н. Гильмиярова, О.А. Гусякова, И.А. Шарафутдинова

Самарский государственный медицинский университет, г. Самара, Россия

Реферат

Малые молекулы составляют большинство клеточных молекул, их внутриклеточные концентрации варьируют в широком диапазоне, они участвуют в самых разнообразных молекулярных превращениях. Однако о том, как малые молекулы регулируют функции белка посредством межмолекулярного связывания информации недостаточно, что формирует актуальную потребность в проведении фундаментальных исследований и изучении роли метаболитов. В фокусе нашего внимания стали малые молекулы, находящиеся в точке пересечения метаболических путей обмена белков, жиров, углеводов, структурно-функциональный потенциал которых обеспечивает многочисленные биомолекулярные процессы. Доступность интермедиатов может регулировать энергетический и промежуточный обмен веществ, клеточный окислительно-восстановительный потенциал и выработку аденозинтрифосфата, определяя приоритетное для клетки в данный момент времени направление метаболизма. Особый интерес при изучении взаимодействий «метаболит–белок» представляют те исследования, которые могут выявить новые фермент-субстратные взаимоотношения и случаи индуцированного метаболитами ремоделирования белковых комплексов. Обзор посвящён изучению роли оксалоацетата и малата, а также малатдегидрогеназы, участвующей в их превращениях, активность которой может быть использована в качестве диагностического маркера при онкологических и нейродегенеративных заболеваниях. Оксалоацетат обладает протективным и промитохондриальными действиями, служит нейропротектором, препятствует воспалению и нейродегенерации. Установлено проникновение оксалоацетата через гематоэнцефалический барьер в центральную нервную систему, что стало предпосылкой для проведения доклинических испытаний препаратов с его содержанием на моделях болезни Альцгеймера и ишемического инсульта.

Ключевые слова: взаимодействия «белок–метаболит», оксалоацетат, нейропротективное действие, малатдегидрогеназа, малые молекулы, энергетический обмен, обзор.

Для цитирования: Колотьева Н.А., Гильмиярова Ф.Н., Гусякова О.А., Шарафутдинова И.А. Оксалоацетат: сигнальная молекула, молекулярные механизмы взаимодействия, перспективы клинического применения. *Казанский мед. ж.* 2022;103(3):484–491. DOI: 10.17816/KMJ2022-484.

REVIEW | DOI: 10.17816/KMJ2022-484

Oxaloacetate: signaling molecule, molecular mechanisms of interaction, prospects for clinical application

N.A. Kolotyeva*, F.N. Gilmiyarova, O.A. Gusyakova, I.A. Sharafutdinova
Samara State Medical University, Samara, Russia

Abstract

Small molecules make up a majority of cellular molecules, their intracellular concentrations vary over a wide range, and they are involved in a multifarious molecular transformations. However, there is not enough information about how small molecules regulate protein functions through intermolecular binding, which creates an urgent need for fundamental research and the study of the metabolites' role. Our attention was focused on small molecules located

*Для переписки: n.a.koloteva@samsmu.ru
Поступила 17.03.2022; принята в печать 11.04.2022;
опубликована: 10.06.2022.
© Эко-Вектор, 2022. Все права защищены.

*For correspondence: n.a.koloteva@samsmu.ru
Submitted 17.03.2022; accepted 11.04.2022;
published: 10.06.2022.
© Eco-Vector, 2022. All rights reserved.

at the intersection point of metabolic pathways of proteins, fats, carbohydrates, the structural and functional potential of which provides numerous biomolecular processes. The intermediates availability can regulate energy and intermediate metabolism, cellular redox potential, and production of adenosine triphosphate, determining the direction of metabolism that is priority for the cell at this point in time. Of particular interest in the study of metabolite-protein interactions are those studies that can reveal new enzyme-substrate relationships and cases of metabolite-induced remodeling of protein complexes. The review is devoted to the study of the role of the small molecule oxaloacetate and malate, as well as malate dehydrogenase involved in their transformations, the activity of which can be used as a diagnostic marker in oncological and neurodegenerative diseases. Oxaloacetate has protective and promitochondrial effects, it serves as a neuroprotector, prevents inflammation and neurodegeneration. The penetration of oxaloacetate through the blood-brain barrier into the central nervous system was established, which became a prerequisite for conducting preclinical trials of drugs containing it in models of Alzheimer's disease and ischemic stroke.

Keywords: protein-metabolite interactions, oxaloacetate, neuroprotective effects, malate dehydrogenase, small molecules, energy metabolism, review.

For citation: Kolotyeva NA, Gilmiyarova FN, Gussyakova OA, Sharafutdinova IA. Oxaloacetate: signaling molecule, molecular mechanisms of interaction, prospects for clinical application. *Kazan Medical Journal*. 2022;103(3):484–491. DOI: 10.17816/KMJ2022-484.

Изучение малых молекул на сегодняшний день представляется актуальной задачей, поскольку, имея совсем небольшую молекулярную массу, они оказывают множественные влияния на метаболизм, системы межклеточного взаимодействия, и остаётся достаточное количество нерешённых задач в отношении функционирования, транспорта, регулирования передачи сигнала, воспалительного ответа и межмолекулярного взаимодействия этих интермедиатов [1, 2].

Метаболиты составляют большую часть молекул в клетках, но наши знания о взаимодействии «метаболит–белок» отстают от нашего понимания взаимодействий «белок–белок» или «белок–дезоксирибонуклеиновая кислота».

Единичные публикации об изучении взаимодействия белков с малыми молекулами начали появляться только в 2009 г. [3, 4]. С применением компьютерных платформ PASS и STITCH нами были смоделированы и оценена биологическая активность, молекулярные механизмы, оказываемые фармакологические эффекты, а также определены потенциальные белковые партнёры, с которыми могут взаимодействовать малые молекулы [5, 6]. Ожидается, что документирование и интерпретация взаимодействий между метаболитами и белками будут важны для понимания молекулярной основы нормы и патологических состояний. В частности, регуляторы метаболитов, связанных с изменениями структуры белков, могут обеспечить новые стратегии для потенциальных терапевтических вмешательств [7].

Наше внимание обращено на малую молекулу оксалоацетата, которая служит переключателем обменов белков и углеводов,

участвует в метаболических процессах, включая глюконеогенез, цикл лимонной кислоты, глиоксилата, мочевины и метаболизм аминокислот. Будучи критическим компонентом в образовании аденозинтрифосфата (АТФ), оксалоацетат должен постоянно регенерировать, чтобы цикл лимонной кислоты и цепь переноса электронов продолжались [8, 9].

Оксалоацетату свойственно явление таутомерии, он представляет собой ценную и достаточно редкую молекулу, её концентрация в митохондриях не превышает 10^{-6} М [10].

Одной из первых работ по изучению оксалоацетата была работа H.G. Wood (1935) по изучению ферментативных превращений в пропионовокислых бактериях, в основе этого заложен процесс $\text{CO}_2 + \text{пируват} \rightarrow \text{оксалоацетат}$, что в дальнейшем получило название реакции Wood–Werkman [11]. Дальнейшее изучение этого вопроса показало, что фиксация углекислого газа в оксалоацетат может происходить различными путями: в результате реакции Wood–Werkman; под действием ферментов декарбоксилирующей малатдегидрогеназы, фосфоенолпируваткарбоксикиназы, фосфоенолпируваткарбоксилазы [12].

Теория A.G. Ogston (1948) установила последовательность метаболитов в цикле трикарбоновых кислот. Методом рентгеноструктурного анализа получены исчерпывающие данные о структуре фермента цитратсинтазы [13, 14]. Было указано на анаплеротическое или катаплеротическое действие малата в цикле Кребса [15].

В литературе есть данные о влиянии оксалоацетата на продолжительность жизни нематод путём активирования транскрипционных факторов FOXO/DAF-16 и протеинкиназы, которые

активируются аденозинмонофосфатом [16, 17]. Сообщают также, что оксалоацетат обеспечивает антиоксидантную защиту клеток от окислительного повреждения, перекиси водорода, тиобарбитуровой кислоты [18].

При исследовании способности аминокислот влиять на продолжительность жизни нематод было установлено, что аспартат, углеродным донором которого служит оксалоацетат, не обладает такой способностью [17]. Другая особенность аспартата заключается в том, что он играет важную роль в поддержании роста злокачественных клеток, так как перенаправляет биоэнергетический поток с циклов утилизации глюкозы на синтетические нужды опухоли [19]. С другой стороны, канонические функции аспартата крайне важны: без аспартата невозможен физиологический обмен нуклеотидов, так как, наравне с карбамоилфосфатом, он является прекурсором пиримидинового ядра, поставляя структурные элементы [20].

Существуют данные об ингибирующем воздействии оксалоацетата на сукцинатдегидрогеназу, которая является не только участником цикла Кребса, но и важным элементом в цепи переноса электронов. Установлено, что нарушение функции сукцинатдегидрогеназы сопровождается рядом патологических состояний, таких как синдром Ли [21], нейроэндокринные опухоли [22], синдром семейной параганглиомы [23]. Среди ингибиторов этого фермента выделяют два класса: убихиноловые (карбоксин, теноилтрифторацетон) и ингибиторы-аналоги сукцината (малонат, малат, оксалоацетат).

Причина, по которой оксалоацетат проявляет столь выраженное ингибирующее влияние на сукцинатдегидрогеназу, долгое время оставалась неясной. Одна из гипотез сводится к тому, что оксалоацетат обладает протективным действием, предупреждая обратный ток электронов, который в противном случае смог бы вызвать увеличенное высвобождение супероксида [24].

Говоря об активности в отношении свободнорадикальных процессов, необходимо отметить, что малат также служит клеточным протектором. Он способен увеличивать активность таких ферментных комплексов, как супероксиддисмутаза и глутатионпероксидаза, вероятно, за счёт усиления экспрессии матричной рибонуклеиновой кислоты [25].

Превращение оксалоацетата в малат способствует высвобождению окисленного переносчика НАД⁺, активируя гликолитическое расщепление глюкозы и увеличение массы митохондрий [26], в поперечнополосатой му-

скулатуре под действием фермента фосфоенолпируваткарбоксикиназы, что положительно сказывается на выносливости и снижении мышечного утомления [27]. Оксалоацетат также является участником глиоксилатного цикла — анаболического пути, сходного с циклом трикарбоновых кислот, присущего растениям, протеем и дрожжам. В ходе данного цикла происходит превращение уксусной кислоты в ди- и трикарбоновые кислоты, а промежуточным продуктом становится глиоксилатная кислота. Есть данные о функционировании данного пути и в клетках печени человека [28].

Как известно, малатдегидрогеназа обратимо катализирует превращение оксалоацетата и малата с использованием коферментной системы НАД/НАДН². Интересны данные о том, что дегидрогеназы *Homo sapiens* глицерофосфатдегидрогеназа, лактатдегидрогеназа (ЛДГ), малатдегидрогеназа, алкогольдегидрогеназа, изоцитратдегидрогеназа и другие имеют структурное сходство между собой [29]. Последовательности этих ферментов приблизительно на 20% имеют идентичное строение и содержат соответствующую складку Россмана для связывания кофактора. Кроме того, большинство из них обнаруживают в открытых и закрытых конформациях, и можно выявить роль общего основания — лизина — в активном сайте [30].

Связь между ЛДГ и ЛДГ-подобной группой малатдегидрогеназ была подтверждена кристаллографическим исследованием. Экспериментально установлено, что в положении 86 остатки R и Q являются консенсусными для ЛДГ и малатдегидрогеназы соответственно и ответственны за специфичность связывания субстрата. Одна замена остатка в этом положении способна переключать специфичность фермента [14].

Малатдегидрогеназа экспрессируется в виде митохондриальной и цитозольной изоформ. На сегодняшний день нет однозначной полной картины кинетики катализа этой реакции для какой-либо изоформы. Димер митохондриальной малатдегидрогеназы имеет молекулярную массу ~70 кДа, и может диссоциировать на мономер при низкой концентрации фермента и низком водородном показателе (pH=4,8). Этот фермент аллостерически регулируется цитратом, ингибируется 2-теноилтрифторацетоном, АТФ, аденозиндифосфатом (АДФ), аденозинмонофосфатом, фумаратом, цитратом и аспартатом и высокими концентрациями

¹ НАД⁺ — никотинамидадениндинуклеотид окисленный.

² НАДН — никотинамидадениндинуклеотид восстановленный.

оксалоацетата. Кроме того, он чувствителен к ионной силе. Цитозольные формы — более полярные соединения с ярко выраженными кислотными свойствами по сравнению с митохондриальными ферментами [31].

Малат-аспартатная редокс-система имеет два домена — митохондриальный и цитозольный, — а также располагает двумя транспортерами: глутамат-аспартат и малат- α -кетоглутарат. В первом случае выход аспартата за пределы митохондрии сопровождается стехиометрическим входом глутамата и протонов, поэтому данная реакция необратима. В то время как обмен малата и α -кетоглутарата протекает по градиенту концентрации, поэтому может быть двунаправленным [32].

Показано, что в сердечной мышце активность челнока малат-аспартат более чем в 10 раз превосходит все остальные известные системы транспорта электронов. Исследование миокардиоцитов в период ишемии и в момент постишемической реперфузии показало колоссальную важность данной системы в адекватном обеспечении клеток энергией. В момент восстановления кровотока по коронарным артериям происходит диссоциация метаболитов челнока в митохондрии и цитозоле, что делает гликолиз единственным возможным путём получения энергии и сопровождается накоплением лактата [33]. Однако введение аминоксалоацетата в период, предшествующей ишемии, приводил к полному выключению работы челнока и не вызывал накопления лактата [34], хотя механизм такого ответа остаётся неопределённым.

Помимо отмеченного, наличие малат-аспартатного механизма служит необходимым звеном антиоксидантной защиты для поддержания жизнедеятельности клеточной линии PC 12 [35]. Функционирование малат-аспартатной системы влияет на синтез инсулина β -клетками поджелудочной железы и нейротрансмиттеров [36].

Примечательно, что изоформы малатдегидрогеназы, расположенные в глиоксисоме, участвуют в биосинтезе жирных кислот и используются в качестве кофермента НАДФ/НАДФН³. Однако, согласно современным данным, вклад малатдегидрогеназы в липогенез составляет менее 40%, отдавая абсолютное первенство в 60% случаев пентозофосфатному пути. Тем не менее, гиперэкспрессия НАДФН-зависимых малатдегидрогеназ приводит к усиленному липогенезу и, как следствие, к ожирению, также такое метаболическое окружение благоприятно для опухолевых клеток [37].

Клинический интерес к малатдегидрогеназе возрос в связи с публикациями ряда авторов — J.G. Ren (2014), S. Mansouri (2017), Y.X. Lu (2018), M. New (2019). Он обусловлен тем, что некоторые процессы, в которых участвует малатдегидрогеназа, ассоциированы с неблагоприятным прогнозом при таких патологических состояниях, как меланома кожи, мелкоклеточный рак лёгкого [38], рак желудка [39], аденокарцинома поджелудочной железы [40]. Было показано, что мутации в гене малатдегидрогеназы 2 (MDH2), кодирующем фермент цикла Кребса, вызывают тяжёлую энцефалопатию и связаны с серьёзными неврологическими клиническими проявлениями у детей. MDH2 был идентифицирован как новый ген восприимчивости к феохромоцитоме и параганглиоме [41].

Кроме того, определение митохондриальной малатдегидрогеназы в цереброспинальной жидкости служит диагностическим маркёром для дифференциальной диагностики нейродегенеративных заболеваний у пациентов с генетическими прионными заболеваниями, в частности со спорадической болезнью Кройтцфельда–Якоба [42]. Показана прогностическая значимость исследования показателей изоферментов ЛДГ и малатдегидрогеназы у детей с острым гематогенным остеомиелитом [43]. Выявлено снижение активности НАДФ-зависимой малатдегидрогеназы и работы пентозофосфатного пути в плаценте при беременности, осложнённой обострением герпетической инфекции [44].

Описан пример антидиабетического эффекта действия оксалоацетата, полученного из растения *Eunymus alata sieb*, а также *ex tempore* полученных солей оксалоацетата. Пероральный приём солей оксалоацетата достоверно снижал уровень кетоновых тел и повышал уровень глюкозы в крови. Это связано с тем, что в присутствии оксалоацетата молекула ацетил-коэнзима А участвует в образовании цитрата и успешно входит в цикл Кребса. При отсутствии субстрата для протекания данной реакции две молекулы ацетил-коэнзима А образуют молекулу ацетоацетата, вступая на путь кетогенеза [45].

Свойство оксалоацетата проникать через гематоэнцефалический барьер и далее в центральную нервную систему было продемонстрировано в работах Н.А. Yamamoto (2003) и Н.М. Wilkins (2014) [18, 46]. В результате активации фермента глутамат-оксалоацетаттрансаминазы, катализирующего обратимое превращение оксалоацетата и глутамата в аспартат и α -кетоглутарат, происходит уменьшение содержания глутамата в головном мозге, что способствует снижению нейровоспаления и нейрой-

³ НАДФН — никотинамидадениндинуклеотидфосфат.

дегенерации [8, 45, 47, 48]. В эксперименте на линии мышей SOD1 (G93A) было показано, что введение оксалоацетата поддерживало нервно-мышечную функцию и отдаляло появление неврологических симптомов на пресимптоматической стадии и отсроченный паралич конечностей на симптоматической стадии. Предполагают, что такие положительные эффекты потенциально могут существенно повлиять на качество жизни пациентов с боковым амиотрофическим склерозом [49].

Фермент глутамат-оксалоацетаттрансаминаза 1 играет важную роль в клеточном метаболизме, участвуя в углеводном и аминокислотном метаболизме. При ишемическом инсульте рекомбинантная глутамат-оксалоацетаттрансаминаза 1 действует как новое нейропротективное средство против избытка внеклеточного глутамата, который накапливается в мозге после ишемического инсульта. В частности, нейропротективные эффекты отмечены при комбинированном лечении рекомбинантной глутамат-оксалоацетаттрансаминазой и её кофактором оксалоацетатом в модели нейродегенеративного заболевания на крысах [50, 51].

Нейропротективное действие оксалоацетата обусловило проведение доклинических испытаний препаратов против болезни Альцгеймера⁴ и как первой линии терапии при ишемическом инсульте головного мозга [47]. Было показано, что применение оксалоацетата в течение 1 мес у пациентов с болезнью Альцгеймера безопасно и усиливает биоэнергетические потоки в мозге, улучшает энергетический метаболизм мозга [52].

Показано, что оксалоацетат стимулирует рост нейронов гиппокампальной извилины, что благоприятно сказывается на когнитивных процессах и мнемонистических функциях. Эти эксперименты проведены на лабораторных крысах, отмечено, что интермедиат оказывает общий митохондриальный эффект, увеличивая содержание митохондриальных маркёров COX4/1 и PGC1 α ; усиливает сигнальный путь инсулина путём фосфорилирования участков Akt Ser473, mTOR Ser2448 и P70S6K Thr389; снижает содержание цитокина воспалительного ответа CCL11 [46].

Используя первичные культуры нейронов, было показано, что активация протеинкиназы C-эпсилон (PKC ϵ) усиливает митохондриальное дыхание и гликолиз *in vitro* за счёт

фосфорилирования ключевых компонентов малат-аспартатного шаттла в синапсомных фракциях мозга крыс. Кроме того, PKC ϵ увеличивает и восстанавливает сниженную активность глутамат-оксалоацетаттрансаминазы 2, что раскрывает новые защитные мишени и механизмы против ишемического повреждения мозга [53].

Благодаря его центральной роли в энергетическом обмене оксалоацетат был назван биоэнергетическим лекарственным препаратом, специально разработанным для повышения уровня энергии клеток [48]. В промежуточном обмене следует отметить ферментативные превращения малата, обеспечиваемые малатдегидрогеназой, в связи с ключевым положением этого метаболита в цикле трикарбоновых кислот, малат-оксалоацетатном цикле, а также его важной ролью в биохимической адаптации организма к гипоксии, поддержании жизнедеятельности организма в целом.

Заключение

Достижения современной науки показывают возможность использования малых молекул и метаболитов как лекарственных средств, воздействующих на одну из самых начальных ступеней организации жизни, а значит, и увеличивающих эффективность воздействия.

Сведения, получаемые из областей геномики, транскриптомики, протеомики и метаболомики, в настоящее время интегрируются в понятие «паномика» с целью улучшения нашего понимания биохимии, патофизиологии, диагностики и лечения. Будущее медицины — это то поле, на котором данные из разных областей науки используются для создания диагностических инструментов, которые всё больше учитывают генетическую и метаболическую изменчивость каждого человека. Конечной целью будет быстрая диагностика заболевания с применением точной прецизионной медицины и использованием подходов биоэнергетической и митохондриальной медицины [54, 55].

Участие авторов. Н.А.К. — сбор и обработка литературных данных, написание и редактирование текста; Ф.Н.Г. — идея работы и планирование обзора литературы, написание и редактирование текста; О.А.Г. и И.А.Ш. — написание и редактирование текста.

Источник финансирования. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов по представленной статье.

⁴Примечание редакции. Альцгеймер (Aloise Alzheimer, 1864–1915), немецкий врач. В русскоязычной литературе устоялось написание Альцгеймер.

ЛИТЕРАТУРА

1. Wang W, Karamanlidis G, Tian R. Novel targets for mitochondrial medicine. *Sci Transl Med*. 2016;8:326. DOI: 10.1126/scitranslmed.aac7410.
2. Gilmiyarova FN, Kolotyeva NA, Kuzmicheva VI, Remizov VV, Gussyakova OA. Novel approach to protein-protein interaction assessment. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci*. 2020;548:072046. DOI: 10.1088/1755-1315/548/7/072046.
3. Li X, Wang X, Snyder M. Systematic investigation of protein-small molecule interactions. *IUBMB Life*. 2013;65(1):2–8. DOI: 10.1002/iub.1111.
4. Piazza I, Kochanowski K, Cappelletti V, Fuhrer T, Noor E, Sauer U, Picotti P. A map of protein-metabolite interactions reveals principles of chemical communication. *Cell*. 2018;172(1–2):358.e23–372.e23. DOI: 10.1016/j.cell.2017.12.006.
5. Колотьева Н.А., Потехина В.И., Горбачева И.В., Козлов А.В. Лактат: есть ли тупик метаболизма? *Наука молодых*. 2016;(1):28–32. [Koloteva NA, Potekhina VI, Gorbacheva IV, Kozlov AV. Lactate: Is there a stalemate of metabolism? *Eruditio Juvenium*. 2016;(1):28–32. (In Russ.)] EDN: VRFXTT.
6. Gilmiyarova F, Kolotyeva N, Radomskaya V, Gussyakova O, Gorbacheva I, Potekhina V. Role of the metabolic minor components in the regulation of intermolecular interaction. *J Biosci Med*. 2016;4:28–35. DOI: 10.4236/jbm.2016.47004.
7. Wang Y, Huang Y, Yang J. Pyruvate is a prospective alkalizer to correct hypoxic lactic acidosis. *Mil Med Res*. 2018;5(1):13. DOI: 10.1186/s40779-018-0160-y.
8. Campos F, Sobrino T, Ramos-Cabrer P, Castillo J. Oxaloacetate: A novel neuroprotective for acute ischemic stroke. *Int J Biochem Cell Biol*. 2012;44:262–265. DOI: 10.1016/j.biocel.2011.11.003.
9. Pesi R, Balestri F, Ipata PL. Metabolic interaction between urea cycle and citric acid cycle shunt: A guided approach. *Biochem Mol Biol Educ*. 2018;46(2):182–185. DOI: 10.1002/bmb.21099.
10. Nelson DL, Cox MM, Lehninger AL. *Lehninger principles of biochemistry*. 6th ed. NY: W.H. Freeman and Company; 2013. 1336 p.
11. Wood HG, Werkman CH. The utilization of CO₂ by the propionoc acid bacteria in the dissimilation of glycerol. *Biochem J*. 1935;30:332. DOI: 10.1042/bj0300048.
12. Mazelis M, Vennesland B. Carbon dioxide fixation into oxaloacetate in higher plants. *Plant Physiol*. 1957;32(6):591–600. DOI: 10.1104/pp.32.6.591.
13. Ogston AG. Interpretation of experiments on metabolic processes, using isotopic tracer elements. *Nature*. 1948;162:963. DOI: 10.1038/162963b0.
14. Ferraris DM, Spallek R, Oehlmann W, Singh M, Rizzi M. Structures of citrate synthase and malate dehydrogenase of *Mycobacterium tuberculosis*. *Proteins*. 2015;83:389–394. DOI: 10.1002/prot.24743.
15. Easlon E, Tsang F, Skinner C, Wang C, Lin SJ. The malate-aspartate NADH shuttle components are novel metabolic longevity regulators required for calorie restriction-mediated life span extension in yeast. *Genes Dev*. 2008;22:931–944. DOI: 10.1101/gad.1648308.
16. Williams DS, Cash A, Hamadani L, Diemer T. Oxaloacetate supplementation increases lifespan in *Caenorhabditis elegans* through an AMPK/FOXO-dependent pathway. *Aging Cell*. 2009;8:765. DOI: 10.1111/j.1474-9726.2009.00527.x.
17. Edwards CB, Copes N, Brito AG, Canfield J, Bradshaw PC. Malate and fumarate extend lifespan in *Caenorhabditis elegans*. *PLoS ONE*. 2013;8(3):e58345 DOI: 10.1371/journal.pone.0058345.
18. Yamamoto HA, Mohanan PV. Effect of alpha-ketoglutarate and oxaloacetate on brain mitochondrial DNA damage and seizures induced by kainic acid in mice. *Toxicol Lett*. 2003;143:115–122. DOI: 10.1016/s0378-4274(03)00114-0.
19. Cardaci S, Zheng L, MacKay G, van den Broek NJ, MacKenzie ED, Nixon C, Stevenson D, Tumanov S, Bulusu V, Kamphorst JJ, Vazquez A, Fleming S, Schiavi F, Kalna G, Blyth K, Strathdee D, Gottlieb E. Pyruvate carboxylation enables growth of SDH-deficient cells by supporting aspartate biosynthesis. *Nat Cell Biol*. 2015;17(10):1317–1326. DOI: 10.1038/ncb3233.
20. Moffatt BA, Ashihara H. Purine and pyrimidine nucleotide synthesis and metabolism. *The Arabidopsis Book*. 2002;1:e0018. DOI: 10.1199/tab.0018.
21. Finisterer J. Leigh and Leigh-like syndrome in children and adults. *Pediatr Neurol*. 2008;39(4):223–235. DOI: 10.1016/j.pediatrneurol.2008.07.013.
22. Armstrong R, Greenhalgh KL, Rattenberry E, Judd B, Shukla R, Losty PD, Maher ER. Succinate dehydrogenase subunit B (SDHB) gene deletion associated with a composite paraganglioma/neuroblastoma. *J Med Genet*. 2009;46(3):215–216. DOI: 10.1136/jmg.2008.060749.
23. Her YF, Maher LJ. Succinate dehydrogenase loss in familial paraganglioma: Biochemistry, genetics, and epigenetics. *Int J Endocrinol*. 2015;296167. DOI: 10.1155/2015/296167.
24. Muller FL, Liu Y, Abdul-Ghani MA, Lustgarten MS, Bhattacharya A, Jang YC, Van Remmen H. High rates of superoxide production in skeletal-muscle mitochondria respiring on both complex I- and complex II-linked substrates. *Biochem J*. 2008;409(2):491–499. DOI: 10.1042/BJ20071162.
25. Qiang F. Effect of malate-oligosaccharide solution on antioxidant capacity of endurance athletes. *Open Biomed Eng J*. 2015;9:326–329. DOI: 10.2174/1874120701509010326.
26. Yang H, Yang T, Baur JA, Perez E, Matsui T, Carmona JJ, Lamming DW, Souza-Pinto NC, Bohr VA, Rosenzweig A, de Cabo R, Sauve AA, Sinclair DA. Nutrient-sensitive mitochondrial NAD⁺ levels dictate cell survival. *Cell*. 2007;130(6):1095–1107. DOI: 10.1016/j.cell.2007.07.035.
27. Hakimi P, Yang J, Casadesus G, Massillon D, Tolentino-Silva F, Nye CK, Cabrera ME, Hagen DR, Utter CB, Baghdy Y, Johnson DH, Wilson DL, Kirwan JP, Kalhan SC, Hanson RW. Overexpression of the cytosolic form of phosphoenolpyruvate carboxykinase (GTP) in skeletal muscle repatterns energy metabolism in the mouse. *J Biol Chem*. 2007;282(45):32844–32855. DOI: 10.1074/jbc.M706127200.
28. Springsteen G, Yerabolu JR, Nelson J, Rhea CJ, Krishnamurthy R. Linked cycles of oxidative decarboxylation of glyoxylate as protometabolic analogs of the citric acid cycle. *Nat Commun*. 2018;9(1):91. DOI: 10.1038/s41467-017-02591-0.
29. Mydy LS, Cristobal JR, Katigbak RD, Bauer P, Reyes AC, Kamerlin SCL, Richard JP, Gulick AM. Human glycerol 3-phosphate dehydrogenase: X-ray crystal structures that guide the interpretation of mutagenesis studies. *Biochemistry*. 2019;58(8):1061–1073. DOI: 10.1021/acs.biochem.8b01103.
30. González JM, Marti-Arbona R, Chen JCH, Broom-Peltz B, Unkefer CJ. Conformational changes on substrate binding revealed by structures of *Methylobacterium*

um extorquens malate dehydrogenase. *Acta Crystallogr F Struct Biol Commun.* 2018;74(10):610–616. DOI: 10.1107/S2053230X18011809.

31. Dasika SK, Vinnakota KC, Beard DA. Determination of the catalytic mechanism for mitochondrial malate dehydrogenase. *Biophys J.* 2015;108(2):408–419. DOI: 10.1016/j.bpj.2014.11.3467.

32. Abbrescia DI, La Piana G, Lofrumento NE. Malate-aspartate shuttle and exogenous NADH/cytochrome c electron transport pathway as two independent cytosolic reducing equivalent transfer systems. *Arch Biochem Biophys.* 2012;518(2):157–163. DOI: 10.1016/j.abb.2011.12.021.

33. Lu M, Zhou L, Stanley WC, Cabrera ME, Saidel GM, Yu X. Role of the malate-aspartate shuttle on the metabolic response to myocardial ischemia. *J Theor Biol.* 2008;254(2):466–475. DOI: 10.1016/j.jtbi.2008.05.033.

34. Jespersen NR, Yokota T, Støttrup NB, Bergdahl A, Paelestik KB, Povlsen JA, Dela F, Bøtker HE. Pre-ischaemic mitochondrial substrate constraint by inhibition of malate-aspartate shuttle preserves mitochondrial function after ischaemia-reperfusion. *J Physiol.* 2017;595(12):3765–3780. DOI: 10.1113/JP273408.

35. Wang C, Chen H, Zhang J, Hong Y, Ding X, Ying W. Malate-aspartate shuttle mediates the intracellular ATP levels, antioxidation capacity and survival of differentiated PC12 cells. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol.* 2014;6(2):109–114.

36. Pardo B, Contreras L, Satrústegui J. *De novo* synthesis of glial glutamate and glutamine in young mice requires aspartate provided by the neuronal mitochondrial aspartate-glutamate carrier aralar/AGC1. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2013;4:149. DOI: 10.3389/fendo.2013.00149.

37. Kather H, Walter E, Simon B. Fettgewebe und Fettsucht. Teil 1: Fettzellgröße und Fettzellzahl. *Fortschr Med.* 1978;96(34):1693–1696. [Adipose tissue and obesity. Part 1: fat cell size and fat cell number. *Fortschr Med.* 1978;96(34):1693–1696. (In German.)]

38. Ren JG, Seth P, Clish CB, Lorkiewicz PK, Higashi RM, Lane AN, Fan TW, Sukhatme VP. Knockdown of malic enzyme 2 suppresses lung tumor growth, induces differentiation and impacts PI3K/AKT signaling. *Sci Rep.* 2014;4:5414. DOI: 10.1038/srep05414.

39. Lu YX, Ju HQ, Liu ZX, Chen DL, Wang Y, Zhao Q, Wu QN, Zeng ZL, Qiu HB, Hu PS, Wang ZQ, Zhang DS, Wang F, Xu RH. ME1 regulates NADPH homeostasis to promote gastric cancer growth and metastasis. *Cancer Res.* 2018;78(8):1972–1985. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-17-3155.

40. New M, Van Acker T, Sakamaki JI, Jiang M, Saunders RE, Long J, Wang VM, Behrens A, Cerveira J, Sudhakar P, Korcsmaros T, Jefferies HBJ, Ryan KM, Howell M, Toozé SA. MDH1 and MPP7 regulate autophagy in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Res.* 2019;79(8):1884–1898. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-18-2553.

41. Ait-El-Mkadem S, Dayem-Quere M, Gusic M, Chaussonot A, Bannwarth S, François B, Genin EC, Fragaiki K, Volker-Touw CLM, Vasnier C, Serre V, van Gas-sen KLI, Lespinasse F, Richter S, Eisenhofer G, Rouzier C, Mochel F, De Saint-Martin A, Abi Warde MT, de Sain-van der Velde MGM, Jans JJM, Amiel J, Avsec Z, Mertens C, Haack TB, Strom T, Meitinger T, Bonnen PE, Taylor RW, Gagneur J, van Hasselt PM, Rötig A, Delahodde A, Prokisch H, Fuchs SA, Paquis-Flucklinger V. Mutations in MDH2, encoding a Krebs cycle enzyme, cause early-onset severe encephalopathy. *Am J Hum Genet.* 2017;100(1):151–159. DOI: 10.1016/j.ajhg.2016.11.014.

42. Zerr I, Villar-Piqué A, Schmitz VE, Poggi A, Pochiari M, Sánchez-Valle R, Calero M, Calero O, Baldei-

ras I, Santana I, Kovacs GG, Llorens F, Schmitz M. Evaluation of human cerebrospinal fluid malate dehydrogenase 1 as a marker in genetic prion disease patients. *Biomolecules.* 2019;9(12):800. DOI: 10.3390/biom9120800.

43. Гисак С.Н., Руднев В.И., Иванова Т.Р., Колесникова Т.М., Прохоренкова Н.В., Баранов Д.А., Галглов В.М., Ятуев М.А. Биохимические исследования в диагностике и прогнозировании клинического течения острого гематогенного остеомиелита у детей. *Научно-медицинский вестник Центрального Черноземья.* 2008;(33):9–11. [Gisak SN, Rudnev VI, Ivanova TR, Kolesnikova TM, Prohorenkova NV, Baranov DA, Gaglov VM, Yatiev MA. Biochemical studies in the diagnosis and prediction of the clinical course of acute hematogenous osteomyelitis in children. *Nauchno-meditsinskiy vestnik Tsentral'nogo Chernozemya.* 2008;(33):9–11. (In Russ.)] EDN: KXZLXR.

44. Довжикова И.В., Луценко М.Т. Активность процессов образования НАДФ в плаценте при беременности, осложнённой герпетической инфекцией. *Якутский медицинский журнал.* 2009;(2):159–160. [Dovzhikova IV, Lutsenko MT. Activity of NADPH formation processes in placenta at the pregnancy complicated by an aggravation of herpetic infection. *Yakut Medical Journal.* 2009;(2):159–160. (In Russ.)] EDN: KYRSHX.

45. Campos F, Sobrino T, Ramos-Cabrera P, Argibay B, Agulla J, Pérez-Mato M, Rodríguez-González R, Brea D, Castillo J. Neuroprotection by glutamate oxaloacetate transaminase in ischemic stroke: an experimental study. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2011;31(6):1378–1386. DOI: 10.1038/jcbfm.2011.3.

46. Wilkins HM, Harris JL, Carl SM, E L, Lu J, Eva Selfridge J, Roy N, Hutfles L, Koppel S, Morris J, Burns JM, Michaelis ML, Michaelis EK, Brooks WM, Swerdlow RH. Oxaloacetate activates brain mitochondrial biogenesis, enhances the insulin pathway, reduces inflammation and stimulates neurogenesis. *Hum Mol Genet.* 2014;23(24):6528–6541. DOI: 10.1093/hmg/ddu371.

47. Swerdlow RH, Bothwell R, Hutfles L, Burns JM, Reed GA. Tolerability and pharmacokinetics of oxaloacetate 100 mg capsules in Alzheimer's subjects. *BBA Clin.* 2016;5:120–123. DOI: 10.1016/j.bbacli.2016.03.005.

48. Wilkins HM, Koppel S, Carl SM, Ramanujan S, Weidling I, Michaelis ML, Michaelis EK, Swerdlow RH. Oxaloacetate enhances neuronal cell bioenergetic fluxes and infrastructure. *J Neurochem.* 2016;137(1):76–87. DOI: 10.1111/jnc.13545.

49. Tungtur SK, Wilkins HM, Rogers RS, Badawi Y, Sage JM, Agbas A, Jawdat O, Barohn RJ, Swerdlow RH, Nishimune H. Oxaloacetate treatment preserves motor function in SOD1G93A mice and normalizes select neuroinflammation-related parameters in the spinal cord. *Sci Rep.* 2021;11(1):11051. DOI: 10.1038/s41598-021-90438-6.

50. Ruban A, Malina KC, Cooper I, Graubardt N, Babakin L, Jona G, Teichberg VI. Combined treatment of an amyotrophic lateral sclerosis rat model with recombinant GOT1 and oxaloacetic acid: A novel neuroprotective treatment. *Neurodegener Dis.* 2015;15(4):233–242. DOI: 10.1159/000382034.

51. Dopico-López A, Pérez-Mato M, da Silva-Can-dal A, Iglesias-Rey R, Rabinkov A, Bugallo-Casal A, Sobrino T, Mirelman D, Castillo J, Campos F. Inhibition of endogenous blood glutamate oxaloacetate transaminase enhances the ischemic damage. *Transl Res.* 2021;230:68–81. DOI: 10.1016/j.trsl.2020.10.004.

52. Vidoni ED, Choi IY, Lee P, Reed G, Zhang N, Pleen J, Mahnken JD, Clutton J, Becker A, Sherry E,

Bothwell R, Anderson H, Harris RA, Brooks W, Wilkins HM, Mosconi L, Burns JM, Swerdlow RH. Safety and target engagement profile of two oxaloacetate doses in Alzheimer's patients. *Alzheimers Dement.* 2021;17(1):7–17. DOI: 10.1002/alz.12156.

53. Xu J, Khoury N, Jackson CW, Escobar I, Stegelmann SD, Dave KR, Perez-Pinzon MA. Ischemic neuro-protectant PKC ϵ restores mitochondrial glutamate oxaloacetate transaminase in the neuronal NADH shuttle after

ischemic injury. *Transl Stroke Res.* 2020;11(3):418–432. DOI: 10.1007/s12975-019-00729-4.

54. Belenguer P, Duarte JMN, Schuck PF, Ferreira GC. Mitochondria and the brain: Bioenergetics and beyond. *Neurotox Res.* 2019;36(2):219–238. DOI: 10.1007/s12640-019-00061-7.

55. Angelbello AJ, Chen JL, Disney MD. Small molecule targeting of RNA structures in neurological disorders. *Ann NY Acad Sci.* 2020;1471(1):57–71. DOI: 10.1111/nyas.14051.

Сведения об авторах

Колотьева Наталия Александровна, докт. мед. наук, проф., каф. фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой, ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Самара, Россия; n.a.koloteva@samsmu.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7853-6222>

Гильмиярова Фрида Насыровна, докт. мед. наук, проф., каф. фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой, ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Самара, Россия; kaf_biohim@samsmu.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-5992-3609>

Гусякова Оксана Анатольевна, докт. мед. наук, доц., зав. каф., каф. фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой, ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Самара, Россия; o.a.gusyakova@samsmu.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5619-4583>

Шарафутдинова Ирина Ахатовна, студент, ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Самара, Россия; kaf_biohim@samsmu.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7314-0221>

Author details

Nataliya A. Kolotyeva, M.D., D. Sci. (Med.), Prof., Depart. of Fundamental and Clinical Biochemistry with Laboratory Diagnostics, Samara State Medical University, Samara, Russia; n.a.koloteva@samsmu.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7853-6222>

Frida N. Gilmiyarova, M.D., D. Sci. (Med.), Prof., Depart. of Fundamental and Clinical Biochemistry with Laboratory Diagnostics, Samara State Medical University, Samara, Russia; kaf_biohim@samsmu.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-5992-3609>

Oksana A. Gusyakova, M.D., D. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Head, Depart. of Fundamental and Clinical Biochemistry with Laboratory Diagnostics, Samara State Medical University, Samara, Russia; o.a.gusyakova@samsmu.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5619-4583>

Irina A. Sharafutdinova, Stud., Samara State Medical University, Samara, Russia; kaf_biohim@samsmu.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7314-0221>