

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 577.171.55:616.831-005.4

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-3-274-283>

Поступила в редакцию 22.02.2021

Received 22.02.2021

**О. В. Титко<sup>1</sup>, Е. П. Лукниенко<sup>1</sup>, Е. Ф. Радута<sup>1</sup>, Д. С. Семенович<sup>1</sup>, А. А. Василевич<sup>2</sup>,  
А. И. Полешук<sup>2</sup>, А. Г. Мойсеёнок<sup>1</sup>, Н. П. Канунникова<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси, Гродно, Республика Беларусь*

<sup>2</sup>*Гродненский государственный университет имени Янки Купалы, Гродно, Республика Беларусь*

## **ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ МЕТАБОЛИЗМ И РЕДОКС-СТАТУС СИСТЕМЫ ГЛУТАТИОНА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА И ЕЕ КОРРЕКЦИИ МЕТАБОЛИЧЕСКИМИ НЕЙРОПРОТЕКТОРАМИ**

**Аннотация.** Изучена способность комбинации пантенола, ацетилцистеина и наноселена восстанавливать баланс метаболических процессов при ишемии головного мозга у крыс. Для коррекции нарушений метаболизма применяли производные пантотеновой кислоты в комбинации с предшественниками биосинтеза глутатиона и препараты селена.

Моделирование ишемии головного мозга осуществляли путем перевязывания обеих общих сонных артерий у крыс на 2 ч. Препараты вводили трижды (за 1 ч до перевязки сонных артерий, в момент перевязки и через 1 ч после перевязки) в следующих дозах: пантенол – 400 мг/кг (в/б), N-ацетилцистеин – 150 (в/б), наноселен – 1 мг/кг (в/б). Установлено, что развитие окислительного стресса при ишемии сопровождается изменением показателей энергетического обмена и пентозофосфатного пути в больших полушариях мозга. На этом фоне отмечаются снижение уровня GSH, повышение содержания GSSG и снижение соотношения GSH/GSSG, активация ферментов окислительно-восстановительных превращений глутатиона. Редокс-потенциал системы глутатиона снижается и сдвигается в сторону окисления, а уровень S-глутатионилированных белков повышается.

Величина соотношения GSH/GSSG и интенсивность глутатионилирования белков являются чувствительными показателями редокс-потенциала в ткани мозга и могут использоваться в качестве маркеров степени изменения окислительно-восстановительного баланса. Введение животным пантенола приводит к снижению содержания продуктов свободнорадикального окисления, уменьшению нарушений окислительного фосфорилирования и восстановлению тиол-дисульфидного баланса в мозге. При совместном введении пантенола с N-ацетилцистеином и наноселеном корректирующее действие пантенола усиливается.

**Ключевые слова:** ишемия мозга, редокс-баланс, энергетический метаболизм, пентозофосфатный путь, система глутатиона, метаболические корректоры

**Для цитирования:** Энергетический метаболизм и редокс-статус системы глутатиона при экспериментальной ишемии головного мозга и ее коррекции метаболическими нейропротекторами / О. В. Титко [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. – 2021. – Т. 18, № 3. – С. 274–283. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-3-274-283>

**Oksana V. Titko<sup>1</sup>, Elena P. Lukiyenko<sup>1</sup>, Elena F. Raduta<sup>1</sup>, Dmitry S. Semenovich<sup>1</sup>, Anna A. Vasilevich<sup>2</sup>,  
Anna I. Poleshuk<sup>2</sup>, Andrey G. Moiseenok<sup>1</sup>, Nina P. Kanunnikova<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus,  
Grodno, Republic of Belarus*

<sup>2</sup>*Yanka Kupala Grodno State University, Grodno, Republic of Belarus*

## **ENERGY METABOLISM AND REDOX STATUS OF THE GLUTATHIONE SYSTEM IN EXPERIMENTAL BRAIN ISCHEMIA AND ITS CORRECTION BY METABOLIC NEUROPROTECTORS**

**Abstract.** The changes in the parameters of oxidative stress, energy metabolism, and redox potential of the glutathione system in the rat brain following cerebral ischemia were studied. To correct metabolic disorders, the pantothenic acid derivatives were used in combination with precursors of glutathione biosynthesis and selenium substances.

Cerebral ischemia was modeled by ligating the both common carotid arteries in rats for 2 h. Drugs were administered i.p. in the following doses: panthenol – 400 mg/kg, N-acetylcysteine – 150, nanoselen – 1 mg/kg, three times: 1 h before ligation of the carotid arteries, at the time of ligation and 1 hour after ligation. We showed that the development of oxidative stress caused by ischemia is accompanied by the changes in the parameters of energy metabolism and the pentose phosphate pathway in the cerebral hemispheres. Simultaneously, there are a decrease in the GSH level, an increase in the GSSG content, a decrease in the GSH/GSSG ratio, and the activation of enzymes of redox transformations of glutathione.

The redox potential of the glutathione system decreases and shifts towards oxidation, while the level of S-glutathionylated proteins increases. Thus, the value of the GSH/GSSG ratio and the protein glutathionylation intensity are the sensitive indicators of the redox potential in the brain tissue and can be used as markers of the extent of changes in the redox balance. The panthenol injection to animals leads to a decrease in the content of free radical oxidation products, violations of oxidative

phosphorylation and restoration of thiol-disulfide balance in the brain. When panthenol is administered together with N-acetylcysteine and nanoselen, the corrective effect of panthenol is enhanced.

**Keywords:** cerebral ischemia, redox balance, energy metabolism, pentose phosphate pathway, glutathione system, metabolic correctors

**For citation:** Titko O. V., Lukiyenko E. P., Raduta E. F., Semenov D. S., Vasilevich A. A., Poleshuk A. I., Moiseevich A. G., Kanunnikova N. P. Energy metabolism and redox status of the glutathione system in experimental brain ischemia and its correction by metabolic neuroprotectors. *Vesti Natsyonal'noi akademii nauk Belarusi. Seriya meditsinskikh nauk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2021, vol. 18, no. 3, pp. 274–283 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-3-274-283>

**Введение.** В профилактике и лечении заболеваний, связанных с нарушениями кровоснабжения ткани мозга, значительное место отводится средствам метаболической терапии, так как масштаб повреждений нервной ткани, переход от апоптоза к некрозу клеток после ишемии, ишемии-реперфузии во многом определяются нарушениями энергетических функций митохондрий и сдвигами окислительно-восстановительного баланса в ткани мозга [1–4]. При этом наиболее важным в терапии инсульта представляется в первую очередь поддержание редокс-баланса, а не устранение избытка продуктов свободнорадикального окисления [5–8]. Восстановительный потенциал в мозге определяется в основном системой глутатиона, активностью ферментов его окислительно-восстановительных превращений [8], а также интенсивностью метаболизма по пентозофосфатному пути, который является поставщиком NADPH цитозольного пула, необходимого для поддержания редокс-баланса [9, 10]. Существенным моментом является также участие глутатиона в регуляции тиол-дисульфидного статуса, влияющего на конформацию белков и играющего важную роль в образовании патологических белков, характерных для нейродегенеративной патологии, например амилоида-бета, тау-белков, альфа-синуклеина и др. [8, 11]. Поэтому перспективным направлением повышения эффективности терапии как при инсульте, так и при хронической нейродегенеративной патологии является комбинированный подход с использованием нескольких направлений воздействия, в том числе синергических протективных эффектов через разные механизмы [3, 12–14].

Нами было изучено изменение показателей окислительного стресса, энергетического метаболизма и редокс-потенциала системы глутатиона в мозге крыс в условиях ишемии мозга. Для коррекции нарушений метаболизма применяли производные пантотеновой кислоты в комбинации с предшественниками биосинтеза глутатиона и препараты селена. Известно, что пантотеновая кислота играет важную роль в поддержании тиол-дисульфидного и иммунного гомеостаза [15]. Спиртовое производное пантотеновой кислоты – D-пантенол (ПЛ) обладает выраженным мембранопротекторным действием, используется для защиты клеток от повреждающего действия ионизирующего излучения и свободных радикалов [16]. Введение пациентам пантенола резко снижает выраженность послеоперационных осложнений при нейрохирургических операциях, ишемии и ишемии-реперфузии мозга [17, 18]. Препараты селена способствуют повышению активности ферментов окислительно-восстановительных превращений глутатиона [19, 20], а N-ацетилцистеин (АЦЦ), будучи предшественником глутатиона, повышает окислительно-восстановительный потенциал системы глутатиона [21].

Цель работы – оценить способность комбинации пантенола, ацетилцистеина и наноселена восстанавливать баланс метаболических процессов при ишемии головного мозга у крыс.

**Материалы и методы исследования.** Экспериментальные модели были выполнены на самцах крыс линии Wistar CRL: (WI) WUBR массой 180–200 г, содержащихся в стандартных условиях вивария в соответствии с существующими нормами содержания лабораторных животных. Все эксперименты с лабораторными животными выполняли в соответствии с этическими нормами, а также правилами проведения научных работ с использованием экспериментальных животных в научных исследованиях, составленными на основании рекомендаций и требований «Всемирного общества защиты животных» (WSPA) и «Европейской конвенции по защите экспериментальных животных» (Страсбург, 1986).

Моделирование ишемии головного мозга осуществляли путем перевязывания обеих общих сонных артерий у крыс на 2 ч [22]. В данном эксперименте изучены протекторные свойства ПЛ в комбинации с АЦЦ и наноселеном. Препараты вводили трижды (за 1 ч до перевязки сонных

артерий, в момент перевязки и через 1 ч после перевязки) в следующих дозах: ПЛ – 400 мг/кг (в/бр), АЦЦ – 150 (в/бр), наноселен – 1 мг/кг (в/бр) (получен от старшего научного сотрудника Института физико-органической химии НАН Беларуси С. Г. Азизбеяна). Животные были разделены на 6 экспериментальных групп (по 7 особей в каждой). Крысам контрольной (ложнооперированной) группы делали надрез кожи в области шеи, но сонные артерии не перевязывали. Животных выводили из эксперимента путем декапитации после 2 ч ишемии мозга, собирали кровь и извлекали головной мозг, из которого выделяли большие полушария.

Выраженность окислительного стресса определяли по содержанию продуктов свободнорадикального окисления, а также по показателям окислительной модификации белков в плазме крови и ткани мозга. Общую окислительную активность плазмы оценивали по уровню N,N-диметил-*para*-фенилендиамин-реагирующих соединений (ДФАРС) и измеряли по методу, предложенному в работе [23]. Измерение тиобарбитурат-реагирующих соединений (ТБКРС) и приготовление ТБК-реагента проводили согласно методу [24] в нашей модификации. Содержание общих гидропероксидов (ROOH) определяли колориметрическим методом с применением ксиленолового оранжевого [25]. Окислительную модификацию белков (ОМБ) оценивали спектрофотометрическим методом по содержанию альдегидфенилгидразонов и кетондинитрофенилгидразонов белков в реакции с 2,4-динитрофенилгидразином [26].

В больших полушариях мозга оценивали интенсивность метаболизма по пентозофосфатному пути, измеряя спектрофотометрически активность основных ферментов – глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Гл-6-Ф-ДГ) и 6-фосфоглюконатдегидрогеназы (6-ФГл-ДГ) [27], активность цикла трикарбонных кислот – по активности аконитазы [28], сукцинатдегидрогеназы (СДГ) [29] и 2-оксоглутаратдегидрогеназы (ОГДГ) [30].

Для характеристики редокс-статуса системы глутатиона в ткани мозга измеряли содержание общего и окисленного глутатиона (GSSG) рециклическим ферментативным методом согласно методическим указаниям [31, 32]. По разности между ними высчитывали содержание восстановленного глутатиона (GSH). Кинетическим методом определяли активность основных ферментов окислительно-восстановительных превращений глутатиона: активность глутатионредуктазы (GR) – по убыли NADPH [33], активность глутатионпероксидазы (GPx) – по окислению NADPH в присутствии глутатионредуктазы и GSH [34]. Измерение содержания S-глутатионилированных белков (PSSG) проводили согласно методу, предложенному в работе [35], с небольшими модификациями.

**Результаты и их обсуждение.** В эксперименте по моделированию общей ишемии мозга у крыс было установлено, что, хотя уровень ДФАРС в плазме крови оказался сниженным на фоне ишемии мозга, содержание ТБКРС увеличилось почти в 2 раза ( $p < 0,05$ ), что свидетельствует об активации перекисного окисления липидов на уровне целостного организма (табл. 1). Введение ПЛ, ПЛ + АЦЦ или ПЛ + АЦЦ + наноселен на фоне ишемии приводило к уменьшению отклонений показателей ДФАРС и ТБКРС от значений в контрольной группе.

Т а б л и ц а 1. Изменение содержания продуктов перекисного окисления липидов в плазме крови крыс после 2 ч ишемии мозга и введения пантенола, ацетилцистеина и наноселена (M ± SEM)

Table 1. Changes in the content of lipid peroxidation products in the blood plasma of rats after 2-hour cerebral ischemia and the administration of panthenol, acetylcysteine, and nanoselene (M ± SEM)

Группа	ДФАРС, усл. ед/мг белка	ТБКРС, мкмоль/л
Контроль	257,0 ± 7,00	6,25 ± 1,03
Ишемия 2 ч	183,2 ± 7,36*	11,46 ± 1,69*
Ишемия 2 ч + ПЛ	204,1 ± 5,52*#	9,75 ± 1,74*
Ишемия 2 ч + ПЛ + АЦЦ	233,0 ± 11,34#	7,86 ± 1,11#
Ишемия 2 ч + ПЛ + наноселен	160,0 ± 11,67*#	8,16 ± 0,77*#
Ишемия 2 ч + ПЛ + АЦЦ + наноселен	218,1 ± 9,03*#	8,27 ± 0,54*#

П р и м е ч а н и е. Здесь и в табл. 2–8: \* –  $p < 0,05$  по отношению к контролю; # –  $p < 0,05$  по сравнению с показателями после 2 ч ишемии.

Показатели окислительной модификации белков в плазме крови не изменились заметным образом после 2 ч ишемии мозга (табл. 2), а на фоне действия ПЛ, а также его комбинаций с наноселеном и АЦЦ снизились ниже контрольных значений.

**Таблица 2. Изменение содержания продуктов окислительной модификации белков (ед. опт. пл/мл) в плазме крови крыс после 2 ч ишемии головного мозга и коррекции D-пантенолом с N-ацетилцистеином и наноселеном (M ± SEM)**

**Table 2. Changes in the content of products of oxidative modification of proteins (optical units/ml) in the blood plasma of rats after 2-hour cerebral ischemia and the correction with D-panthenol, N-acetylcysteine, and nanoselen (M ± SEM) with D-panthenol with N-acetylcysteine and nanoselen (M ± SEM)**

Группа	Альдегидфенилгидразоны	Кетондинитрофенилгидразоны
Контроль	28,64 ± 0,23	8,71 ± 0,19
Ишемия 2 ч	25,13 ± 1,40*	9,17 ± 0,26
Ишемия 2 ч + ПЛ	27,12 ± 1,83	10,85 ± 0,51*
Ишемия 2 ч + ПЛ + АЦЦ	17,10 ± 0,98 <sup>#</sup>	5,14 ± 0,12 <sup>#</sup>
Ишемия 2 ч + ПЛ + наноселен	31,69 ± 0,83 <sup>#</sup>	4,94 ± 0,22 <sup>#</sup>
Ишемия 2 ч + ПЛ + АЦЦ + наноселен	27,04 ± 0,90	6,90 ± 0,33 <sup>#</sup>

В то же время изучение окислительной модификации белков в больших полушариях мозга крыс после 2 ч ишемии мозга показало активацию окислительной модификации белков (по образованию альдегидфенилгидразонов) на 22 % ( $p < 0,05$ ) на фоне ишемии мозга и выраженное угнетение и этого процесса, и образования кетондинитрофенилгидразонов при введении как самого пантенола, так и его комбинаций с наноселеном или с наноселеном и АЦЦ (табл. 3).

**Таблица 3. Изменение окислительной модификации белков (ед. опт. пл/мг белка) в больших полушариях мозга после 2 ч ишемии головного мозга и коррекции D-пантенолом с N-ацетилцистеином и наноселеном (M ± SEM)**

**Table 3. Change in the content of products of oxidative modification of proteins (units of optical density/mg protein) in the cerebral hemispheres after 2-hour cerebral ischemia and the correction with D-panthenol, N-acetylcysteine, and nanoselen (M ± SEM)**

Группа	Альдегидфенилгидразоны	Кетондинитрофенилгидразоны
Контроль	0,93 ± 0,03	0,73 ± 0,02
Ишемия 2 ч	1,13 ± 0,09*	0,71 ± 0,02
Ишемия 2 ч + ПЛ	0,60 ± 0,03 <sup>#</sup>	0,51 ± 0,02 <sup>#</sup>
Ишемия 2 ч + ПЛ + АЦЦ	0,65 ± 0,01 <sup>#</sup>	0,47 ± 0,011 <sup>#</sup>
Ишемия 2 ч + ПЛ + наноселен	0,73 ± 0,02 <sup>#</sup>	0,54 ± 0,02 <sup>#</sup>
Ишемия 2 ч + ПЛ + АЦЦ + наноселен	0,44 ± 0,01 <sup>#</sup>	0,48 ± 0,01 <sup>#</sup>

Уровень гидропероксидов в больших полушариях мозга крыс после 2 ч ишемии мозга повысился на 36 % ( $p < 0,05$ ) по сравнению с таковым в контрольной группе, что является показателем усиления процессов образования продуктов свободнорадикального окисления в ткани при нарушении поступления крови в мозг (табл. 4). Введение ПЛ, ПЛ + АЦЦ или ПЛ + наноселен немного притормозило образование гидропероксидов, тогда как комбинация ПЛ + АЦЦ + наноселен способствовала возвращению уровня общих гидропероксидов к значениям в контроле, что свидетельствует о снижении интенсивности процессов свободнорадикального окисления в мозге при действии комбинации данных соединений.

Дефицит поступления кислорода в мозг привел также к нарушениям метаболизма по пентозофосфатному пути в больших полушариях. Так, в нашем эксперименте выявлено повышение активности 6-ФГл-ДГ на 14 % ( $p < 0,05$ ), но без заметного изменения активности Гл-6-Ф-ДГ (табл. 5). Один пантенол не оказывал выраженного влияния на активность обоих ферментов, однако в присутствии наноселена или наноселена вместе с АЦЦ на фоне ПЛ наблюдалось значительное повышение активности 6-ФГл-ДГ и столь же значительное снижение активности Гл-6-Ф-ДГ.

Т а б л и ц а 4. Изменение уровня общих гидропероксидов (ROOH) в больших полушариях мозга после 2 ч ишемии головного мозга и коррекции D-пантенолом с N-ацетилцистеином и наноселеном (M ± SEM)

Table 4. Changes in the level of total hydroperoxides (ROOH) in the cerebral hemispheres after 2-hour cerebral ischemia and the correction with D-panthenol, N-acetylcysteine, and nanoselen (M ± SEM)

Группа	ROOH, нмоль/мг белка
Контроль	58,33 ± 1,75
Ишемия 2 ч	79,28 ± 2,40*
Ишемия 2 ч + ПЛ	69,15 ± 1,60*#
Ишемия 2 ч + ПЛ + АЦЦ	67,08 ± 1,20*#
Ишемия 2 ч + ПЛ + наноселен	70,79 ± 1,35*#
Ишемия 2 ч + ПЛ + АЦЦ + наноселен	61,17 ± 3,65#

Т а б л и ц а 5. Изменение активности ферментов пентозофосфатного пути (нмоль NADPH/мин/мг белка) в больших полушариях мозга после 2 ч ишемии головного мозга и коррекции D-пантенолом с N-ацетилцистеином и наноселеном (M ± SEM)

Table 5. Changes in the activity of enzymes of the pentose phosphate pathway (nmol NADPH/min/mg protein) in the cerebral hemispheres after 2-hour cerebral ischemia and the correction with D-panthenol, N-acetylcysteine, and nanoselen (M ± SEM)

Группа	6-Ф-Гл-ДГ	Гл-6-Ф-ДГ
Контроль	13,23 ± 0,79	8,71 ± 0,19
Ишемия 2 ч	15,03 ± 1,13*	9,17 ± 0,26
Ишемия 2 ч + ПЛ	14,29 ± 1,41	10,85 ± 0,51*
Ишемия 2 ч + ПЛ + АЦЦ	10,15 ± 0,63*#	5,14 ± 0,12*#
Ишемия 2 ч + ПЛ + наноселен	31,69 ± 0,83*#	4,94 ± 0,22*#
Ишемия 2 ч + ПЛ + АЦЦ + наноселен	27,04 ± 0,90*#	6,90 ± 0,33*#

Что касается активности ферментов энергетического метаболизма, то ишемия мозга сопровождалась повышением активности СДГ на 41 % ( $p < 0,05$ ) и одновременно угнетением ОГДГ на 62 % ( $p < 0,05$ ) при отсутствии изменения активности аконитазы (табл. 6).

Т а б л и ц а 6. Изменение активности ферментов ЦТК (нмоль/мин/мг белка) в больших полушариях мозга после 2 ч ишемии головного мозга и коррекции D-пантенолом с N-ацетилцистеином и наноселеном (M ± SEM)

Table 6. Changes in the activity of Krebs cycle enzymes (nmol/min/mg protein) in the cerebral hemispheres after 2-hour cerebral ischemia and the correction with D-panthenol, N-acetylcysteine, and nanoselen (M ± SEM)

Группа	Аконитаза	Сукцинатдегидрогеназа	Оксоглутаратдегидрогеназа
Контроль	54,00 ± 2,05	30,74 ± 1,30	5,73 ± 0,18
Ишемия 2 ч	55,81 ± 1,41	43,35 ± 2,54*	2,16 ± 0,05*
Ишемия 2 ч + ПЛ	45,76 ± 1,20*#	25,09 ± 1,58*#	2,54 ± 0,19*
Ишемия 2 ч + ПЛ + АЦЦ	52,94 ± 1,45	24,27 ± 1,01*#	1,86 ± 0,12*#
Ишемия 2 ч + ПЛ + наноселен	56,73 ± 2,05	20,79 ± 0,85*#	4,80 ± 0,18#
Ишемия 2 ч + ПЛ + АЦЦ + наноселен	47,28 ± 2,39*#	24,24 ± 1,09*#	5,84 ± 0,16#

Пантенол и его комбинации с АЦЦ и наноселеном способствовали снижению активности СДГ ниже значений в контроле. Активность же ОГДГ восстановилась до контрольных значений лишь при действии комбинации ПЛ + наноселен или ПЛ + АЦЦ + наноселен. Что касается аконитазы, то ее активность в присутствии ПЛ и его комбинации с АЦЦ и наноселеном снизилась, но была на уровне контрольных значений при действии комбинации ПЛ с АЦЦ или комбинации ПЛ с наноселеном.

Изучение показателей системы глутатиона – основной системы антиоксидантной защиты в мозге – выявило, что на фоне ишемии мозга произошло снижение содержания GSH на 19 % ( $p < 0,05$ ) и повышение содержания GSSG на 14 % ( $p < 0,05$ ), что сопровождалось заметным уменьшением их соотношения (табл. 7). Это свидетельствует о снижении восстановительного потенциала системы глутатиона при общей ишемии мозга.

Таблица 7. Содержание восстановленного и окисленного глутатиона (нмоль/мг белка) и их соотношение в больших полушариях мозга после 2 ч ишемии головного мозга и коррекции D-пантенолом с N-ацетилцистеином и наноселеном (M ± SEM)

Table 7. Content of reduced and oxidized glutathione (nmol/mg protein) and its ratio in the cerebral hemispheres after 2-hour cerebral ischemia and the correction with D-panthenol, N-acetylcysteine, and nanoselen (M ± SEM)

Группа	GSH	GSSG	GSH/GSSG
Контроль	20,11 ± 0,15	0,190 ± 0,011	105,8 ± 1,5
Ишемия 2 ч	16,33 ± 0,13*	0,217 ± 0,010*	76,3 ± 1,3*
Ишемия 2 ч + ПЛ	16,83 ± 0,12*	0,219 ± 0,012*	78,6 ± 1,8*
Ишемия 2 ч + ПЛ + АЦЦ	21,15 ± 0,11#	0,189 ± 0,008#	113,6 ± 2,1#
Ишемия 2 ч + ПЛ + наноселен	21,73 ± 0,16#	0,220 ± 0,015*	101,3 ± 2,2#
Ишемия 2 ч + ПЛ + АЦЦ + наноселен	23,67 ± 0,15#	0,176 ± 0,015#	128,1 ± 5,0*#

Сам ПЛ практически не оказал воздействия на вышеперечисленные изменения, тогда как комбинация ПЛ + АЦЦ или ПЛ + наноселен способствовала возвращению этих показателей к контрольным значениям, а при действии комбинации ПЛ + АЦЦ + наноселен произошло повышение восстановительного потенциала системы глутатиона, о чем свидетельствует увеличение соотношения GSH/GSSG на 21 % выше контроля и на 68 % выше его значения при ишемии.

Изменение уровней GSH и GSSG происходило на фоне повышения активности и глутатионредуктазы (на 46 %,  $p < 0,05$ ), и глутатионпероксидазы (на 53 %,  $p < 0,05$ ) (табл. 8). При действии комбинации пантенола, наноселена и АЦЦ активность ферментов метаболизма глутатиона возвращалась к уровню контроля.

Таблица 8. Активность глутатионредуктазы (GR), глутатионпероксидазы (GPx) и содержание S-глутатионилированных белков (PSSG) в больших полушариях мозга после 2 ч ишемии головного мозга и коррекции D-пантенолом с N-ацетилцистеином и наноселеном (M ± SEM)

Table 8. Activity of glutathione reductase (GR), glutathione peroxidase (GPx), and the content of S-glutathionylated proteins (PSSG) in the cerebral hemispheres after 2-hour cerebral ischemia and the correction with D-panthenol, N-acetylcysteine, and nanoselen (M ± SEM)

Группа	GR, мкмоль NADPH/мин/г ткани	GPx, мкмоль NADPH/мин/г ткани	PSSG, нмоль/мг белка
Контроль	1,29 ± 0,08	0,51 ± 0,06	0,55 ± 0,08
Ишемия	1,88 ± 0,02*	0,78 ± 0,02*	0,93 ± 0,04*
Ишемия + ПЛ	1,63 ± 0,05*#	0,59 ± 0,02*#	0,80 ± 0,03*#
Ишемия + ПЛ + АЦЦ	1,38 ± 0,03#	0,63 ± 0,03*#	0,69 ± 0,02*#
Ишемия + ПЛ + наноселен	1,59 ± 0,05*#	0,70 ± 0,12*#	0,79 ± 0,03*#
Ишемия + ПЛ + АЦЦ + наноселен	1,34 ± 0,06#	0,69 ± 0,10*#	0,66 ± 0,03#

Содержание S-глутатионилированных белков в больших полушариях мозга повысилось на 69 % ( $p < 0,05$ ) при ишемии (табл. 8), что является чувствительным маркером увеличения пост-трансляционной модификации белков в условиях окислительного стресса и может приводить к изменению ферментативной активности ряда белков, например ОДГ и СДГ, как это показано в нашем эксперименте (см. табл. 6). Введение ПЛ, ПЛ с наноселеном или ПЛ с АЦЦ несколько снизило этот показатель, тогда как воздействие комбинации всех трех изученных нами соединений возвратило его практически к контрольным значениям.

**Заключение.** В модели экспериментальной ишемии головного мозга у крыс установлено, что развитие окислительного стресса сопровождается изменениями показателей энергетического обмена и пентозофосфатного пути, нарушениями тиол-дисульфидного статуса в больших полушариях мозга. По-видимому, активация пентозофосфатного пути носит компенсаторный характер

и направлена на поддержание уровня восстановленных эквивалентов (НАДФН), необходимых в свою очередь для обеспечения редокс-потенциала системы глутатиона.

Система GSH/GSSG является основной небелковой редокс-буферной системой в ткани мозга. На фоне метаболического дисбаланса, развивающегося при окислительном стрессе, уровень GSH и соотношение GSH/GSSG снижаются, повышается содержание окисленной формы GSH и в больших полушариях мозга, отмечается активация ферментов окислительно-восстановительных превращений глутатиона. Редокс-потенциал системы глутатиона снижается и сдвигается в сторону окисления. Происходящее при этом повышение уровня S-глутатионилированных белков определяет изменение конформации белков и их агрегацию и, соответственно, нарушение их биологической активности, которые, в частности, могут приводить к изменениям активности ферментов энергетического метаболизма в ткани мозга.

Очевидно, величина соотношения GSH/GSSG и интенсивность глутатионилирования белков являются чувствительными показателями редокс-потенциала в мозге и могут использоваться в качестве маркеров степени изменения окислительно-восстановительного баланса.

Введение животным пантенола на фоне ишемии мозга приводит к снижению содержания продуктов свободнорадикального окисления, нарушению окислительного фосфорилирования и восстановлению тиол-дисульфидного баланса в мозге. Модуляция предшественниками КоА системы глутатиона в нейроструктурах открывает возможности их использования в качестве регуляторов редокс-баланса ткани мозга при окислительном стрессе.

При совместном введении пантенола с предшественником биосинтеза глутатиона N-ацетилцистеином и наноселеном корригирующее действие пантенола усиливается, что свидетельствует о перспективности разработки новых композиций с использованием средств метаболической терапии для защиты ткани мозга от повреждений в условиях ограничения поступления кислорода.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Благодарности.** Работа выполнена при финансовой поддержке ГПНИ «Конвергенция-2020», подпрограмма «Объединение», задание 3.06 «Разработать молекулярно-информационные и физические методы функциональной диагностики медицинской коррекции» («Системный и тканевой редокс-биологический потенциал при окислительном стрессе и полиморбидной патологии», 2016–2020 гг.).

**Acknowledgements.** The work was financially supported by the GPNI “Convergence – 2020”, subprogram “Union”, grant 3.06 “To develop molecular information and physical methods of functional diagnostics of medical correction” (“Systemic and tissue redox biological potential in oxidative stress and polymorbid pathology”, 2016–2020).

### Список использованных источников

1. Neuroprotection for stroke: current status and future perspectives / J. Minnerup [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2012. – Vol. 13, N 12. – P. 11753–11772. <https://doi.org/10.3390/ijms130911753>
2. Lyden, P. Mechanisms of action of neuroprotectants in stroke / P. Lyden, N. G. Wahlgren // *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.* – 2000. – Vol. 9, N 6. – P. 9–14. <https://doi.org/10.1053/jscd.2000.19316>
3. Ginsberg, M. D. Neuroprotection for ischemic stroke: Past, present and future / M. D. Ginsberg // *Neuropharmacology.* – 2008. – Vol. 55, N 3. – P. 363–389. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2007.12.007>
4. Gitler, A. D. Neurodegenerative disease: models, mechanisms, and a new hope / A. D. Gitler, P. Dhillon, J. Shorter // *Dis. Models Mech.* – 2017. – Vol. 10, N 5. – P. 499–502. <https://doi.org/10.1242/dmm.030205>
5. Oxidative stress in neurodegenerative diseases: from molecular mechanisms to clinical applications [Electronic resource] / Z. Liu [et al.] // *Oxid. Med. Cell Longev.* – 2017. – Vol. 2017. – Art. ID 2525967. <https://doi.org/10.1155/2017/2525967>
6. Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay / A. Rahal [et al.] // *BioMed. Res. Int.* – 2014. – Vol. 2014. – Art. ID 761264. <https://doi.org/10.1155/2014/761264>
7. Bacigaluppi, M. New targets of neuroprotection in ischemic stroke / M. Bacigaluppi, D. M. Hermann // *Sci. World J.* – 2008. – Vol. 8. – Art. ID 974246. <https://doi.org/10.1100/tsw.2008.94>
8. Thiol redox homeostasis in neurodegenerative disease / G. J. McBean [et al.] // *Redox Biol.* – 2015. – Vol. 5. – P. 186–194. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.04.004>
9. Activation of NADPH oxidase in Alzheimer’s disease brains / S. Shimohama [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2000. – Vol. 273, N 1. – P. 5–9. <https://doi.org/10.1006/bbrc.2000.2897>
10. Ben-Yoseph, O. Assessment of the role of the glutathione and pentose phosphate pathways in the protection of primary cerebrocortical cultures from oxidative stress / O. Ben-Yoseph, P. A. Boxer, B. D. Ross // *J. Neurochem.* – 1996. – Vol. 66, N 6. – P. 2329–2337. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1996.66062329.x>

11. Oxidized glutathione stimulated the amyloid formation of  $\alpha$ -synuclein / S. R. Paik [et al.] // *FEBS Lett.* – 2003. – Vol. 537, N 1–3. – P. 63–67. [https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(03\)00081-4](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(03)00081-4)
12. Пенионжкевич, Д. Ю. Новые технологии нейрометаболической терапии цереброваскулярных заболеваний / Д. Ю. Пенионжкевич, Ф. Е. Горбунов // *Журн. неврологии и психиатрии имени С. С. Корсакова.* – 2009. – Т. 109, № 7. – С. 19–22.
13. Tymianski, M. Can molecular and cellular neuroprotection be translated into therapies for patients? Yes, but not the way we tried it before / M. Tymianski // *Stroke.* – 2010. – Vol. 41, N 10, suppl. 1. – P. S87–S90. <https://doi.org/10.1161/strokeaha.110.595496>
14. Couto, N. The role of glutathione reductase and related enzymes on cellular redox homeostasis network / N. Couto, J. Wood, J. Barber // *Free Radic. Biol. Med.* – 2016. – Vol. 95. – P. 27–42. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.02.028>
15. Pantothenic acid in maintaining thiol and immune homeostasis / A. G. Moiseenok [et al.] // *BioFactors.* – 2000. – Vol. 11, N 1–2. – P. 53–55. <https://doi.org/10.1002/biof.5520110115>
16. Panthenol as neuroprotectant: study in a rat model of middle cerebral artery occlusion / M. V. Onufriev [et al.] // *Neurochem. J.* – 2010. – Vol. 4, N 2. – P. 148–152. <https://doi.org/10.1134/s181971241002011x>
17. Результаты экспериментального и клинического изучения отечественного препарата пантевитола (пантенола) / М. А. Ковлер [и др.] // Пантенол и другие производные пантотеновой кислоты : материалы Междунар. симп., Гродно, 3–5 июня 1998 г. / Институт биохимии НАН Беларуси ; под ред. проф. А. Г. Мойсеенка. – Гродно, 1998. – С. 99–106.
18. Олешкевич, Ф. В. Нейропротекторный эффект производных пантотеновой кислоты при хирургическом лечении артериальных аневризм головного мозга / Ф. В. Олешкевич, А. А. Скороход, А. Г. Мойсеенок // *Журн. теор. и клин. медицины.* – 2000. – № 3. – С. 232–233.
19. Protective effect of ebselen, a seleno-organic antioxidant on neurodegeneration induced by hypoxia and reperfusion in stroke-prone spontaneously hypertensive rat / K. Yamagata [et al.] // *Neuroscience.* – 2008. – Vol. 153, N 2. – P. 428–435. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2008.02.028>
20. Parnham, M. Ebselen: prospective therapy for cerebral ischaemia / M. Parnham, H. Sies // *Expert Opin. Invest. Drugs.* – 2000. – Vol. 9, N 3. – P. 607–619. <https://doi.org/10.1517/13543784.9.3.607>
21. N-acetyl cysteine restores limb function, improves mitochondrial respiration, and reduces oxidative stress in a murine model of critical limb ischaemia / A. Lejay [et al.] // *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* – 2018. – Vol. 56, N 5. – P. 730–738. <https://doi.org/10.1016/j.ejvs.2018.07.025>
22. Моделирование глобальной ишемии головного мозга путем билатеральной окклюзии сонных артерий у бодрствующих гипертензивных крыс (SHR-SP) / Н. Н. Лобанова [и др.] // *Бюл. эксперим. биологии и медицины.* – 2008. – Т. 146, № 12. – С. 627–630.
23. Use of N,N-dimethyl-p-phenylenediamine to evaluate the oxidative status of human plasma / V. Verde [et al.] // *Free Radic. Res.* – 2002. – Vol. 36, N 8. – P. 869–873. <https://doi.org/10.1080/1071576021000005302>
24. Williamson, K. S. Fluorometric and colorimetric assessment of thiobarbituric acid-reactive lipid aldehydes in biological matrices / K. S. Williamson, K. Hensley, R. A. Floyd // *Methods in Biological Oxidative Stress* / eds. : K. Hensley, R. A. Floyd. – New York, 2003. – P. 57–65.
25. Hermes-Lima, M. Quantification of lipid peroxidation in tissue extracts based on Fe(III) xylenol orange complex formation / M. Hermes-Lima, W. G. Willmore, K. B. Storey // *Free Rad. Biol. Med.* – 1995. – Vol. 19, N 3. – P. 271–280. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(95\)00020-x](https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)00020-x)
26. Арутюнян, А. В. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма : метод. рекомендации / А. В. Арутюнян, Е. Е. Дубинина, Н. Н. Зыбина ; под ред. В. Х. Хавинсона. – СПб. : С.-Петербург. ин-т биорегуляции и геронтологии, 2000. – 102 с.
27. Ninfali, P. Methods for studying the glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in brain areas / P. Ninfali, G. Aluigi, A. Pompella // *Brain Res. Protocols.* – 1997. – Vol. 1, N 4. – P. 357–363. [https://doi.org/10.1016/s1385-299x\(97\)00011-1](https://doi.org/10.1016/s1385-299x(97)00011-1)
28. Quirós, P. M. Determination of aconitase activity: a substrate of the mitochondrial ion protease / P. M. Quirós // *Methods in Molecular Biology* / eds. : S. Cal, A. Obaya. – New York, 2018. – Vol. 1731. – P. 49–56. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7595-2\\_5](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7595-2_5)
29. Ещенко, Н. Д. Определение количества янтарной кислоты и активности сукцинатдегидрогеназы / Н. Д. Ещенко, Г. Г. Вольский // *Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) : учеб. пособие* / М. И. Прохорова [и др.] ; под ред. М. И. Прохоровой. – Л., 1982. – С. 207–212.
30. Биссвангер, Х. Практическая энзимология : учеб. пособие / Х. Биссвангер ; пер. с англ. Т. П. Мосоловой. – М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2010. – 328 с.
31. Anderson, M. Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples / M. Anderson // *Methods in Enzymology.* – Orlando, 1985. – Vol. 113 : Glutamate, Glutamine, Glutathione, and Related Compounds / ed. A. Meister. – P. 548–555.
32. Rahman, I. Assay for quantitative determination of glutathione and glutathione disulfide levels using enzymatic recycling method / I. Rahman, A. Kode, S. K. Biswas // *Nat. Protocols.* – 2006. – Vol. 1, N 6. – P. 3159–3165. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.378>
33. Smith, I. K. Assay of glutathione reductase in crude tissue homogenates using 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid) / I. K. Smith, T. L. Vierheller, C. A. Thorne // *Anal. Biochem.* – 1988. – Vol. 175, N 2. – P. 408–413. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(88\)90564-7](https://doi.org/10.1016/0003-2697(88)90564-7)
34. Flohé, L. Assays of glutathione peroxidase / L. Flohé, W. A. Günzler // *Methods in Enzymology.* – Orlando, 1984. – Vol. 105 : Oxygen Radicals in Biological Systems / ed. L. Packer. – P. 114–121.
35. Menon, D. A fluorometric method to quantify protein glutathionylation using glutathione derivatization with 2,3-naphthalenedicarboxaldehyde / D. Menon, P. G. Board // *Anal. Biochem.* – 2013. – Vol. 433, N 2. – P. 132–136. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2012.10.009>

## References

1. Minnerup J., Sutherland B. A., Buchan A. M., Kleinschnitz C. Neuroprotection for stroke: current status and future perspectives. *International Journal of Molecular Sciences*, 2012, vol. 13, no. 12, pp. 11753–11772. <https://doi.org/10.3390/ijms130911753>
2. Lyden P., Wahlgren N. G. Mechanisms of action of neuroprotectants in stroke. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*, 2000, vol. 9, no. 6, pp. 9–14. <https://doi.org/10.1053/jscd.2000.19316>
3. Ginsberg M. D. Neuroprotection for ischemic stroke: Past, present and future. *Neuropharmacology*, 2008, vol. 55, no. 3, pp. 363–389. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2007.12.007>
4. Gitler A. D., Dhillon P., Shorter J. Neurodegenerative disease: models, mechanisms, and a new hope. *Disease Models and Mechanisms*, 2017, vol. 10, no. 5, pp. 499–502. <https://doi.org/10.1242/dmm.030205>
5. Liu Z., Zhou T., Ziegler A. C., Dimitrion P., Zuo L. Oxidative stress in neurodegenerative diseases: from molecular mechanisms to clinical applications. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, vol. 2017, art. ID 2525967. <https://doi.org/10.1155/2017/2525967>
6. Rahal A., Kumar A., Singh V., Yadav B., Tiwari R., Chakraborty S., Dhama K. Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: The interplay. *BioMed Research International*, 2014, vol. 2014, art. ID 761264. <https://doi.org/10.1155/2014/761264>
7. Bacigaluppi M., Hermann D. M. New targets of neuroprotection in ischemic stroke. *Scientific World Journal*, 2008, vol. 8, art. ID 974246. <https://doi.org/10.1100/tsw.2008.94>
8. McBean G. J., Aslan M., Griffiths H. R., Torrão R. C. Thiol redox homeostasis in neurodegenerative disease. *Redox Biology*, 2015, vol. 5, pp. 186–194. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.04.004>
9. Shimohama S., Tanino H., Kawakami N., Okamura N., Kodama H., Yamaguchi T. [et al.]. Activation of NADPH oxidase in Alzheimer's disease brains. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2000, vol. 273, no. 1, pp. 5–9. <https://doi.org/10.1006/bbrc.2000.2897>
10. Ben-Yoseph O., Boxer P. A., Ross B. D. Assessment of the role of the glutathione and pentose phosphate pathways in the protection of primary cerebrocortical cultures from oxidative stress. *Journal of Neurochemistry*, 1996, vol. 66, no. 6, pp. 2329–2337. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1996.66062329.x>
11. Paik S. R., Lee D., Cho H.-J., Lee E.-N., Chang Ch.-S. Oxidized glutathione stimulated the amyloid formation of  $\alpha$ -synuclein. *FEBS Letters*, 2003, vol. 537, no. 1–3, pp. 63–67. [https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(03\)00081-4](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(03)00081-4)
12. Penionzhkevich D. Yu., Gorbunov F. E. New technologies of neurometabolic therapy of cerebrovascular diseases. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii imeni C. C. Korsakova = Journal of neurology and psychiatry named after S. S. Korsakov*, 2009, vol. 109, no. 7, pp. 19–22 (in Russian).
13. Tymianski M. Can molecular and cellular neuroprotection be translated into therapies for patients? Yes, but not the way we tried it before. *Stroke*, 2010, vol. 41, no. 10, suppl. 1, pp. S87–S90. <https://doi.org/10.1161/strokeaha.110.595496>
14. Couto N., Wood J., Barber J. The role of glutathione reductase and related enzymes on cellular redox homeostasis network. *Free Radical Biology and Medicine*, 2016, vol. 95, pp. 27–42. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.02.028>
15. Moiseenok A. G., Komar V. I., Khomich T. I., Kanunnikova N. P., Slyshenkov V. S. Pantothenic acid in maintaining thiol and immune homeostasis. *BioFactors*, 2000, vol. 11, pp. 53–55. <https://doi.org/10.1002/biof.5520110115>
16. Onufriev M. V., Stepanichev M. Y., Lazareva N. V., Katkovskaya I. N., Tishkina A. O., Moiseenok A. G., Gulyaeva N. V. Panthenol as neuroprotectant: study in a rat model of middle cerebral artery occlusion. *Journal of Neurochemistry*, 2010, vol. 4, no. 2, pp. 148–152. <https://doi.org/10.1134/s181971241002011x>
17. Kovler M. A., Karaev A. L., Pomerantseva T. Ya., Kozlova G. S., Mikhailova G. S., Gunar V. I., Dorofeev B. F., Moiseenok A. G. Results of an experimental and clinical study of the domestic drug panthevit (panthenol). *Pantenol i drugie proizvodnye pantotenovoi kisloty: materialy Mezhdunarodnogo simpoziuma (Grodno, 3–5 iyunya 1998 goda)* [Panthenol and other derivatives of pantothenic acid: materials of the International symposium (Grodno, June 3–5, 1998)]. Grodno, 1998, pp. 99–106 (in Russian).
18. Oleshkevich F. V., Skorokhod A. A., Moiseenok A. G. Neuroprotective effect of pantothenic acid derivatives in surgical treatment of arterial aneurysms of the brain. *Zhurnal teoreticheskoi i klinicheskoi meditsiny* [Journal of theoretical and clinical medicine], 2000, no. 3, pp. 232–233 (in Russian).
19. Yamagata K., Ichinose S., Miyashita A., Tagami M. Protective effect of ebselen, a seleno-organic antioxidant on neurodegeneration induced by hypoxia and reperfusion in stroke-prone spontaneously hypertensive rat. *Neuroscience*, 2008, vol. 153, no. 2, pp. 428–435. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2008.02.028>
20. Parnham M., Sies H. Ebselen: prospective therapy for cerebral ischaemia. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 2000, vol. 9, no. 3, pp. 607–619. <https://doi.org/10.1517/13543784.9.3.607>
21. Lejay A., Paradis S., Lambert A., Charles A.-L., Talha S., Enache I., Thaveau F., Chakfe N., Geny B. N-acetyl cysteine restores limb function, improves mitochondrial respiration, and reduces oxidative stress in a murine model of critical limb ischaemia. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*, 2018, vol. 56, no. 5, pp. 730–738. <https://doi.org/10.1016/j.ejvs.2018.07.025>
22. Lobanova N. N., Medvedev N. I., Popov V. I., Murashev A. N. Modeling global cerebral ischemia by bilateral carotid artery occlusion in awake hypertensive rats (SHR-SP). *Byulleten' eksperimental'noi biologii i meditsiny* [Bulletin of experimental biology and medicine], 2008, vol. 146, no. 12, pp. 627–630 (in Russian).
23. Verde V., Fogliano V., Ritieni A., Maiani G., Morisco F., Caporaso N. Use of N,N-dimethyl-p-phenylenediamine to evaluate the oxidative status of human plasma. *Free Radical Research*, 2002, vol. 36, no. 8, pp. 869–873. <https://doi.org/10.1080/1071576021000005302>

24. Williamson K. S., Hensley K., Floyd R. A. Fluorometric and colorimetric assessment of thiobarbituric acid-reactive lipid aldehydes in biological matrices. *Methods in Biological Oxidative Stress*. New York, 2003, pp. 57–65.
25. Hermes-Lima M., Willmore W. G., Storey K. B. Quantification of lipid peroxidation in tissue extracts based on Fe(III) xylenol orange complex formation. *Free Radical Biology and Medicine*, 1995, vol. 19, no. 3, pp. 271–280. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(95\)00020-x](https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)00020-x)
26. Arutyunyan A. V., Dubinina E. E., Zybina N. N. *Methods for assessing free radical oxidation and antioxidant system of the body*. St. Petersburg, St. Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, 2000. 102 p. (in Russian).
27. Ninfali P., Aluigi G., Pompella A. Methods for studying the glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in brain areas. *Brain Reserch Protocols*, 1997, vol. 1, no. 4, pp. 357–363. [https://doi.org/10.1016/s1385-299x\(97\)00011-1](https://doi.org/10.1016/s1385-299x(97)00011-1)
28. Quirós P. M. Determination of aconitase activity: a substrate of the mitochondrial ion protease. *Methods in Molecular Biology*. New York, 2018, vol. 1731, pp. 49–56. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7595-2\\_5](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7595-2_5)
29. Eshchenko N. D., Vol'skii G. G. Determination of the amount of succinic acid and the activity of succinate dehydrogenase. *Biochemical research methods (lipid and energy metabolism)*. Leningrad, 1982, pp. 207–212 (in Russian).
30. Bisswanger H. *Practical Enzymology. 2nd ed.* Weinheim, Wiley-VCH Verlag GmbH and Co., 2013. 376 p.
31. Anderson M. Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples. *Methods in Enzymology. Glutamate, Glutamine, Glutathione, and Related Compounds. Vol. 113*. Orlando, 1985, pp. 548–555.
32. Rahman I., Kode A., Biswas S. K. Assay for quantitative determination of glutathione and glutathione disulfide levels using enzymatic recycling method. *Nature Protocols*, 2006, vol. 1, no. 6, pp. 3159–3165. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.378>
33. Smith I. K., Vierheller T. L., Thorne C. A. Assay of glutathione reductase in crude tissue homogenates using 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid). *Analytical Biochemistry*, 1988, vol. 175, no. 2, pp. 408–413. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(88\)90564-7](https://doi.org/10.1016/0003-2697(88)90564-7)
34. Flohé L., Günzler W. A. Assays of glutathione peroxidase. *Methods in Enzymology. Oxygen Radicals in Biological Systems. Vol. 105*. Orlando, 1984, pp. 114–121.
35. Menon D., Board P. G. A fluorometric method to quantify protein glutathionylation using glutathione derivatization with 2,3-naphthalenedicarboxaldehyde. *Analytical Biochemistry*, 2013, vol. 433, no. 2, pp. 132–136. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2012.10.009>

### Інфармацыя аб аўтарах

*Тітко Оксана Віктаровна* – науч. супрацоўнік. Інстытут біохіміі біялагічна актыўных злучэнняў НАН Беларусі (буль. Ленінскага Кomsomola, 50, 230030, г. Гродно, Рэспубліка Беларусь). E-mail: o.titko@mail.ru

*Луцкіенка Елена Пётравна* – канд. мед. навук, заведуючы лабораторыяй. Інстытут біохіміі біялагічна актыўных злучэнняў НАН Беларусі (буль. Ленінскага Кomsomola, 50, 230030, г. Гродно, Рэспубліка Беларусь). E-mail: Lukgrodno@mail.ru

*Радута Елена Францэўна* – уч. сакратар. Інстытут біохіміі біялагічна актыўных злучэнняў НАН Беларусі (буль. Ленінскага Кomsomola, 50, 230030, г. Гродно, Рэспубліка Беларусь). E-mail: elenamaria@mail.ru

*Семеновіч Дзмітрый Сяргеевіч* – канд. біол. навук, зам. дырэктара па навуку. Інстытут біохіміі біялагічна актыўных злучэнняў НАН Беларусі (буль. Ленінскага Кomsomola, 50, 230030, г. Гродно, Рэспубліка Беларусь). E-mail: semen@ibiochemistry.by

*Васілевіч Анна Аляксандравна* – студэнт. Гродзенскі дзяржаўны ўніверсітэт ім. Янкі Купалы (ул. Ожешко, 22, 230023, г. Гродно, Рэспубліка Беларусь). E-mail: imegoista2@gmail.com

*Полешук Анна Івановна* – студэнт. Гродзенскі дзяржаўны ўніверсітэт ім. Янкі Купалы (ул. Ожешко, 22, 230023, г. Гродно, Рэспубліка Беларусь). E-mail: hannapoleshuk@icloud.com

*Мойсееў Андрэй Георгіевіч* – член-карэспандэнт, д-р біол. навук, прафесар, гл. науч. супрацоўнік. Інстытут біохіміі біялагічна актыўных злучэнняў НАН Беларусі (буль. Ленінскага Кomsomola, 50, 230030, г. Гродно, Рэспубліка Беларусь). E-mail: andrey.moiseenok@tut.by

*Кануннікова Ніна Павловна* – д-р біол. навук, прафесар. Гродзенскі дзяржаўны ўніверсітэт ім. Янкі Купалы (ул. Ожешко, 22, 230023, г. Гродно, Рэспубліка Беларусь). E-mail: n.kanunnikava@gmail.com

### Information about the authors

*Oksana V. Titko* – Researcher. Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (50, Leninski Komsomol Boulevard, 230030, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: o.titko@mail.ru

*Elena P. Lukiyenko* – Ph. D. (Med.), Head of the Laboratory. Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (50, Leninski Komsomol Boulevard, 230030, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: Lukgrodno@mail.ru

*Elena F. Raduta* – Scientific Secretary. Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (50, Leninski Komsomol Boulevard, 230030, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: elenamaria@mail.ru

*Dmitry S. Semenovich* – Ph. D. (Biol.), Deputy Director for Science. Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (50, Leninski Komsomol Boulevard, 230030, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: semen@ibiochemistry.by

*Anna A. Vasilevich* – Student. Yanka Kupala State University of Grodno (22, Ozheshko Str., 230023, Grodno, Republic of Belarus) E-mail: imegoista2@gmail.com

*Anna I. Poleshuk* – Student. Yanka Kupala State University of Grodno (22, Ozheshko Str., 230023, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: hannapoleshuk@icloud.com

*Andrey G. Moiseenok* – Corresponding Member, D. Sc. (Biol.), Professor, Chief Researcher. Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (50, Leninski Komsomol Boulevard, 230030, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: andrey.moiseenok@tut.by

*Nina P. Kanunnikova* – D. Sc. (Biol.), Professor. Yanka Kupala State University of Grodno (22, Ozheshko Str., 230023, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: n.kanunnikava@gmail.com