

<https://doi.org/10.17116/jnevro20181186163-67>

Влияние мексидола на экспрессию транскрипционного фактора Nrf2 в коре больших полушарий головного мозга при экспериментальной ишемии

Е.Н. ЯКУШЕВА, П.Ю. МЫЛЬНИКОВ, И.В. ЧЕРНЫХ, А.В. ШУЛЬКИН*

ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Рязань, Россия

Цель исследования. Изучить влияние оригинального отечественного препарата мексидол на экспрессию транскрипционного фактора Nrf2 в ядрах клеток коры лобной доли головного мозга при односторонней окклюзии общей сонной артерии. **Материал и методы.** Работа выполнена на 64 половозрелых крысах-самцах линии Вистар. Экспрессию Nrf2 определяли иммуногистохимическим методом. **Результаты и заключение.** Однократное внутривнутрибрюшинное введение мексидола в расчете 120 мг на 1 кг массы тела животного и его курсовое пероральное введение в расчете 100 мг на 1 кг массы 3 раза в день в течение 14 сут не влияли на экспрессию фактора Nrf2. Односторонняя окклюзия общей сонной артерии повышала экспрессию Nrf2 через 4 ч и на 5-е сутки после моделирования окклюзии. Пероральное введение 100 мг мексидола на 1 кг массы 3 раза в день в течение 14 сут до и после моделирования ишемии увеличивало экспрессию Nrf2 через 4 ч и на 12-е сутки по сравнению с показателями нормы, а также через 4 ч и на 12-е сутки по сравнению со значениями контроля окклюзии. Таким образом, установлено, что мексидол увеличивает экспрессию Nrf2 в лобной коре головного мозга крыс не в условиях нормы, а при односторонней окклюзии общей сонной артерии.

Ключевые слова: мексидол, Nrf2, этилметилгидроксипиридина сукцинат, ишемия, окклюзия общей сонной артерии.

An effect of mexidol on the expression of the transcription factor Nrf2 in cerebral cortex in ischemia

E.N. YAKUSHEVA, P.YU. MYLNIKOV, I.V. CHERNYKH, A.V. SHCHULKIN

Ryazan State Medical University, Ryazan, Russia

Objective. To study an effect of the antioxidant and antihypoxant mexidol (ethylmethylhydroxypyridine succinate) on the transcription factor Nrf2 expression in neuronal nuclei of frontal cortex cells autor the common carotid artery unilateral occlusion. **Material and methods.** The study was performed on 64 male Wistar rats. The Nrf2 expression was determined immunohistochemically. **Results.** Single intraperitoneal mexidol (120 mg/kg b.w.) infusion and oral (100 mg/kg p.w. thrice a day for 14 days) administration of mexidol did not affect Nrf2 expression. Unilateral common carotid artery occlusion led to the increase in Nrf2 expression 4 h and 5 days after occlusion. Oral administration of mexidol in dose of 100 mg/kg b.w. thrice a day for 14 days before and after ischemia increased Nrf2 expression on the 4th h and on the 12th day in comparison with intact animals. Nrf2 expression was higher after 4 h and 12 days in comparison with the control occlusion group. **Conclusion.** Mexidol increases Nrf2 expression in the frontal cortex of rats not under normal conditions but in common carotid artery unilateral occlusion.

Keywords: mexidol, Nrf2, ethylmethylhydroxypyridine succinate, ischemia, occlusion, common carotid artery.

Мексидол (2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцинат) является оригинальным отечественным препаратом с широким спектром таких фармакологических эффектов, как антиоксидантный, противогипоксический, мембранотропный, нейропротективный и др. Терапевтический эффект препарата наиболее выражен при нейродегенеративных и сосудистых патологиях головного мозга. Мексидол применяется при всех нозологиях, патогенез которых включает ишемию и гипоксию, но преимущественно при ишемии наиболее энергопотребляющих органов и систем организма — нервной и сердечно-сосудистой [1].

Молекула мексидола состоит из двух частей: 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина и остатка янтарной кислоты. Первая часть обладает прямой антиоксидантной активностью за счет подвижного атома водорода гидроксильной группы. Вторая проявляет выраженные противогипоксические свойства, поддерживая в условиях гипоксии работоспособность сукцинатоксидазного ФАД-зависимого звена цикла Кребса [2, 3]. Однако впоследствии было показано [1, 4], что мексидол также повышает активность ряда антиоксидантных ферментов, увеличивает соотношение липида и белка в цитоплазматической мембране, подавляет развитие глутаматной эксайтотоксично-

сти, усиливает экспрессию транскрипционного фактора Nrf1.

На сегодняшний день выявленные многочисленные эффекты мексидола не могут быть объяснены лишь химическими особенностями его структуры.

NF-E2-related factor 2 (Nrf2) — редокс-чувствительный транскрипционный фактор, который реагирует на изменение соотношения восстановленных и окисленных SH-групп в белках. Его экспрессия повышается при развитии окислительного стресса и направлена на защиту клетки от воздействия свободных радикалов [5]. Известно, что выключение гена, кодирующего Nrf2 в организме мышей, не только блокирует усиление работы генов защитных белков в условиях окислительного стресса, но также приводит к падению уровня транскрипции ряда генов в условиях нормы. Таким образом, Nrf2 участвует в поддержании базального уровня транскрипции некоторых из своих генов-мишеней [6].

Цель настоящего исследования — изучение влияния мексидола на экспрессию Nrf2 в коре лобной доли больших полушарий головного мозга крыс в норме и при односторонней окклюзии общей сонной артерии.

Материал и методы

Исследование было выполнено на 64 половозрелых крысах-самцах линии Вистар массой 220—300 г, которые были распределены в 5 групп. Работа с животными осуществлялась согласно правилам лабораторной практики (приказ Минздрава России №199н от 01.04.16).

Животные 1-й группы ($n=6$) получали дистиллированную воду перорально 3 раза в день в течение 14 сут (норма). Крысам 2-й группы ($n=5$) вводили мексидол в форме суспензии на дистиллированной воде перорально в расчете 100 мг на 1 кг массы 3 раза в день в течение 14 сут [7]. В 3-й группе ($n=5$) мексидол вводили однократно внутрибрюшинно в дозе 120 мг/кг [8]. Крысам 4-й группы ($n=24$) вводили дистиллированную воду 3 раза в день в течение 14 сут, а затем моделировали окклюзию общей сонной артерии и продолжали вводить дистиллированную воду в том же режиме до конца эксперимента (группа контроля окклюзии). Животные 5-й группы ($n=24$) на протяжении 14 сут до окклюзии общей сонной артерии и после окклюзии до конца эксперимента получали мексидол перорально в дозе 100 мг/кг 3 раза в день (группа мексидол). Обследование 4-й и 5-й групп включало 4 серии — через 4, 12 ч и на 5-е и 12-е сутки после моделирования патологии (по 6 животных на каждую временную точку).

Окклюзию общей сонной артерии моделировали под эфирным наркозом. Производили вскрытие кожи и мягких тканей шеи животных, выделяли правую общую сонную артерию и накладывали на нее лигатуру с последующим послойным ушиванием раны. В конце эксперимента животные подвергались эвтаназии декапитацией под эфирным наркозом. Для оценки экспрессии Nrf2 и биохимических исследований забирали образцы коры лобной доли головного мозга.

Экспрессию Nrf2 определяли иммуногистохимическим методом. Образцы коры фиксировали в 10% растворе забуференного нейтрального формалина, обезвоживали растворами этилового спирта возрастающей концентрации, просветляли ксилолом и заключали в парафин. Далее производили демаскировку антигенов тканей путем

нагревания в 10-мМ цитратном буфере (pH 6,0) на водяной бане. Эндogenous пероксидазу блокировали 3% раствором перекиси водорода. Затем срезы инкубировали с первичными антителами к Nrf2 (поликлональные антитела кролика к Nrf2, 100 мкг, Biorbyt orb11165) в разводке 1:50 по стандартной методике. Для иммунного окрашивания использовали полимерную систему детекции с пероксидазной меткой Novolink («Leica microsystems», Германия). Микропрепараты фотографировали с помощью цифровой камеры ЛОМО ТС-500 (ув. 400). Оценивали 10 репрезентативных участков (10 фотографий) в каждом гистологическом препарате. Изображения анализировали с помощью медицинской программы обработки цифровых изображений ImageJ. Определяли общее количество Nrf2-позитивных ядер в поле зрения и относительную площадь ядер в поле зрения. Дополнительно гистологические препараты окрашивали гематоксилином и эозином.

Выраженность окислительного стресса в гомогенате коры головного мозга крыс анализировали по концентрации конечных продуктов перекисидации, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-реактивных продуктов) [8], уровню небелковых сульфгидрильных (SH)-групп — субстратов свободнорадикального окисления [9], активности антиоксидантных ферментов — глутатионпероксидазы (G-per) [10] и глутатион-S-трансферазы (G-tr) [11]. Повышение концентрации ТБК-реактивных продуктов, снижение содержания сульфгидрильных групп и активности G-per и G-tr является свидетельством развития окислительного стресса.

Полученные результаты обрабатывали с помощью программ Statistica 7.0 («StatSoft», США) и SPSS Statistics ver. 20 (IBM, США). Для оценки статистической значимости различий между показателями использовали критерий Крускала—Уоллиса. Парные сравнения выполняли с помощью критерия Манна—Уитни. Для анализа корреляции между экспрессией Nrf2 и показателями свободнорадикального статуса ткани головного мозга животных использовали коэффициент корреляции Спирмена (r). Результаты представлены в виде медианы, нижнего и верхнего квартилей (Me [Q₁; Q₃]).

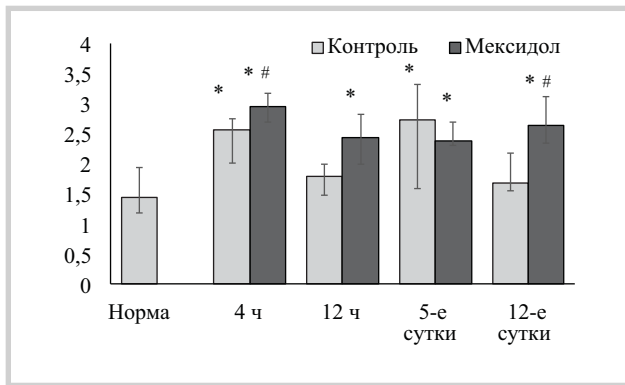
Результаты

В коре лобной доли головного мозга крыс Nrf2-позитивно окрашивались ядра клеток и гематоэнцефалический барьер. В исследовании не проводили дифференцировку клеток на нейроны и клетки глии, а подсчитывали общее число и относительную площадь иммунопозитивных ядер клеток в 4-м слое коры лобной доли головного мозга животных. Площадь Nrf2-позитивно окрашенного гематоэнцефалического барьера не анализировалась.

Однократное внутрибрюшинное введение мексидола и курсовое пероральное использование тестируемого препарата в течение 14 сут не влияло на количество и площадь Nrf2-позитивных ядер, а также на концентрацию ТБК-реактивных продуктов, уровень небелковых SH-групп, активность G-tr и G-per в гомогенате коры головного мозга крыс, данные показатели достоверно не отличались от значений нормы. Полученные результаты свидетельствуют о том, что введение мексидола интактным животным не влияет на экспрессию Nrf2 и окислительный статус клеток коры головного мозга.

Количество Nrf2-позитивных ядер клеток коры лобной доли больших полушарий головного мозга у контрольных крыс (4-я группа) при окклюзии общей сонной артерии достоверно не изменялось на протяжении всего эксперимента (в течение 12 сут наблюдения после моделирования) по сравнению с показателями интактных животных. При этом относительная площадь Nrf2-позитивных ядер клеток увеличивалась через 4 ч от момента окклюзии на 77,2% ($p=0,032$) и на 5-е сутки эксперимента на 88,3% ($p=0,032$) (см. рисунок).

Профилактическое введение мексидола в течение 14 сут до моделирования окклюзии общей сонной артерии с последующим введением на протяжении всего эксперимента в течение 12 сут также не приводило к статистически значимому увеличению количества Nrf2-позитивных ядер клеток. Относительная площадь Nrf2-позитивных ядер клеток при введении мексидола увеличивалась через 4 ч после окклюзии общей сонной артерии на 104,1% ($p=0,008$) и оставалась повышенной до конца эксперимента (до 12 сут после окклюзии) по сравнению с показателями нормы (см. рисунок).



Влияние мексидола на экспрессию Nrf2 в коре лобной доли головного мозга крыс при односторонней окклюзии общей сонной артерии.

По оси абсцисс — серии эксперимента; по оси ординат — относительная площадь Nrf2-позитивных ядер клеток (%). * — достоверные различия с показателями нормы (1-я группа) на уровне $p<0,05$; # — достоверные различия с показателями группы контроля (4-я группа) на уровне $p<0,05$.

При этом через 4 ч и на 12-е сутки относительная площадь Nrf2-позитивных ядер клеток коры лобной доли больших полушарий головного мозга крыс, получавших мексидол, превосходила показатели контрольных животных на 15,2% ($p=0,032$) и 57,1% ($p=0,056$) соответственно. Кроме того, на 12-е сутки количество Nrf2-позитивных ядер у животных, получающих мексидол, превосходило аналогичный показатель у контрольных крыс на 43,6% ($p=0,032$) (см. рисунок).

Концентрация ТБК-реактивных продуктов по сравнению с показателями нормы (1-я группа) увеличивалась в гомогенате коры через 4 ч от момента окклюзии на 30,4% ($p=0,052$), нормализовалась через 12 ч от момента пережатия артерии и вновь повышалась на 5-е и 12-е сутки на 50,8% ($p=0,004$) и 60,6% ($p=0,002$) соответственно. Концентрация небелковых SH-групп в гомогенате головного мозга животных снижалась по сравнению с показателями нормы через 4 ч и на 5-е сутки окклюзии на 28,1% ($p=0,017$) и 39,8% ($p=0,004$) соответственно. Активность G-рег снижалась через 4 ч после пережатия сонной артерии на 18,9% ($p=0,065$), через 12 ч — на 22,9% ($p=0,036$), активность G-tr повышалась на 35,8% ($p=0,009$) через 4 ч от момента окклюзии по отношению к уровню нормы (см. таблицу).

Применение мексидола до и после моделирования окклюзии общей сонной артерии с профилактической и лечебной целями оказывало нейропротективное действие, о чем свидетельствует снижение выраженности окислительного стресса в гомогенате головного мозга крыс.

На фоне мексидола происходила нормализация уровня ТБК-реактивных продуктов и небелковых SH-групп, на протяжении всего эксперимента эти показатели статистически значимо не отличались от значений нормы (1-я группа). Активность G-рег по сравнению с нормой снижалась через 12 ч и на 5-е сутки после пережатия общей сонной артерии на 26,8% ($p=0,004$) и 19,8% ($p=0,03$) соответственно, активность G-tr уменьшалась через 12 ч на 17,6% ($p=0,052$). Концентрация ТБК-реактивных продуктов у животных, получавших мексидол, была достоверно ниже значений крыс группы контроля окклюзии (4-я группа) на 5-е и 12-е сутки на 31,9% ($p=0,082$) и 24,3% ($p=0,002$) соответственно. Уровень небелковых SH-групп

Влияние мексидола на свободнорадикальный статус коры лобной доли головного мозга крыс при односторонней окклюзии общей сонной артерии

Показатель	1-я	Экспериментальная группа							
		4-я				5-я			
		4 ч	12 ч	5-е сутки	12-е сутки	4 ч	12 ч	5-е сутки	12-е сутки
ТБК-реактивные продукты, нмоль/мг белка	9,11 [7,77; 10,72]	11,88 [10,49; 13,13]*	9,32 [8,39; 11,72]	13,74 [13,39; 14,84]*	14,63 [13,15; 16,03]*	12,95 [9,29; 14,81]	10,27 [9,29; 10,46]	9,35 [8,05; 12,82]#	11,07 [10,73; 12,24]#
Небелковые SH-группы, мкмоль/мг белка	4,88 [4,26; 5,34]	3,51 [2,88; 4,14]*	4,14 [3,54; 4,78]	2,94 [2,48; 3,49]*	3,84 [2,68; 4,55]	6,36 [4,61; 9,95]#	5,52 [4,37; 6,34]	5,08 [4,88; 7,42]#	5,75 [5,32; 6,45]#
G-рег, нмоль НАДФН ₂ /мин·мг белка	20,48 [18,6; 22,76]	16,61 [13,91; 20,04]*	15,79 [15,11; 16,39]*	21,13 [19,49; 23,01]	19,84 [16,84; 21,36]	15,99 [11,55; 20,69]	14,99 [9,37; 15,55]*	16,43 [14,27; 18,81]*, #	16,39 [13,4; 19,86]
G-tr, нмоль ХДНБ/мин·мг белка	82,32 [70,55; 91,17]	111,82 [93,71; 132,84]*	76,54 [70,17; 88,15]	82,31 [70,59; 158,66]	69,22 [61,70; 83,13]	81,55 [57,56; 99,74]#	67,82 [52,66; 70,81]*	75,76 [68,38; 89,41]	65,28 [61,07; 84,23]

Примечание. * — достоверные различия с показателями нормы (1-я группа) на уровне $p<0,05$; # — достоверные различия с показателями группы контроля (4-я группа) на уровне $p<0,05$. ХДНБ — хлординитробензол; НАДФН₂ — никотинамид-аденин-динуклеотид фосфат восстановленный.

у животных 5-й группы (мексидол) превышал значения группы контроля окклюзии через 4 ч на 81,2% ($p=0,032$), на 5-е сутки на 72,8% ($p=0,004$) и на 12-е сутки на 49,7% ($p=0,004$). Активность G-рег у крыс, получавших мексидол, была ниже показателей 4-й группы на 5-е сутки окклюзии на 22,2% ($p=0,016$), активность G-tr — через 4 ч после пережатия артерии на 27,1% ($p=0,03$) (см. таблицу).

У контрольных животных наблюдалась прямо пропорциональная зависимость между количеством Nrf2-позитивных ядер клеток и активностью G-рег ($r=0,44$, $p=0,052$) и обратно пропорциональная зависимость между количеством Nrf2-позитивных ядер клеток и уровнем небелковых SH-групп ($r=-0,489$, $p=0,028$).

У животных, получавших мексидол, наблюдалась прямо пропорциональная зависимость между относительной площадью Nrf2-позитивных ядер клеток и концентрацией ТБК-реактивных продуктов ($r=0,538$, $p=0,014$).

Обсуждение

В условиях нормы Nrf2 находится в комплексе с белком-репрессором Keap1, который, с одной стороны, способствует убиквитированию (присоединению молекулы убиквитина в качестве метки) и протеосомальной деградации Nrf2, а с другой — предотвращает его проникновение из цитоплазмы в ядро [12].

Механизмы изменения экспрессии Nrf2 под действием ксенобиотиков в настоящее время активно изучаются. Принципиально в этом процессе выделяются следующие стадии [13]: 1) ксенобиотики подвергаются метаболизму с образованием супероксида и связанных с ним свободных радикалов; 2) образование свободных радикалов приводит к активации цитозольных факторов; 3) активированные цитозольные факторы катализируют модификацию Nrf, который связывается с антиоксидант-респонсивным элементом в промоторах разных генов антиоксидантных/детоксицирующих ферментов; 4) повышение транскрипции генов этих ферментов.

Кроме того, ряд ксенобиотиков способен напрямую связываться с белком-репрессором Keap1 и вызывать диссоциацию комплекса Keap1—Nrf2 с последующей транлокацией транскрипционного фактора в ядро и взаимодействием с последовательностями антиоксидант-респонсивного элемента промоторов генов-мишеней.

В настоящем исследовании установлено, что однократное и курсовое введение мексидола интактным крысам не влияет на количество и относительную площадь Nrf2-позитивных ядер клеток в коре лобной доли больших полушарий головного мозга животных. Полученные результаты свидетельствуют о том, что тестируемый препарат не влияет на экспрессию Nrf2 у интактных животных. Курсовое и однократное введение мексидола также не оказало существенного влияния на свободнорадикальный статус клеток коры лобной доли больших полушарий головного мозга крыс — концентрацию ТБК-реактивных продуктов (конечных продуктов перекисидации), уровень небелковых SH-групп (субстратов свободнорадикального окисления), активность антиоксидантных ферментов G-tr и G-рег, что согласуется с полученными результатами по экспрессии Nrf2.

Количество Nrf2-позитивных ядер клеток коры лобной доли больших полушарий головного мозга у контрольных крыс при окклюзии общей сонной артерии до-

стоверно не изменялось на протяжении всего эксперимента (в течение 12 сут после окклюзии) по сравнению с показателями интактных животных. При этом относительная площадь Nrf2-позитивных ядер клеток увеличивалась через 4 ч от момента окклюзии и на 5-е сутки эксперимента. Эти результаты свидетельствуют об увеличении экспрессии изучаемого транскрипционного фактора только в Nrf2-позитивных клетках лобной коры при окклюзии общей сонной артерии. Полученные результаты подтверждаются данными литературы [14]. Например, показано, что при окклюзии средней мозговой артерии у мышей экспрессия Nrf2 значительно повышается с максимумом через 8 ч после реперфузии.

Профилактическое введение мексидола в течение 14 сут до моделирования окклюзии общей сонной артерии с последующим введением на протяжении всего эксперимента также не приводило к статистически значимому увеличению количества Nrf2-позитивных ядер клеток в лобной коре. В то же время относительная площадь Nrf2-позитивных ядер клеток при введении мексидола увеличивалась через 4 ч после окклюзии общей сонной артерии и оставалась повышенной до конца эксперимента (до 12 сут после окклюзии) по сравнению с показателями интактных крыс. При этом у крыс, получавших мексидол, через 4 ч и на 12-е сутки относительная площадь, а на 12-е сутки также количество Nrf2-позитивных ядер клеток коры лобной доли больших полушарий головного мозга превосходили показатели контрольных животных, что свидетельствовало о способности мексидола повышать экспрессию Nrf2 в условиях гипоксии.

Предположительно, мексидол обладает несколькими механизмами действия. В условиях гипоксии происходят обратимое подавление электрон-транспортной функции митохондриального ферментного комплекса I и компенсаторная активация митохондриального ферментного комплекса II, субстратом которого является сукцинат [3], входящий в состав мексидола. Фумарат, образующийся в результате окисления сукцината, способен стимулировать экспрессию Nrf2 за счет инактивации Keap1 [15, 16].

Моделирование гипоксии приводило к развитию окислительного стресса в лобной коре головного мозга крыс, о чем свидетельствовали повышение уровня ТБК-реактивных продуктов (конечных продуктов перекисидации) и снижение активности G-рег (антиоксидантного фермента) по сравнению с показателями интактных животных, что в свою очередь могло запустить процесс повышения экспрессии Nrf2.

Таким образом, на основе анализа полученных результатов можно сделать следующие выводы.

1. Мексидол не является прямым стимулятором экспрессии транскрипционного фактора Nrf2, однако в условиях циркуляторной гипоксии он способствует активации его синтеза.

2. Однократное внутрибрюшинное введение крысам мексидола в расчете 120 мг на 1 кг массы и его курсовое пероральное введение в дозе 100 мг на 1 кг массы 3 раза в день в течение 14 сут не влияют на экспрессию транскрипционного фактора Nrf2 в клетках коры лобной доли головного мозга животных.

3. При односторонней окклюзии общей сонной артерии происходит повышение экспрессии Nrf2 в клетках коры лобной доли головного мозга крыс через 4 ч и на 5-е

сутки с момента пережатия артерии по сравнению с показателями нормы.

4. Пероральное введение мексидола по 100 мг на 1 кг массы 3 раза в день в течение 14 сут до и после моделирования односторонней окклюзии общей сонной артерии приводит к повышению экспрессии Nrf2 в клетках коры

лобной доли головного мозга крыс через 4 ч и до 12 сут после окклюзии по сравнению с показателями нормы, через 4 ч и на 12-е сутки — по сравнению со значениями контроля окклюзии.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Воронина Т.А. Мексидол: спектр фармакологических эффектов. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2012;112(12):86-90. Ссылка активна на 17.12.17. [Voronina TA. Mexidol: the spectrum of pharmacological effects. *Zhurnal Nevrologii i Psikiatrii im. S.S. Korsakova*. 2012;112(12):86-90. Accessed December 17, 2017. (In Russ.)]. <https://www.mediasphera.ru/issues/zhurnal-nevrologii-i-psikiatrii-im-s-s-korsakova/2012/12/031997-729820121215>
2. Воронина Т.А., Молодавкин Г.М., Бабаев И.И., Смирнов Л.Д., Яснецов В.В., Шашков В.С. Изучение антистрессорного и анальгетического эффектов Мексидола, диазепам, парацетамол и их комбинаций. *Экспериментальная клиническая фармакология*. 2006;69(4):6-9. Ссылка активна на 17.12.17. [Voronina TA, Molodavkin GM, Babaev II, Smirnov LD, Yasnetsov VV, Shashkov VS. Antistressor and analgesic effects of mexidol, diazepam, paracetamol, and their combinations. *Éksperimentalnaya i Klinicheskaya Farmakologiya*. 2006;69(4):6-9. Accessed December 17, 2017. (In Russ.)]. <http://ekf.folium.ru/index.php/ekf/article/view/1028>
3. Лукьянова Л.Д. Сигнальная роль митохондрий при адаптации к гипоксии. *Физиологический журнал*. 2013;59(6):141-154. Ссылка активна на 17.12.17. [Lukyanova LD. Mithochondria signaling in adaptation to hypoxia. *Physiological Magazine*. 2013;59(6):141-154. Accessed December 17, 2017. (In Russ.)]. http://www.irbis.nbu.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbu/cgiirbis_64.exe?I21DBN=LINK&P21DBN=UJRN&Z21ID=&S21REF=10&S21CNR=20&S21STN=1&S21FMT=ASP_meta&C21COM=S&S21P03=FILE=&S21STR=Fiziol_2013_59_6_20
4. Шулькин А.В. Влияние мексидола на развитие феномена эксайтотоксичности нейронов *in vitro*. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2012;112(2):35-39. Ссылка активна на 17.12.17. [Shchulkin AV. Effect of mexidol on the development of the phenomenon of the neuronal excitotoxicity *in vitro*. *Zhurnal Nevrologii i Psikiatrii im. S.S. Korsakova*. 2012;112(2):35-39. Accessed December 17, 2017. (In Russ.)]. <https://www.mediasphera.ru/issues/zhurnal-nevrologii-i-psikiatrii-im-s-s-korsakova/2012/2/031997-7298201226>
5. Zhang L, Wang H. Targeting the NF-E2-Related Factor 2 Pathway: a Novel Strategy for Traumatic Brain Injury. *Molecular Neurobiology*. 2018;55(2):1773-1785. <https://doi.org/10.1007/s12035-017-0456-z>
6. Hayes JD, Chanas SA, Henderson CJ, McMahon M, Sun C, Moffat GJ, Wolf CR, Yamamoto M. The Nrf2 transcription factor contributes both to the basal expression of glutathione S-transferases in mouse liver and to their induction by the chemopreventive synthetic antioxidants, butylated hydroxyanisole and ethoxyquin. *Biochemical Society Transactions*. 2000;28(2):33-41. <https://doi.org/10.1042/bst0280033>
7. Яснецов В.В., Воронина Т.А. Действие семакса и Мексидола на моделях ишемии мозга у крыс. *Экспериментальная клиническая фармакология*. 2009;72(1):68-70. Ссылка активна на 17.12.17. [Yasnetsov VV, Voronina TA. Effect of semax and mexidol on brain ischemia models in rats. *Éksperimentalnaya i Klinicheskaya Farmakologiya*. 2009;72(1):68-70. Accessed December 17, 2017. (In Russ.)]. <http://ekf.folium.ru/index.php/ekf/article/view/676>
8. Гаврилов В.Б., Гаврилова А.Р., Мажуль Л.М. Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуровой кислотой. *Вопросы медицинской химии*. 1987;33(1):118-122. Ссылка активна на 17.12.17. [Gavrilov VB, Gavrilova AR, Mazhul' LM. Methods of determining lipid peroxidation products in the serum using a thiobarbituric acid test. *Voprosy meditsinskoj khimii*. 1987;33(1):118-122. Accessed December 17, 2017. (In Russ.)]. <http://pbmc.ibmc.msk.ru/index.php/ru/article/PBMC-1987-33-1-118-ru>
9. Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Archives of biochemistry and biophysics*. 1959;82(1):70-77. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(59\)90090-6](https://doi.org/10.1016/0003-9861(59)90090-6)
10. Ланкин В.З., Гуревич С.М. Ингибирование перекисления липидов и детоксикация липоперекисей защитными ферментативными системами (супероксиддисмутаза, глутатион-пероксидаза, глутатион-редуктаза) при экспериментальном злокачественном росте. Доклады академии наук СССР. 1976;226(3):705-708. [Lankin VZ, Gurevich SM. *Ingibirovanie pereokisleniya lipidov i detoksikatsiya lipoperekisei zashchitnymi fermentativnymi sistemami (superoksiddismutaza, glutation-peroksidaza, glutation-reduktaza) pri eksperimental'nom zlokachestvennom roste*. Doklady akademii nauk SSSR. 1976;226(3):705-708. (In Russ.)].
11. Keen JH, Jakoby WB. Glutathione transferases. Catalysis of nucleophilic reactions of glutathione. *Journal of Biological Chemistry*. 1978;253(16):5654-5857.
12. Kang KA, Hyun JW. Oxidative Stress, Nrf2, and Epigenetic Modification Contribute to Anticancer Drug Resistance. *Toxicological Research*. 2017;33(1):1-5. <https://doi.org/10.5487/tr.2017.33.1.001>
13. Dhakshinamoorthy S, Long DJ, Jaiswal AK. Antioxidant regulation of genes encoding enzymes that detoxify xenobiotics and carcinogens. *Current Topics in Cellular Regulation*. 2001;36:201-216. [https://doi.org/10.1016/s0070-2137\(01\)80009-1](https://doi.org/10.1016/s0070-2137(01)80009-1)
14. Tanaka N, Ikeda Y, Ohta Y, Deguchi K, Tian F, Shang J, Matsuura T, Abe K. Expression of Keap1-Nrf2 system and antioxidative proteins in mouse brain after transient middle cerebral artery occlusion. *Brain Research*. 2011;1370:246-253. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.11.010>
15. Scannevin RH, Chollate S, Jung MY, Shackett M, Patel H, Bista P, Zeng W, Ryan S, Yamamoto M, Lukashev M, Rhodes KJ. Fumarates promote cytoprotection of central nervous system cells against oxidative stress via the nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2 pathway. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2012;341(1):274-284. <https://doi.org/10.1124/jpet.111.190132>
16. Linker RA, Lee DH, Ryan S, van Dam AM, Conrad R, Bista P, Zeng W, Hronowsky X, Buko A, Chollate S, Ellrichmann G, Brück W, Dawson K, Goelz S, Wiese S, Scannevin RH, Lukashev M, Gold R. Fumaric acid esters exert neuroprotective effects in neuroinflammation via activation of the Nrf2 antioxidant pathway. *Brain*. 2011;134(3):678-692. <https://doi.org/10.1093/brain/awq386>