

Юревич В.Р.¹, Михейцева И.Н.²

¹ Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого, Львов, Украина

² Институт глазных болезней и тканевой терапии имени В.П. Филатова Национальной академии медицинских наук Украины, Одесса, Украина

Yurevich V.¹, Mikheytsava I.²

¹ D. Galitsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine

² Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Odessa, Ukraine

Антиоксидантный эффект бенфотиамина в тканях сетчатки и зрительного нерва кроликов с экспериментальной глаукомой (офтальмогипертензией) на фоне стрептозотоцинового диабета

Antioxidant Effect of Benphothiyamine in the Retina and Optic Nerve Tissues of Rabbits with Experimental Glaucoma (Ophthalmohypertension) on the Background of Streptosotocin Diabetes

Резюме

Изучили влияние жирорастворимой формы витамина В1 бенфотиамина (БФТ) на маркеры оксидативного повреждения биомолекул (МДА и СО-группы) и активность антиоксидантных ферментов (СОД, каталаза, глутатионпероксидаза) сетчатки и зрительного нерва при экспериментальной глаукоме на фоне стрептозотоцинового диабета у кроликов. Глаукому воспроизводили введением метилцеллюлозы в переднюю камеру глаза. БФТ вводили per os 50 мг в сутки (дважды в день по 25 мг) на протяжении 2 месяцев. Получен выраженный метаболический эффект БФТ при моделировании глаукомы на фоне диабета у кроликов. В нервных тканях глаз животных этой группы уровень маркеров свободнорадикального окисления МДА и карбонильных групп белков снижался, а активность антиоксидантных ферментов первой линии защиты повышалась под влиянием курсового введения липофильной формы витамина В1. Это свидетельствует о протекторном действии этого препарата на сетчатку и зрительный нерв при окислительном стрессе, что может явиться обоснованием применения жирорастворимой формы витамина В1 в качестве нейропротекторного средства при лечении пациентов с первичной глаукомой, особенно сопровождающейся сахарным диабетом.

Ключевые слова: антиоксидантный эффект, бенфотиамин, экспериментальная глаукома, зрительный нерв, стрептозотоциновый диабет, ткань сетчатки.



Abstract

We studied the effect of the fat-soluble form of vitamin B1 benfotiamine (BFT) on markers of oxidative damage to biomolecules (MDA and CO groups) and the activity of antioxidant enzymes (SOD, catalase, glutathione peroxidase) of the retina and optic nerve in experimental glaucoma against the background of diabetic streptozotocin in rabbits. Glaucoma was reproduced by introducing methylcellulose into the anterior chamber of the eye. BFT was administered per os 50 mg per day (twice a day at 25 mg) for 2 months. A pronounced metabolic effect of BFT was obtained in modeling glaucoma and diabetes in rabbits. The level of free radical oxidation markers (MDA and carbonyl groups of proteins) was decreased, whereas the activity of antioxidant enzymes of the first line of defense was increased under the influence of course administration of the lipophilic form of vitamin B1 in the nerve tissues of the rabbit's eyes with diabetes and glaucoma. This indicates the protective effect of BFT on the retina and optic nerve during oxidative stress, which may justify the use of the fat-soluble form of vitamin B1 as a neuroprotective agent in the treatment of patients with primary glaucoma, especially those accompanied by diabetes mellitus.

Keywords: antioxidant effect, benphothiamine, experimental glaucoma, optic nerve tissues, streptosotocin diabetes, retina.

■ ВВЕДЕНИЕ

Первичная глаукома уже долгое время остается бичом современной офтальмологии, точные механизмы ее возникновения, развития и эффективного лечения полностью не установлены. Окислительный стресс – один из основных выявленных патогенетических механизмов глаукомной нейродегенерации [1]. При этом глаукома, которая развивается на фоне сахарного диабета, имеет дополнительные факторы, усугубляющие ее протекание. Оксидативный стресс при диабетических осложнениях также является существенным механизмом клеточного повреждения, включая повреждение ткани глаза [2, 3].

В наших предыдущих исследованиях было показано, что моделирование глаукомы (офтальмогипертензии) на фоне стрептозотоцинового диабета у кроликов вызывало у них формирование оксидативного стресса, накопление продуктов ПОЛ, снижение антиоксидантного статуса в тканях глаза, в том числе нервных тканях – сетчатке и зрительном нерве [4, 5]. Было установлено, что нервные клетки зрительного анализатора при экспериментальной глаукоме в условиях стрептозотоцинового диабета оказались наиболее незащищенными от окислительного стресса, который был инициирован как за счет нарушения метаболических процессов вследствие диабета, так и за счет гипоксического состояния при глазной гипертензии.

В этой связи поиск эффективных патогенетически обоснованных средств снижения выраженности оксидативного стресса при глаукомном процессе, сопровождающемся сахарным диабетом, остается актуальной проблемой. Использование с этой целью различных витаминов довольно распространено. Однако до настоящего времени нет достоверных сведений об эффективности такого лечения при названном сочетании заболеваний. Для воздействия на нейрональные ткани глаза при глаукоме, сопровождающейся сахарным диабетом, может

быть полезным применение витамина В₁. Клинически дефицит тиамин приводит к различным нарушениям, которые включают в себя неврологические нарушения и нарушения кровообращения. Среди таких состояний отмечен и сахарный диабет. При сахарном диабете и его сосудистых осложнениях препараты витамина В₁ применяются очень широко [6, 7].

Хотя в отношении глаукомы нет однозначных сведений о роли нутриентов, и в частности витаминов, в развитии этого глазного заболевания, сообщается, что люди с высоким потреблением витамина В₁ могут иметь меньшую вероятность заболеть глаукомой [8]. Так, еще в 1979 г. Asregadoo E.R. [9] определил, что уровень тиамин в крови пациентов с ПОУГ достоверно ниже, чем у группы контроля. Эта давняя находка подтверждается более поздними исследованиями о защитном эффекте витамина В₁. Было показано, что защитное действие витамина В₁ при глаукоме не зависит от ВГД. Дефицит тиамин ассоциирован с уменьшением толщины слоя и дегенерацией ганглиозных клеток сетчатки у экспериментальных животных [10, 11]. Одновременно с этими исследованиями существуют данные с применением метаанализа о том, что как для витамина В₁, так и для витаминов С и Е не было найдено существенной ассоциации с ПОУГ [12]. Поэтому установить истину в этом вопросе еще предстоит.

Липофильной формой тиамин является бенфотиамин (БФТ). Из-за его повышенной биодоступности клиническое использование БФТ для лечения явного дефицита тиамин или субклинического тиаминного дефицита, вероятно, будет более эффективным по сравнению с водорастворимым тиамин. Следовательно, необходимо понимать различные физиологические пути и молекулярные мишени, которые модулируются БФТ.

Среди различных метаболических путей, посредством которых действует БФТ, отметим его антиапоптотическое влияние. Этот эффект БФТ опосредован улучшением антиоксидантной защиты, которая еще больше снижает геномное повреждение у пациентов. Показано, что при высокой концентрации (300 мкМ) бенфотиамин оказывает прямой антиоксидантный эффект независимо от его превращения в тиамин и повышенной активности транскетолазы [13]. Бенфотиамин дозозависимо влиял на вызванное нитритом натрия окисление гемоглобина и поддерживал целостность эритроцитов как *in vitro*, так и *in vivo* [14]. Протекторный механизм, который работает на клеточном уровне, по мнению авторов, связан со снижением окислительного стресса.

С учетом значительной вовлеченности оксидативного стресса как механизма повреждения биологических структур при диабете и глаукоме наши усилия были направлены на поиски фармагентов, эффективно и безопасно снижающих его влияние на нейрональные ткани глаза при этих сочетанных заболеваниях. Исходя из названных выше аргументов, бенфотиамин был изучен нами как средство защиты нейрональных тканей глаза при воспроизводстве моделей глаукомы и диабета у животных.



■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить влияние жирорастворимой формы витамина В₁ бенфотиамина на маркеры оксидативного повреждения биомолекул и активность антиоксидантных ферментов сетчатки и зрительного нерва при экспериментальной глаукоме на фоне стрептозотоцинового диабета.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальные исследования проводились на 32 кроликах массой 3 кг согласно требованиям «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей» (Страсбург, 1986), «Правил выполнения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденных приказом МЗ Украины и законом Украины «О защите животных от жестокого обращения» (№ 1759-VI от 15.12.2009).

Подопытные животные были разделены на 3 группы: первая – группа с моделью глаукомы и диабета (10 кроликов), вторая – группа с моделью глаукомы и диабета, получавшая бенфотиамин (12 кроликов), третья – группа интактных животных, служившая контролем (n=10). Диабет вызывали путем внутривенной инъекции стрептозотоцина в дозе 65 мг на 1 кг массы тела [15]. Через неделю после моделирования диабета у экспериментальных животных вызывали глаукому (офтальмогипертензию). Для ее индукции у животных вызывали повышение внутриглазного давления путем введения в переднюю камеру глаз 0,25 мл 2% раствора метилцеллюлозы [16]. При воспроизведении офтальмогипертензии животным применяли общую анестезию введением кетамина 50 мг/кг, местно в конъюнктивальный мешок за 1 минуту до инъекции применяли глазные капли – 0,5% раствор проксиметакаина гидрохлорида.

Все животные перед экспериментом и в ходе эксперимента подвергались измерению внутриглазного давления под местной анестезией с использованием пневмотонометра TOPCON CT-80, а также определению уровня глюкозы в крови с использованием прибора IME-DC (Германия). Животным 2-й группы после моделирования патологий вводили бенфотиамин per os 50 мг в сутки (дважды в день по 25 мг) на протяжении 2 месяцев.

В конце эксперимента (через 2 месяца) все кролики были забиты с помощью летальной дозы пентобарбитала натрия (100 мг на кг), вводимого в маргинальную ушную вену. В тканях изолированной сетчатки и зрительного нерва определяли активность антиоксидантных ферментов каталазы, супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы. В качестве маркеров оксидативного повреждения в нейрональных тканях глаза изучали уровень малонового диальдегида и карбонильных групп белков.

Ткани сетчатки и зрительного нерва объединяли для приготовления гомогената нейрональной ткани. Гомогенат тканей готовили в соотношении 1:10 (вес ткани : объем среды для гомогенизации).

Определение карбонильных групп проводили спектрофотометрическим методом по измерению хромогенного продукта взаимодействия этих групп белков с 2,4-динитрофенилгидразином [17, 18]. Малоновый диальдегид определяли методом, основанным на образовании окрашенного триметинового комплекса с максимумом поглощения

при длине волны 532 нм при взаимодействии метаболита с 2-тиобарбитуровой кислотой [19].

Принцип метода оценки активности супероксиддисмутазы состоит в определении степени торможения определяемой СОД при реакции восстановления нитросинего тетразолия супероксидными радикалами. Для определения активности СОД 0,02 мл тканевого экстракта вводили в 3 мл инкубационной среды, содержащей 0,41 мМ нитросинего тетразолия, 0,33 мМ ЭДТА, 0,01 мМ N-метилфеназония метилсульфата. Измеряли оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 540 нм, затем добавляли в кювету спектрофотометра 0,1 мл 0,8 мМ НАДН, перемешивали и оставляли в темноте на 10 мин., после чего повторно измеряли оптическую плотность. О реакции судили по разнице между первым и вторым показаниями спектрофотометра. За единицу активности принимали 50% торможения реакции восстановления нитросинего тетразолия. Активность фермента выражали в условных единицах на грамм ткани [20].

Принцип метода определения каталазы основан на способности перекиси водорода образовывать с солями молибдена стойкий окрашенный комплекс. Реакцию запускали добавлением 0,1 мл гомогената ткани, приготовленного на 0,05М трис-НСl-буфере (рН 7,8) к 2 мл 0,03% раствора перекиси водорода. В холостую пробу вместо материала вносили 0,1 мл дистиллированной воды. Реакцию останавливали через 10 мин. добавлением 1 мл 4% молибдата аммония. Интенсивность развившейся окраски измеряли на спектрофотометре при длине волны 410 нм. Активность каталазы выражали в мккат/г ткани [19].

Активность глутатионпероксидазы определяли спектрофотометрически по скорости образования окисленного глутатиона с помощью сопряженной реакции с НАДФН-зависимым ферментом глутатионредуктазой, регистрируя изменение оптической плотности при окислении НАДФН. Для определения в пробирку вносили 0,1 мл раствора, содержащего в 0,1 моль К-фосфатного буфера (рН 7,5) 2 ммоль ЭДТА, 10 ммоль восстановленного глутатиона и 0,1 мл биологического материала для исследования. Через 3 мин. инкубации при 25 °С вносили 0,01 мл 40 ммоль раствора гидроперекиси трет-бутила. Спустя 5 мин. в реакционную смесь добавляли 3,84 мл 0,5 моль трис-НСl буфера (рН 7,7) с 1 моль ЭДТА. 2 мл полученного раствора сразу после этого вносили в кювету и добавляли 0,05 мл 3,5 ммоль раствора НАДФН и 0,02 мл глутатионредуктазы (0,06 ед.). Быстро перемешивали и определяли изменение оптической плотности при длине волны излучения 340 нм в течение 1 мин. на спектрофотометре. Активность фермента выражали в нкат/мг белка [20]. Полученные данные подвергались математической обработке с помощью пакета SPSS 11.0.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные в эксперименте данные говорят о выраженном метаболическом действии БФТ, примененном при моделировании глаукомы на фоне диабета у кроликов. В табл. 1 и 2 приведены данные об уровне малонового диальдегида и карбонильных групп, а также активности антиоксидантных ферментов в тканях сетчатки и зрительного нерва животных трех экспериментальных групп.

Как видно из данных табл. 1, уровень маркеров оксидативного повреждения в клетках нервных тканей глаза кроликов с глаукомой (офтальмогипертензией) и диабетом значительно превышал контрольные значения у здоровых животных. Показатель перекисного окисления липидов МДА был повышен в этой группе на 135%. Карбоксильные группы (СО-группы) – показатель, отражающий уровень оксидативного повреждения белков, был повышен у кроликов с глаукомой и диабетом относительно контроля на 82,1%. Введение бенфотиамина снизило эти показатели в сетчатке и зрительном нерве кроликов с моделированными патологиями. Содержание МДА в леченой группе снизилось практически вдвое (на 49,8%) относительно нелеченых животных, оставаясь выше контрольных показателей на 18%. Уровень СО-групп в нейрональных тканях глаза под воздействием БФТ снизился на 36,6%, но был выше контроля на 15,4%.

В табл. 2 представлены данные активности антиоксидантных ферментов в сетчатке и зрительном нерве трех изучаемых групп. Данные свидетельствуют о значительном влиянии БФТ на ферментативную АО систему и ее активацию. При этом подтверждено, что у кроликов с глаукомой на фоне диабета активность АО ферментативной системы значительно снижена. Активность фермента супероксиддисмутазы была ниже контроля на 47,9%. БФТ повысил активность этого фермента на 73,9% по сравнению с нелеченой группой. Сравнивая показатели группы с БФТ и контролем, отмечаем разницу в 16,7%.

Второй важнейший фермент антиоксидантной системы – каталаза – также отреагировал на воздействие БФТ активацией. В группе глаукомы и диабета активность каталазы была снижена на 41% относительно контроля. В группе, леченой БФТ, эта активность по сравнению с нелеченой группой повышалась на 39,5%. При этом она оставалась ниже показателей в контрольной группе на 17,4%.

Активность глутатионпероксидазы – третьего антиоксидантного фермента – снижалась в нейрональной ткани животных с глаукомой и диабетом на 44,1% относительно контроля. БФТ активировал и этот фермент, в леченой группе его показатели повышались на 47% по сравнению с нелеченой, оставаясь ниже контрольных на 17,9%.

Таблица 1
Влияние бенфотиамина на уровень маркеров свободнорадикального окисления в сетчатке и зрительном нерве кроликов при экспериментальной глаукоме со стрептозотоциновым диабетом (n=10–12)

Table 1
Effect of benfotiamine on the level of markers of free radical oxidation in the retina and optic nerve of rabbits in experimental glaucoma with streptozotocin diabetes (n=10–12)

Группа	Статист. показатель	МДА, нмоль/г ткани	СО-группы, нмоль/г ткани
Диабет + глаукома Гр. 1	$M \pm m$ P_1	$2150,0 \pm 130,0$ <0,001	$22,4 \pm 1,40$ <0,001
Диабет + глаукома + бенфотиамин Гр. 2	$M \pm m$ P_1 P_2	$1080,0 \pm 62,4$ >0,05 <0,001	$14,2 \pm 0,78$ >0,05 <0,001
Контроль	$M \pm m$	$915,0 \pm 51,5$	$12,3 \pm 0,85$

Примечания: P_1 – сравнение с контролем; P_2 – сравнение с гр. 1.

Таблица 2

Влияние бенфотиамин на активность антиоксидантных ферментов в сетчатке и зрительном нерве кроликов при экспериментальной глаукоме со стрептозотоциновым диабетом (n=10–12)

Table 2
Effect of benfotiamine on the activity of antioxidant enzymes in the retina and optic nerve of rabbits in experimental glaucoma with streptozotocin diabetes (n=10–12)

Группа	Статист. показатель	СОД, усл. ед./г	Каталаза, мккат/г	Глутатионпероксидаза, мккат/г
Диабет + глаукома	M±m P ₁	16,91±1,10 <0,001	26,60±1,95 <0,001	282,35±15,40 <0,001
Диабет + глаукома + бенфотиамин	M±m P ₁ P ₂	29,40±1,75 <0,05 <0,001	37,10±1,80 <0,05 <0,001	415,20±23,51 <0,05 <0,001
Контроль	M±m	35,30±1,87	45,10±2,40	505,40±30,22

Примечания: P₁ – сравнение с контролем; P₂ – сравнение с гр. 1.

Принято считать, что ранними биохимическими маркерами патологии, ассоциированной со свободнорадикальными процессами, являются продукты перекисного окисления липидов, в частности МДА, а также карбоксильные СО-группы при окислительной модификации белков. В частности, уровень окислительной модификации белков, который мы определяли по содержанию в тканях СО-групп, считают одним из ранних признаков свободнорадикального поражения в тканях [21].

Наши данные об антиоксидантном влиянии БФТ и его активирующем действии на ферменты антиоксидантной защиты согласуются с работами, в которых также было показано это свойство [22]. При этом особого внимания заслуживают зависимые изменения активности таких ключевых антиоксидантных ферментов, как супероксиддисмутаза (СОД), глутатионпероксидаза (ГПО), глутатионредуктаза (ГР) и каталаза (КАТ). Именно эти ферменты представляют собой первую линию антиоксидантной защиты в организме [23]. Они очень быстро нейтрализуют любую молекулу, которая может превратиться в свободный радикал, или любой свободный радикал, способный вызывать образование других радикалов. Супероксидный радикал, который образуется в клетках в результате собственного метаболизма, превращается в пероксид водорода (H₂O₂) и кислород (O₂) супероксиддисмутазой. Для предотвращения накопления в тканях и клетках токсичной перекиси водорода и преобразования ее в еще более токсичный гидроксидный радикал каталаза восстанавливает ее. Третий фермент глутатионпероксидаза восстанавливает липидные перекиси (а также H₂O₂ в митохондриях, где отсутствует каталаза) [24]. Эти ферменты напрямую связаны друг с другом только через положительно действующие пути, и работают они в коллективном взаимном усилии.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В эксперименте получены данные о снижении уровня маркеров свободнорадикального окисления малонового диальдегида и карбонильных групп белков, а также о повышении активности антиоксидантных ферментов первой линии защиты (супероксиддисмутаза, каталаза,

глутатионпероксидазы) под влиянием курсового введения липофильной формы витамина В₁ бенфотиамин в нервных тканях глаз кроликов с диабетом и глаукомой. Это свидетельствует о протекторном действии данного препарата на сетчатку и зрительный нерв при окислительном стрессе, что может явиться обоснованием применения жирорастворимой формы витамина В₁ в качестве нейропротекторного средства при лечении пациентов с первичной глаукомой, особенно сопровождающейся сахарным диабетом.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Gülgün Tezel (2006) Oxidative stress in glaucomatous neurodegeneration: mechanisms and consequences. *Prog Retin Eye Res.*, vol. 25 (5), pp. 490–513.
2. Kurtul N., Bakan E., Aksoy H., Baykal O. (2005) Leukocyte lipid peroxidation, superoxide dismutase and catalase activities of type 2 diabetic patients with retinopathy. *Acta Medica*, vol. 48, pp. 35–38.
3. Calderon G., Juarez O., Hernandez G. (2017) Oxidative stress and diabetic retinopathy: development and treatment. *Eye*, vol. 31, pp. 1122–1130.
4. Yurevich V. (2015) Effect of hypertension on peroxidation processes in the retina and optic nerve in experimental diabetes. *Oftalmol Zh.*, no 3, pp. 82–87. doi.org/10.31288/oftalmolzh201538287
5. Yurevich V. (2018) The state of the antioxidant system in the neuronal tissues of the eye when modeling ophthalmic hypertension in animals with streptozotocin diabetes. *Arkhi' v oftal' mologi' yi Ukraini*, vol. 6, no 2, pp. 51–57. (in Russian)
6. Thornalley P. (2005) The potential role of thiamine (vitamin B1) in diabetic complications. *Curr Diabetes Rev.*, vol. 1, no 3, pp. 287–98.
7. Levin O., Chimagomedova A., Gan'kina O. (2017) Preparations of B vitamins in the treatment of diabetic polyneuropathy. *Sovremennaya terapiya v psikiatrii i nevrologii*, no 3, pp. 21–26. (in Russian)
8. Ramdas W., Wolfs R., Hofman A. (2011) Lifestyle and risk of developing open-angle glaucoma: the Rotterdam Study. *Arch Ophthalmol.*, vol. 129 (6), pp. 767–72. doi: 10.1001/archophthalmol.2010.373.
9. Asregadoo E.R. (1979) Blood levels of thiamine and ascorbic acid in chronic open-angle glaucoma. *Ann. Ophthalmol.*, vol. 11 (7), pp. 1095–1100.
10. Head K. (2001) Natural therapies for ocular disorders, part two: cataracts and glaucoma. *Altern Med Rev.*, vol. 6 (2), pp. 141–66.
11. Suzuki S., Kumanomido T., Nagata E., Inoue J., Niikawa O. (1997) Optic neuropathy from thiamine deficiency. *Intern Med.*, vol. 36, no 7, pp. 532.
12. Ramdas W., Schouten J., Webers C. (2018) The Effect of vitamins on glaucoma: a systematic review and meta-analysis. *Nutrients*, vol. 10 (3), p. E359. doi: 10.3390/nu10030359.
13. Schmid U., Stopper H., Heidland A., Schupp N. (2008) Benfotiamine exhibits direct antioxidative capacity and prevents induction of DNA damage in vitro. *Diabetes Metab. Res. Rev.*, vol. 24, pp. 371–377.
14. Bushra Hasan Marouf, Tavga Ahmed Aziz, Munaf Hashim Zalzal, Saad Abdulrahman Hussain (2010) Free Radical Scavenging Activity of Benfotiamine in Nitrite-induced Hemoglobin Oxidation and Membrane Fragility Models. *J. Pharm. Biomed. Sci.*, vol. 1, no 1, pp. 13–18.
15. Wang J., Wan R., Mo Y. (2010) Creating a long-term diabetic rabbit model. *Exp. Diabetes res.*, vol. 6, pp. 1–10.
16. Zhu M., Cai F. (1992) Development of experimental chronic intraocular hypertension in the rabbit. *Australian and New Zealand J Ophthalmol.*, vol. 20, pp. 225–234.
17. Fields R., Dixon H. (1971) Micro Method for Determination of Reactive Carbonyl Groups in Proteins and Peptides, using 2,4-Dinitrophenylhydrazine. *Biochem. J.*, vol. 121, pp. 587–589.
18. Davanand C., Vegi P. (2012) Protein carbonyl content as a stable oxidative stress marker in type II diabetes. *Int. J. Biol. Med. Res.*, vol. 3, pp. 2362–2365.
19. Bergmeyer H.U. (1986) *Methoden der enzymatischen Analyse*. Herausgegeben von H.U. Bergmeyer, Berlin, 2220 p.
20. (1991) *New methods of biochemical analysis*. Izd. Leningradskogo univer., 395 p. (in Russian)
21. Davy' dov V., Bozhkov A. (2014) Carbonyl stress as a nonspecific factor in pathogenesis. *Zhurnal NAMN Ukrainy'*, vol. 20, no 1, pp. 25–34. (in Russian)
22. Harisa G. (2013) Benfotiamine enhances antioxidant defenses and protects against cisplatin-induced DNA damage in nephrotoxic rats. *J Biochem Mol Toxicol.*, vol. 27, no 8, pp. 398–405. doi: 10.1002/jbt.21501.
23. Ighodaro O., Akinloye O. (2018) First line defence antioxidant superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*, vol. 54, no 4, pp. 287–293, doi: 10.1016/j.ajme.2017.09.001.
24. Giustarini D., Dalle-Donne I., Tsikas D., Rossi R. (2009) Oxidative stress and human diseases: origin, link, measurement, mechanisms, and biomarkers. *Crit Rev Clin Lab Sci.*, vol. 46, pp. 241–281.

Подана/Submitted: 02.07.2021

Принята/Accepted: 30.11.2021

Контакты/Contacts: filatovbiochem@ukr.net