



УДК 615.35:537.875.1547.792].011.077

С. В. Горбачова, І. Ф. Бєленічев

МОЛЕКУЛЯРНО-БІОХІМІЧНІ АСПЕКТИ ЕНЕРГОТРОПНОГО МЕХАНІЗМУ МОДУЛЯТОРІВ ТІОЛ-ДИСУЛЬФІДНОЇ СИСТЕМИ В УМОВАХ ГОСТРОГО ПОРУШЕННЯ МОЗКОВОГО КРОВООБІГУ

Запорізький державний медичний університет, Запоріжжя, Україна

УДК 615.35:537.875.1547.792].011.077

С. В. Горбачева, И. Ф. Беленичев

МОЛЕКУЛЯРНО-БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЭНЕРГОТРОПНОГО МЕХАНИЗМА МОДУЛЯТОРОВ ТИОЛ-ДИСУЛЬФИДНОЙ СИСТЕМЫ В УСЛОВИЯХ ОСТРОГО НАРУШЕНИЯ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ

Запорожский государственный медицинский университет, Запорожье, Украина

Уровень восстановленного глутатиона играет важную роль в механизмах поддержания нормального функционирования и жизнеспособности митохондрий. Исходя из этого, перспективным направлением фармакокоррекции в условиях ишемии является поддержка тиолового редокс-статуса клетки для предотвращения метаболических нарушений, обусловленных митохондриальной дисфункцией. Учитывая способность модуляторов тиол-дисульфидной системы нормализовать уровень восстановленного глутатиона и повышать экспрессию белка теплового шока HSP70, актуальным является изучение их метаболитотропной активности. Проведенные исследования указывают на наличие у модуляторов тиол-дисульфидной системы выраженной энерготропной активности в условиях острой ишемии головного мозга, которая обусловлена, опосредованно через повышение уровня восстановленного глутатиона, усилением экспрессии HSP70, участвующего в механизмах активации и регуляции компенсаторных митохондриально-цитозольных шунтов энергии.

Ключевые слова: метаболитотропная активность, острое нарушение мозгового кровообращения, белки теплового шока, глутатион.

UDC 615.35:537.875.1547.792].011.077

S. V. Gorbachova, I. F. Belenichev

MOLECULAR AND BIOCHEMICAL ASPECTS OF ENERGETROPIC MECHANISM OF THIOL-DISULFIDE SYSTEM UNDER CONDITIONS OF ACUTE CEREBRAL CIRCULATION IMPAIRMENT

The Zaporizhzhia State Medical University, Zaporizhzhia, Ukraine

Under conditions of cerebral circulation impairment an imbalance of energetic metabolism could have negative influence on neurons and could lead to their death. In the case of energetic deficiency it is observed a significant carbohydrate metabolism disorder when aerobic pathways of oxidation are inhibited, anaerobic glycolysis is enhanced and lactate is accumulated. These processes evoke an impairment of cellular redox homeostasis, shift of thiol-disulfide balance and deprivation of heat shock proteins (HSP) expression. A promising concept of pharmacological correction under conditions of ischemia is a maintenance of thiol redox status of a cell in order to prevent any metabolic impairments which are stipulated by mitochondrial dysfunction.

Modelling of experimental acute cerebral circulation impairment by means of bilateral occlusion of common carotid arteries caused typical disorders of energetic carbohydrate metabolism inside neurons. This was exhibited in a compensatory activation of anaerobic glycolysis and inhibition of reactions of tricarboxylic acids cycle. That is proved by the inhibition of malate dehydrogenase activity by 21.6%, decrease of malate and pyruvate level by 61.5% and 2.5 times correspondingly with regard to analogous indexes of falseoperated animals. The obtained data are the evidence of inhibition of tricarboxylic acids cycle reactions on a site "citrate — succinate". The numerated pathobiochemical shifts of energetic metabolism appeared against a background of impairments of thiol-disulfide balance, in other words the decrease of reduced glutathione form, accumulation of oxidized glutathione form and inhibition of protein HSP70 expression.



During the performed investigations it was established that the introduction of thiol-disulfide system modulators caused activation of aerobic pathways of oxidation as well as anaerobic ones. It was proved by the fact of significant reduction of lactate level that was accompanied by the increase of contents of tricarboxylic acids cycle components such as malate and pyruvate.

Realization of metabolite-tropic action of preparations is connected with their positive influence on glutathione link of thiol-disulfide system. We assume that the revealed mechanism is not only connected with antioxidant properties of used preparations. Confinement of oxidative and nitrosative stress reactions prevents nitrosylation of thiol redox-dependent sites of genes and prevents deprivation of HSP70 expression that is proved by the obtained results of the given investigation. The increase of HSP70 level promoted a maintenance of malate dehydrogenase activity and percolation of malate aspartate pathway of reduced equivalents transport into mitochondria. Thus, modulators of thiol-disulfide system produce a pronounced metabolite-tropic effect which is specified by their action in mechanisms of endogenous neuroprotection, namely the direct increase of the reduced glutathione form and mediated activation of HSP70 protein expression.

Key words: metabolite-tropic activity, acute cerebral circulation impairment, heat shock proteins, glutathione.

Вступ

Підтримка енергетичного гомеостазу мозку, у тому числі при ішемічних церебральних розладах, відбувається за участі низки саморегульованих систем, що підтримують баланс між енерговитратними і енергопродукуючими процесами. В умовах порушення процесів утворення енергії, що лежать в основі ішемічного церебрального інсульту, саме дисбаланс енергетичного метаболізму може негативно позначитися на клітині і навіть призвести до її загибелі. В ішемізованих тканинах в умовах гіпоксії та енергодефіциту істотно порушується вуглеводний обмін — пригнічуються аеробні шляхи окиснення, посилюється гліколіз, нагромаджується лактат і виникає ацидоз [1].

Дефіцит АТФ на тлі нестачі кисню і глюкози є основним пусковим механізмом порушення окисно-відновного гомеостазу клітини, зміщення тіолдисульфідної рівноваги і нагромадження активних форм кисню та азоту. Під впливом вільнорадикальних реакцій та інших процесів окислативного стресу виникає активація транскрипційних факторів білків теплового шоку HSP (Heat shock proteins). Дослідження останніх років, спрямовані на виявлення ендогенних механізмів

при ішемії, показали участь цих білків у захисті клітин від загибелі [2]. Нейропротективний ефект HSP70 в умовах ішемії пояснюється його антиапоптичною та мітопротективною дією, запобігаючи апоптозу, який ініціюється мітохондріями [3]. Виділяють три основні шляхи впливу HSP-білків на процеси апоптозу: блокада пускового рецептора апоптозу Fas/Apo-1, гальмування вивільнення цитохрому С з мітохондрій при падінні мембранного потенціалу і запобігання його зв'язуванню з проапоптичним білком Араф-1 [4].

Деякими дослідженнями показано, що експресія HSP70 регулюється рівнем відновленого глутатіону (GSH). При формуванні окисного стресу зростання внутрішньоклітинного рівня цитотоксичних форм NO і активних форм кисню, а також пов'язане з цим зміщення тіолового редокс-статусу можуть бути залежними від депривації рівня білка теплового шоку HSP70 [5].

Все вищевикладене вказує на важливу роль відновленого глутатіону в механізмах підтримки нормального функціонування і життєздатності мітохондрій. Виходячи з цього, перспективним напрямом фармакокорекції в умовах ішемії є підтримка тіолового редокс-статусу клітини для запобіган-

ня метаболічним порушенням, зумовленим мітохондріальною дисфункцією.

Метою даного дослідження є вивчення метаболітотропної активності модуляторів тіолдисульфідної системи, враховуючи їх здатність нормалізувати рівень відновленого глутатіону і підвищувати експресію білка теплового шоку HSP70.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження проведені відповідно до Директиви Європейського союзу 2010/10/63 ЕУ щодо експериментів над тваринами. Досліди виконані на білих безпородних щурах масою 180–200 г обох статей. Експериментальні тварини були розподілені на 6 груп: I — псевдооперовані тварини; II — тварини (контроль) з експериментальним гострим порушенням мозкового кровообігу (ГПМК), III — ГПМК + тіотріазолін («Артеріум», Україна) дозою 50 мг/кг; IV — ГПМК + ангіолін («Фармактрон», Україна) дозою 50 мг/кг; V — ГПМК + тіоцетам (АТ «Галічфарм», Україна) дозою 250 мг/кг; VI — ГПМК + ліпоєва кислота («Марбіофарм», Російська Федерація) дозою 50 мг/кг.

Порушення мозкового кровообігу викликали необоротною двосторонньою оклюзією загальних сонних артерій.



Процедуру виконували під етамінал-натрієвим наркозом (40 мг/кг), шляхом хірургічного доступу виділяли загальні сонні артерії, підводили під них шовкові лігатури і перев'язували. З огляду на високу смертність при даній модельній патології, використовували таку кількість тварин, щоб кожна експериментальна група складалася з 10 особин. Препарати вводили внутрішньочеревно зазначеними дозами 1 раз на добу протягом 4 днів спостереження, починаючи з моменту виходу тварин з наркозу.

Тваринам I та II груп протягом дослідження у відповідному об'ємі внутрішньочеревно вводили фізіологічний розчин. З експерименту тварин виводили під етамінал-натрієвим наркозом (40 мг/кг) [6].

Для досліджень тканини головного мозку гомогенізували на холоді, в сольовому ізотонічному середовищі (0,15 M KCl) при температурі +4 °C за допомогою гомогенізатора SilentCrusher S (Німеччина) у співвідношенні тканина : сольовий розчин 1 : 40. Отриману суспензію центрифугували 7 хв при 700 g на центрифугі Eppendorf Centrifuge 5810R. Отриманий осад відкидали, а надосадову рідину повторно центрифугували при 11000 g у центрифугі Sigma Refrigerated Centrifuge 3-30k при температурі +4 °C. Центрифугат являв собою цитозольну фракцію, а отриманий осад — мітохондріальну суспензію. Для подальших досліджень використовували мітохондріальну фракцію [7].

Вміст окисненого і відновленого глутатіону визначали флюорометрично [8]. Енергетичний метаболізм оцінювали за вмістом пірувату, малату, лактату і НАДФ-залежної малатдегідрогенази (МДГ). Кіль-

кісне визначення вмісту пірувату визначали за методом Цоха — Лампрехта, визначення малату проводили за методом Хохорста. Вміст лактату оцінювали за кількістю утвореної відновленої форми НАД, яка еквімолярна кількості окисненого лактату. Концентрацію всіх визначених сполук виражали в мікромолях на грам тканини [9]. Активність НАДФ-залежної МДГ вивчали в мітохондріальній фракції за швидкістю відновлення НАДФ в інкубаційному середовищі при насичених концентраціях субстратів і кофакторів. Активність ферменту виражали в мікромолях НАДФН₂, що утворився за 1 хв у розрахунку на 1 г тканини [9].

Концентрацію HSP70 визначали методом імуноблот-аналізу. Білки розділяли в 10 % поліакриламідному гелі (ПААГ). Білки з гелю переносили на нітроцелюлозну мембрану при напрузі 100 В і силі струму 0,35 А протягом 1 год. Після перенесення мембрану поміщали в блокуючий буфер, що містить 1 % розчин бичачого сироваткового альбуміну (SIGMA, США) на 20 год. Відмиту в 0,1 М фосфатному буфері мембрану занурювали в розчин первинних антитіл проти HSP70 1 : 500 (Santa Cruz Biotechnology) та інкубували 2 год при кімнатній температурі. Після цього проводили повторне промивання в 0,1 М фосфатному буфері, поміщали мембрану в розчин вторинних антитіл 1 : 1000 (біотинільовані антимишачі IgG, SIGMA, США) та інкубували 2 год. Для візуалізації мембрану обробляли розчином АЕК: 1 таблетка 3-аміно-9-етилкарбазолу (Sigma, США), розчинена в 2,5 мл ДМФА, який містить 47,5 мл 0,05 М ацетатного буфера (рН 5,0) і 25 мкл 30 % H₂O₂. Інкубували мембрану в суміші суб-

страту 5–10 хв. Червоний нерозчинний преципітат характеризує комплекс антиген-анти тіло. Промивали мембрану в дистильованій воді кілька разів. Висушували смужки між листами фільтрувального паперу під потоком холодного повітря. Детекцію HSP70 здійснювали за допомогою денситометрії в програмі Adobe Photoshop [10].

Дані представлені у вигляді середнього арифметичного і стандартної помилки середнього значення (M±m). Результати дослідження оброблені з використанням статистичного пакета ліцензійної програми "STATISTICA® for Windows 6.0" (StatSoftInc., № AXXR712D833214FAN5), а також "Microsoft Excel 2010". Для всіх видів аналізу статистично значущими вважали відмінності з рівнем значущості менш 0,05 (95 %) [11].

Результати дослідження та їх обговорення

Моделювання ГПМК призводило до типових порушень вуглеводно-енергетичного обміну в нейронах. Це проявлялося компенсаторною активацією анаеробного гліколізу, посиленням утворення лактату й іонів водню, що зумовлює формування метаболічного ацидозу. Значне нагромадження концентрації лактату викликає зниження рН і є несприятливою прогностичною ознакою. У групі тварин з модельною патологією на 4-ту добу експерименту реєструвалося підвищення рівня лактату в 3,5 рази (табл. 1). Активація гліколізу супроводжувалася пригніченням ферментів циклу трикарбонових кислот (ЦТК), про що свідчить гальмування активності МДГ (на 21,6 %) і зниження рівня малату та пірувату на 61,5 % і в 2,5 рази відповідно щодо аналогічних показників



Показники вуглеводного обміну у головному мозку і активність мітохондріальної малатдегідрогенази на четверту добу гострого порушення мозкового кровообігу, мкмоль/г тканини, M±m

Експериментальна група тварин	Піруват	Лактат	Малат	МДГ
Псевдооперовані	0,510±0,016	2,441±0,085	0,384±0,015	1,25±0,08
Тварини з ГПМК	0,204±0,011*	8,521±0,288*	0,148±0,009*	0,98±0,07*
ГПМК + тіотриазолін	0,385±0,007**	4,678±0,180**	0,218±0,008**	1,09±0,07
ГПМК + ангіолін	0,413±0,010**	3,684±0,171**	0,313±0,013**	1,21±0,05**
ГПМК + тіоцетам	0,395±0,015**	4,197±0,165**	0,249±0,016**	1,13±0,06**
ГПМК + ліпоєва кислота	0,321±0,007**	6,575±0,337**	0,193±0,018**	1,03±0,07

Примітка. У табл. 1, 2: * — $p < 0,05$ щодо псевдооперованих тварин; ** — $p < 0,05$ щодо тварин з ГПМК.

Вміст HSP70 і тіоловий статус у головному мозку тварин з гострим порушенням мозкового кровообігу на четверту добу спостереження

Експериментальна група тварин	HSP70, ум. од./г білка		Глутатіон, мкмоль/ г білка	
	Гіпокамп	Кора	відновлений	окиснений
Псевдооперовані	17,30±0,95	15,10±0,84	3,60±0,17	0,13±0,06
Тварини з ГПМК	7,40±0,64*	22,30±1,15*	0,62±0,08*	1,68±0,11*
ГПМК + тіотриазолін	10,50±1,63	29,60±2,13**	1,93±0,21**	0,76±0,08**
ГПМК + ангіолін	24,10±2,25**	33,50±1,87**	2,88±0,34**	0,71±0,07**
ГПМК + тіоцетам	11,30±1,11**	30,20±1,66**	1,84±0,22**	0,82±0,05**
ГПМК + ліпоєва кислота	8,60±0,58	26,90±2,31	1,69±0,41	0,88±0,11**

псевдооперованих тварин. Отримані дані свідчать про гальмування ЦТК на ділянці «цитрат – сукцинат».

Зазначені патобіохімічні зміни енергетичного метаболізму перебігали на тлі порушення тіол-дисульфідної рівноваги і пригнічення експресії білка HSP70 (табл. 2). Так, за даних умов відзначається зниження вмісту GSH у 5,8 разу. Паралельно реєструвалося значне збільшення окисненої форми (GSSG). Нагромадження окиснених інтермедіатів системи глутатіону сприяє розвитку окисного і нітрозативного стресу в тканинах мозку. Відомий ще один механізм негативно впливу високих концентрацій окисненої форми глутатіону — пряме гальмування експресії білка HSP70. Однак у наших попередніх дослідженнях отримані результати посилення експресії HSP70 у ней-

ронах фронтальної кори [4; 12]. Аналіз робіт інших дослідників показав як зниження, так і підвищення вмісту білків теплового шоку в гіпокампі та корі в умовах ішемії [13; 14]. У даному дослідженні рівень HSP70 визначали в тканинах фронтальної кори і в найбільш чутливій до ішемії зоні гіпокампа.

Аналіз отриманих результатів підтверджує уявлення про те, що ішемічне ушкодження нейронів супроводжується змінами функціонального стану компонентів білків теплового шоку і пов'язаної з їх функцією глутатіонової редокс-системи, необхідної не тільки для антиоксидантного захисту, а й для фолдингу білкових молекул. У ході проведених досліджень було встановлено, що введення модуляторів тіол-дисульфідної системи приводило до активації аеробного окиснення (див. табл. 1). Про це свідчи-

ло достовірне підвищення рівня малату при падінні концентрації лактату порівняно з показниками контрольної групи. Так, у групі тварин з введенням ліпоєвої кислоти виявлено зниження рівня лактату на 23,8 %, яке супроводжувалося підвищенням вмісту інтермедіатів ЦТК — пірувату і малату на 57,3 і 37,4 % відповідно. Фармакотерапія іншими препаратами мала більш виражений ефект. За зростанням ефекту препарати можна розташувати у такій послідовності: ліпоєва кислота — тіотриазолін — тіоцетам — ангіолін. Значне підвищення рівня малату під дією зазначених препаратів може пояснюватися тим, що вони здатні активувати компенсаторний малатаспартатний човниковий механізм, який забезпечує протонами електронно-транспортний ланцюг мітохондрій. Активація

малатного шунта забезпечує збереження пірувату в піруват-дегідрогеназній реакції, сприяє гальмуванню синтезу патологічних ліпідів.

Реалізація метаболітотропної дії препаратів пов'язана з їх позитивним впливом на глутатионову ланку тіол-дисульфідної системи (див. табл. 2). Ми припускаємо, що виявлений механізм пов'язаний не тільки з антиоксидантними властивостями використаних препаратів. Проведені раніше дослідження показують здатність модуляторів тіол-дисульфідної системи підвищувати біодоступність оксиду азоту і обмежувати токсичну дію його активних дериватів на нейрони в умовах ішемії [15]. Обмеження реакцій оксидативного і нітрозативного стресу запобігає нітрозилуванню тіольних редокс-залежних ділянок генів і попереджає депривацію експресії HSP70 у гіпокампі, що підтверджується отриманими результатами даного дослідження. У свою чергу, підвищення рівня HSP70 сприяло збереженню активності МДГ і протіканню малат-аспартатного човникового механізму транспорту відновлених еквівалентів у мітохондрії.

Наявність або відсутність лінійного зв'язку між показниками, а також їх щільність і статистичну значущість визначали обчисленням критерію кореляції Пірсона (r) [16]. Проведений статистичний аналіз і побудова діаграм розсіювання вказують на наявність вираженої прямолінійної залежності активності МДГ від рівня відновленого глутатіону ($r=0,687$; рис. 1). Кореляційний зв'язок між активністю МДГ і рівнем HSP70 був трохи слабшим ($r=0,606$), але залишався статистично значущим. Обчислені коефіцієнти кореляції Пірсона

Scatterplot: МДГ vs GSH (Casewise MD deletion)

$$GSH = -3,776 + 5,2143 \cdot \text{МДГ}$$

$$\text{Correlation: } r = 0,68749$$

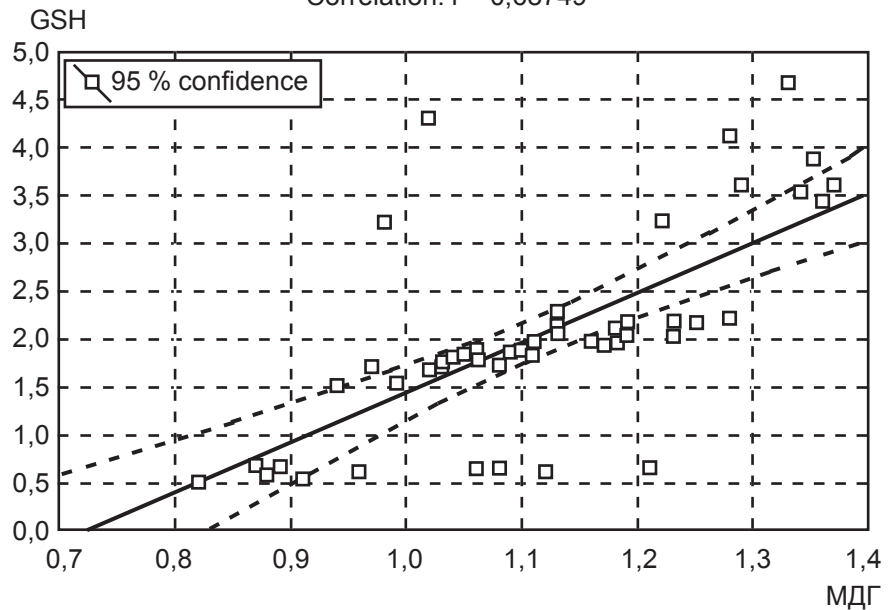


Рис. 1. Залежність активності малатдегідрогенази від рівня відновленого глутатіону в експериментальних тварин

3D Surface Plot (Spreadsheet3 7v.100c)
 $\text{МДГ} = 0,8137 + 0,0167 \cdot x + 0,0576 \cdot y - 0,0004 \cdot x \cdot x + 0,0028 \cdot x \cdot y - 0,0077 \cdot y \cdot y$

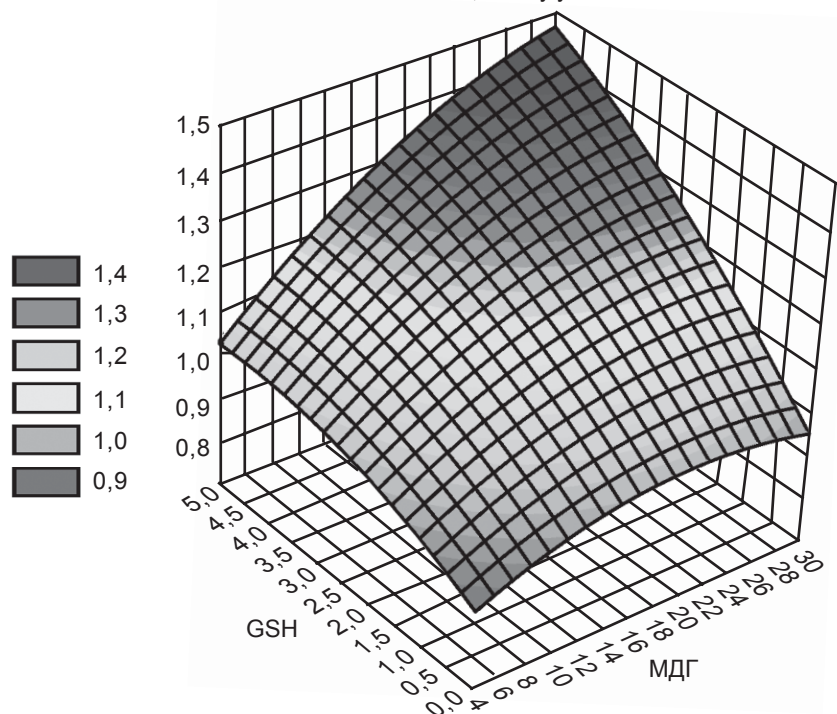


Рис. 2. Спряженість змін вмісту відновленого глутатіону та HSP70 з активністю малатдегідрогенази в експериментальних тварин

підтверджуються візуальною 3D-діаграмою (рис. 2), на якій графічно зображений взаємозв'язок динаміки концентрацій глутатіону і HSP70 з активністю МДГ. При розрахунку ліній-

ної регресії як залежну змінну брали активність МДГ. Отримані результати вказують на значну точність лінійної моделі: коефіцієнт множинної кореляції $R=0,7516$, коефіцієнт де-



термінації $R^2=0,565$, скоригований $R^2=0,546$ при $F=30,51$; коефіцієнти Beta для глутатіону $0,51$ ($p=0,00031$), для HSP70 — $0,35$ ($p=0,0027$).

Таким чином, модулятори тиол-дисульфідної системи виявляють виражений енерготропний ефект в умовах гострої ішемії головного мозку, який зумовлений опосередковано через підвищення рівня GSH посиленням експресії HSP70, що бере участь у механізмах активації та регуляції компенсаторних мітохондріально-цитозольних шунтів енергії.

ЛІТЕРАТУРА

1. Семененко А. И. Состояние энергетического метаболизма головного мозга крыс на фоне введения некоторых инфузионных растворов при ишемии-реперфузии / А. И. Семененко // Тихоокеанский медицинский журнал. — 2014. — № 4. — С. 60–63.

2. Локтионова С. А. Защита эндотелиальных клеток сосудов человека от повреждения при ишемии in vitro: роль белков теплового шока HSP 27 : автореф. дис. ... канд. биол. наук / С. А. Локтионова. — М., 1998. — 25 с.

3. Аврущенко М. Ш. Индивидуально-типологические особенности постреанимационных изменений мозга: роль белков теплового шока HSP70 / М. Ш. Аврущенко, И. В. Острова, Ю. В. Заржецкий // Общая реаниматология. — 2008. — № 6. — С. 34–39.

4. Нейропротекция и нейропластичность / И. Ф. Беленичев, В. И. Черный, Е. А. Нагорная [и др.]. — К. : Логос, 2015. — 512 с.

5. Горбачева С. В. Антиоксидантная модуляция нейроапоптоза в условиях дисбаланса тиол-дисульфидной системы и накопления окисленных промежуточных соединений in vitro / С. В. Горбачева, И. Ф. Беленичев // Вісник проблем біології та медицини — 2015. — № 3. — С. 124–129.

6. Стефанов О. В. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рекомендації / О. В. Стефанов. — К. : Авіценна, 2002. — 527 с.

7. Прохорова М. И. Современные методы биохимических исследова-

ний (липидный и энергетический обмен) / М. И. Прохорова — Л. : Изд-во Ленинградского университета, 1982. — 272 с.

8. Чекман И. С. Доклінічне дослідження специфічної активності потенціальних нейропротективних препаратів / И. С. Чекман, Ю. И. Губский, И. Ф. Беленичев. — К. : ГФЦ МОЗ України, 2010. — 81 с.

9. Асатиани В. С. Ферментные методы анализа / В. С. Асатиани. — М. : Наука, 1969. — 739 с.

10. Beere H. M. The stress of dying: the role of heat shock proteins in the regulation of apoptosis / H. M. Beere // J. Cell Sci. — 2004. — Vol. 117. — P. 2641–2651.

11. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва. — М. : Медиасфера, 2002. — 312 с.

12. Биохимические механизмы регуляции продукции энергии в условиях острой церебральной ишемии / Ю. М. Колесник, И. С. Чекман, И. Ф. Беленичев [и др.] // Доповіді Національної академії наук України. — 2011. — № 9. — С. 164–170.

13. Роль белков теплового шока Hsp70 и Hsp32 в защитном эффекте адаптации культуры клеток гиппокампа HT22 к окислительному стрессу / И. П. Хоменко, Л. Ю. Бахтина, О. М. Зеленина [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2007. — Т. 144, № 8. — С. 138–142.

14. Поварнина П. Ю. Нейропротективные эффекты димерного дипептидного миметика фактора роста нервов ГК-2 на модели двусторонней необратимой перевязки сонных артерий у крыс / П. Ю. Поварнина, Т. А. Гудашева, О. Н. Воронцова // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2012. — Т. 75, № 9. — С. 15–20.

15. Gorbacheva S. V. The Thiols-Disulfide Balance and the Nitric Oxide System in the Brain Tissue of Rats Subjected to Experimental Acute Impairment of Cerebral Blood Flow / S. V. Gorbacheva, I. F. Belenichev // Neurochemical Journal — 2014. — Vol. 8, N 1. — P. 24–27.

16. Мостицкий С. Э. Методическое пособие по использованию программы STATISTICA при обработке данных биологических исследований / С. Э. Мостицкий. — Минск : РУП «Институт рыбного хозяйства», 2009. — 76 с.

REFERENCES

1. Semenenko A.I. State energy metabolism of the brain of rats on the background of some infusion solutions during ischemia-reperfusion. *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal* 2014; 4: 60-63.

2. Loktionova S.A. *Zashchita endotelial'nykh kletok sosudov cheloveka ot povrezhdeniya pri ishemii in vitro: rol' belkov teplovogo shoka HSP 27* [Protection of human vascular endothelial cells from damage due to ischemia in vitro: role of heat shock proteins HSP 27]. Moscow, 1998. 25 p.

3. Avrushchenko M.Sh., Ostrova I.V., Zarzhetsky Y. Individually-typological features of postresuscitation changes in the brain: the role of heat shock proteins HSP70. *Obshchaya reanimatologiya*. 2008; 6: 34-39.

4. Belenichev I.F., Cherniy V.I., Nagornaya E.A. *Neuroproteksiya i neuroplastichnost'* [Neuroprotection and neuroplasticity]. Kiyev, Logos, 2015. 512 p.

5. Gorbacheva S.V., Belenichev I.F. Antioxidant neuroapoptosis dysbalance in a thiol-disulfide system and the accumulation of Oxidized Intermediates in vitro. *Visnyk problem biologii ta medyt-syny* 2015; 3: 124-129.

6. Stefanov O.V. *Doklinichni doslidzhennya likarskykh zasobiv: method. rekomendatsii* [Preclinical studies of medicines: method. recommendations]. Kyiv, Avitsenna, 2002. 527 p.

7. Prokhorova M.I. *Sovremennyye metody biokhimicheskikh issledovaniy (lipidnyy i energeticheskyy obmen)* [Modern methods of biochemical research (lipid and energy metabolism)]. Publishing House of Leningrad University, 1982. 272 p.

8. Chekman I.S., Gubskiy Yu.I., Belenichev I.F. *Doklinicheskoye izucheniye spetsificheskoy aktivnosti potentsial'nykh neuroprotektornykh preparatov* [Preclinical study of the specific activity of potential neuroprotective drugs]. Kiyev: GFTS MOZ Ukrainy, 2010. 81 p.

9. Asatiani V.S. *Fermentnyye metody analiza* [Enzymatic methods of analysis] Moscow, Nauka, 1969. 739 p.

10. Beere H.M. The stress of dying: the role of heat shock proteins in the regulation of apoptosis. *J. Cell Sci*. 2004; 117: 2641-2651.

11. Rebrova O.Yu. *Statisticheskiy analiz meditsinskiykh dannykh. Primeneniye paketa prikladnykh programm STATISTICA* [Statistical analysis of medical data. The use of the application package STATISTICA]. Moscow, Mediasfera, 2002. 312 p.



12. Kolesnik Yu.M., Chekman I.S., Belenichev I.F. et al. The biochemical mechanisms of regulation of energy production in the conditions of acute cerebral ischemia. *Dopovidi Natsional'noi akademii nauk Ukraini* 2011; 9: 164-170.

13. Khomenko I.P., Bakhtina L.Yu., Zelenina O.M. et al. Role of the heat shock protein Hsp70 and Hsp32 in the protective effect of culture adaptation NT22 of hippocampal cells to oxidative stress *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsyny* 2007; 8: 138-142.

14. Povarnina P.Yu., Gudasheva T.A., Vorontsova O.N. Neuroprotective effects of a dipeptide mimetic on the GK-2 nerve growth factor in model of permanent common carotid artery occlusion in rats *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya* 2012; 75 (9): 15-20.

15. Gorbacheva S.V., Belenichev I.F. The Thiol-Disulfide Balance and the Nitric Oxide System in the Brain Tissue of Rats Subjected to Experimental Acute Impairment of Cerebral Blood Flow: The Therapeutic Effects of Noo-

tropic Drugs. *Neurochemical Journal* 2014; 8 (1): 24-27.

16. Mastitsky S.E. *Metodicheskoye posobiye po ispol'zovaniyu programmy STATISTICA pri obrabotke dannykh biologicheskikh issledovaniy* [Toolkit using STATISTICA software when processing data for Biological Studies]. Minsk, "Institute of Fisheries", 2009, 76 p.

Надійшла 3.02.2016

Рецензент д-р мед. наук,
проф. Я. В. Рожковський

Передплачуйте
і читайте



ОДЕСЬКИЙ МЕДИЧНИЙ ЖУРНАЛ

Передплата приймається у будь-якому
передплатному пункті

Передплатний індекс 48717

У випусках журналу:

- ◆ Теорія і експеримент
- ◆ Клінічна практика
- ◆ Профілактика, реабілітація, валеологія
- ◆ Новітні технології
- ◆ Огляди, рецензії, дискусії

