



УДК 615.21:616:831-005.4

Н. О. Бут, Е. В. Супрун*

МІТОПРОТЕКТИВНИЙ ЕФЕКТ РОНКОЛЕЙКІНУ ПРИ КОРЕКЦІЇ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ПОСТГІПОКСИЧНИХ СТАНІВ У ЩУРІВ

КЗ «Дніпропетровська міська клінічна лікарня № 4», Дніпропетровськ, Україна,
* Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна

УДК 615.21:616:831-005.4

Н. А. Бут, Э. В. Супрун*

МИТОПРОТЕКТИВНЫЙ ЭФФЕКТ РОНКОЛЕЙКИНА ПРИ КОРРЕКЦИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ПОСТГИПОКСИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ У КРЫС

КУ «Днепропетровская городская клиническая больница № 4», Днепропетровск, Украина,
* Национальный фармацевтический университет, Харьков, Украина

На модели экспериментального фотоиндуцированного тромбоза сосудов головного мозга у крыс изучена митопротекторная активность Ронколейкина (0,01 мг/кг) в сравнении с Тиотриазолином (50 мг/кг). На фоне применения Ронколейкина отмечена достоверная стабилизация функциональной активности митохондрий (по блокированию открытия митохондриальных пор) и состояния тиол-дисульфидной системы — нормализация активности глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы, повышение уровней восстановленных форм глутатиона и тиолов на фоне снижения их окисленных форм. По митопротекторной активности на модели фокального инсульта Ронколейкин сопоставим с Тиотриазолином, а по ряду показателей — превосходит его.

Ключевые слова: IL-2, Ронколейкин, митохондриальная пора, тиол-дисульфидная система, экспериментальная церебральная ишемия.

UDC 615.21:616:831-005.4

N. O. But, E. V. Suprun*

MITOPROTECTIVE EFFECT OF RONKOLEUKIN IN CORRECTION OF EXPERIMENTAL POST-HYPOXIC STATES IN RATS

Municipal establishment "Dnepropetrovsk Municipal Hospital N 4", Dnepropetrovsk, Ukraine,
* The National University of Pharmacy, Kharkov, Ukraine

Last decade a stable increase in morbidity is registered, pathogenesis of diseases involves basic or associated factor — afterhypoxic chain of pathophysiological changes in the tissue. In ischemia/hypoxia "cytokine cascade" is formed, in which ratio of cytokines, first of all interleukins, determines severity of afterhypoxic complication.

Purpose of this study was determination of recombinant IL-2 (Ronkoleukin) influence on dynamics of afterhypoxic changes in tissues of rats' brain with experimental focal stroke, mainly functional activity of mitochondria and thiol-disulfide system.

Materials and methods. Mitoprotective activity of Ronkoleukin (0.01 mg/kg) comparing to Tiotriazoline (50 mg/kg) was studied on the model of experimental photo-induced thrombosis of brain in rats. In homogenate of brain in rats with experimental focal stroke in early and distant afterischemic periods after initiation with cyclosporine-A by spectrophotometry there was determined opening of mitochondrial pore and activity of thiol-disulfide system (levels of reduced forms of glutathions and thiols, activity of glutathionperoxidase and glutathionreductase).

Results and discussion. On the model of focal stroke in rats afterischemic damage to brain tissue led to formation of dysfunction of mitochondria (by level of mitochondrial pore opening) and thiol-disulfide system — increase of level of glutathions and thiols on the background of reduction of their oxidized forms and activity of glutathionperoxidase and glutathionreductase.

On Ronkoleukin administration background it was noted significant stabilization of mitochondria functional activity (by blocking mitochondrial pore opening) and state of thiol-disulfide system — normalization of activity of glutathionperoxidase and glutathionreductase, increase of levels of reduced forms of glutathions and thiols on the background of reduction of their oxidized forms. According to mitochondrial activity on the model of focal stroke, Ronkoleukin can be compared to Tiotriazoline and by some indices even better.

Conclusions. Ronkoleukin has a mitoprotective effect in afterischemic damages that can be used as perspective therapy in complex therapy in treatment of afterischemic stroke and for effective protection of brain tissue.

Key words: IL-2, Ronkoleukin, mitochondrial pore, thiol-disulfide system, experimental cerebral ischemia.



Вступ

Протягом останніх десятиріч спеціалісти більшості економічно розвинених країн реєструють постійне зростання розповсюженості різних захворювань, при яких основою або супровідним фактором патогенезу є постгіпоксичний ланцюг патофізіологічних змін тканини [7; 9; 20; 21].

Гіпоксія виникає як в умовах дефіциту кисню в навколишньому середовищі, так і внаслідок різних патологічних станів, пов'язаних із порушенням дихальної, серцево-судинної систем або транспортної функції крові. При цьому доставка кисню до тканин знижується до рівня, що є недостатнім для підтримання метаболізму, структури та функції клітин [11]. Градуальні коливання напруження кисню в середовищі призводять до змін функціонально-метаболічного стану клітин, які характеризуються дестабілізацією системи оксиду азоту та тіол-дисульфідної системи, формуванням мітохондріальної дисфункції, енергетичного дефіциту та розвитком біоенергетичної (тканинної) гіпоксії [7]. Це зумовлює необхідність пошуку засобів захисту організму від гіпоксії за допомогою антигіпоксантів, які можна застосовувати в патогенетичній терапії при загальній або локальній ішемії та гіпоксії [13; 14].

В осередку ішемії/гіпоксії активуються клітини ендотелію, лейкоцити, макрофаги, які продукують цитокини [4]. Формується «цитокіновий каскад», при якому, залежно від терміну початку гіпоксії або реоксигенації, змінюється співвідношення цитокинів, у першу чергу інтерлейкінів (IL), що визначає ступінь вираженості запальної реакції, проліферацію та апоптоз клітин, умови для негайної або відтермінованої загибелі клітин навколо зони первинної ішемії/гіпоксії та обсяг постгіпоксичних ускладнень [3]. «Цитокінова мережа»

розглядається як саморегульовальна система, у функціонуванні якої беруть участь цитокини, антагоністи їх рецепторів, розчинні рецептори цитокинів, антитіла до цитокинів, інгібіторні білки та ін. [12]. За сучасними уявленнями, характер імунної відповіді та особливості розвитку патофізіологічних змін при ішемії/гіпоксії залежать від переважної активації субпопуляцій Т-лімфоцитів і синтезу ними цитокинів різних типів [5], тому важливою перспективною ланкою ефективного захисту тканини мозку в комплексній терапії постішемічних станів є застосування нових цитокинових препаратів інтерлейкінового ряду [17; 19].

Першим у зоні ішемії продукується IL-1, який також характеризується властивістю стимулювати синтез факторів росту — IL-2 та IL-4 [15]. IL-2 є важливим учасником формування швидкої імунної відповіді організму (індукує проліферацію В-лімфоцитів, активує цитотоксичні Т-лімфоцити) та бере участь в організації «цитокінової мережі» — стимулює синтез і секрецію інших цитокинів (IL-4, IL-6), гамма-інтерферону, колонієстимулювальних факторів і FNO α . У клінічній практиці IL-2 (Ронколейкін) застосовують для корекції вторинного імунного дефіциту при лікуванні сепсису різної етіології, тяжких гнійно-запальних захворювань та онкологічних процесів.

Ступінь патофізіологічних постгіпоксичних змін певною мірою залежить від формування «цитокінового каскаду», тому **метою** цієї роботи було вивчення впливу рекомбінантного IL-2 (Ронколейкіну) на динаміку постгіпоксичних змін у тканинах головного мозку щурів із експериментальним фокальним інсультом, а саме: функціональну активність мітохондрій і тіол-дисульфідної системи. Препаратом порівняння обрано Тіотріазолін — відомий цитопротектор метаболі-

ної дії, який широко застосовується при лікуванні різних захворювань у кардіології, неврології та клініці внутрішніх хвороб.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження проводили на білих нелінійних щурах масою 180–200 г, доставлених із розплідника ІФТ АМН України. Тварин утримували на стандартному раціоні віварію при природній зміні дня і ночі. Усі процедури й оперативні втручання здійснювали відповідно до «Положення про використання лабораторних тварин у біомедичних дослідженнях». Клінічну картину фокального інсульту (ФІ) відтворювали на моделі двостороннього фотоіндукованого тромбозу судин, при якому утворюється постійний за обсягом та локалізацією осередок ішемії. Методика ґрунтується на принципі фотохімічної стимуляції утворення тромбів у судинах мозку при взаємодії світлового променя з флуоресцентним барвником, попередньо введеним у кровоносне русло [18].

Тварини були розподілені на 4 групи по 10 щурів. Перша група — умовно оперовані тварини (УО), друга — тварини з ФІ (контрольна патологія — група К), третя — тварини з патологією, яким вводили Ронколейкін (група Р) дозою 0,01 мг/кг внутрішньом'язово відразу після моделювання ФІ та надалі — 1 раз на добу протягом 18 днів. Препарат порівняння Тіотріазолін вводили тваринам четвертої групи у тому ж режимі терапевтичною дозою 50 мг/кг. Після закінчення гострого періоду ішемії (4 дні) та фази відновлення (18 днів) тварин виводили з експерименту під етамінал-натрієвим наркозом шляхом декапітації. Мозок швидко витягували, відокремлювали скроневі частки, які гомогенізували в рідкому азоті.

Для вивчення функціонального стану мітохондрій у гомо-



генаті мозку після ініціації циклоспорином-А визначали відкриття мітохондріальної пори (МП) спектрофотометрично [1]. Для вивчення активності тіол-дисульфідної системи визначали рівні відновлених та окиснених тіолів і глутатіону, активність глутатіонпероксидази (ГПР) та глутатіонредуктази (ГР) у гомогенаті головного мозку щурів із фокальною ішемією в ранньому та віддаленому постішемічних періодах. Вміст сумарних SH-груп визначали спектрофотометрично за реакцією з 5,5-дитіобіс-7-нітробензойною кислотою [8]. Концентрацію глутатіону, окисненого та відновленого, визначали флюорометричним методом у реакції з о-фталевим ангідридом [6]. Активність ферментів тіол-дисульфідної системи — ГПР і ГР — визначали спектрофотометрично [2]. Отримані дані були проаналізовані варіаційно-статистичним методом із використанням критерію t-Стюдента. Вірогідними вважали відмінності з рівнем значення більш ніж 95 % ($p < 0,05$), які позначали як $p^{УО}$ (щодо групи умовно оперованих тварин), p^K (щодо контрольної групи), p^T (щодо групи Тіотріазоліну) або p^P (щодо групи Ронколейкіну).

Результати дослідження та їх обговорення

У нашому експерименті в контрольній групі (рис. 1) зафіксовано значні негативні зміни функціонального стану мітохондріальної мембрани та порушення Ca^{2+} -гомеостазу — на 4-ту добу спостереження відкриття МП на фоні циклоспорино А було заблоковано на 48 % щодо групи УО ($p^{УО} < 0,001$), у подальшому на 18-ту добу цей показник був нижчий за контрольні на 51 % ($p^{УО} < 0,001$).

Відомо, що мембранний потенціал у мембрані проявляється як електричне поле високої напруги (~105 В/см), яке впливає на макромолекули

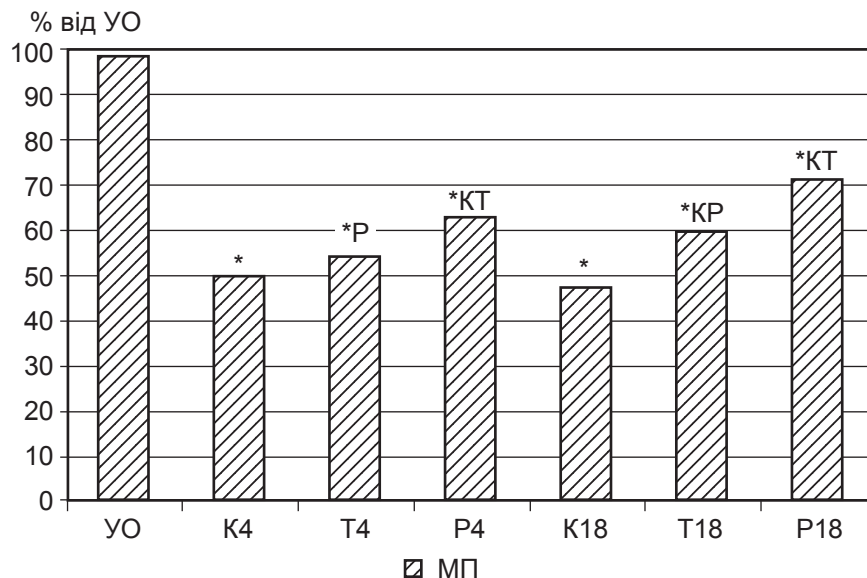


Рис. 1. Показник відкриття мітохондріальної пори у мозку щурів із фотоіндукованим тромбозом (4-та і 18-та доба). На рис. 1–4: УО — група умовно оперованих тварин; К 4 і К 18 — контрольна група на 4-ту і 18-ту добу досліді; Т 4 і Т 18 — група Тіотріазоліну на 4-ту і 18-ту добу досліді; Р 4 і Р 18 — група Ронколейкіну на 4-ту і 18-ту добу досліді. Статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$): * — щодо хібнооперованих тварин; К — щодо тварин контрольної групи; Т — щодо тварин групи Тіотріазоліну; Р — щодо тварин групи Ронколейкіну

мембрани і надає їх заряджені групам певну просторову орієнтацію. Особливо важливим є те, що дане електричне поле забезпечує закритий стан так званих активаційних воріт натрієвих каналів і відкритий стан їх інактиваційних воріт. Цим забезпечується стан спокою мембрани клітини та готовності до змін. Навіть відносно невелике зниження мембранного потенціалу (часткова деполаризація) відкриває активаційні ворота цих каналів і виводить клітину зі стану спокою.

При ішемічному ураженні тканини мозку внаслідок дефіциту кисню трансмембранний градієнт H^+ -іонів змінюється, що призводить до зниження мембранного потенціалу. Виникає деполаризація та дестабілізація внутрішньої мембрани мітохондрій, формується так звана неселективна РТ пора (permeability transition pore — РТР) [10; 11]. До складу РТ пори входять білки внутрішньої мембрани, наприклад АНТ, і білки зовнішньої мембрани — залежний від напруги аніонний канал (VDAC), який працює в

місцях контактів зовнішньої та внутрішньої мембран, утворюючи канал, через який можуть проходити молекули розміром 1,5 кД. Відкриття такого каналу у внутрішній мембрані приводить до встановлення рівноваги іонів у матриксі та міжмембранному просторі мітохондрій, розповсюджує градієнт H^+ по внутрішній мембрані та розриває респіраторний ланцюг. Відкриття РТ пори також приводить до об'ємної дисрегуляції мітохондрій через гіперосмоляльність матриксу, що спричинює збільшення його об'єму, розриви зовнішньої мембрани та зростаючу дестабілізацію мітохондрій і клітин мозку в цілому [16].

В експерименті Ронколейкін, введений щурам із фокальною ішемією, виявив значну мітопротекторну активність. Функціональна активність мітохондрій головного мозку тварин була стабілізована вже у гострому періоді після фокального ушкодження тканини мозку — показник відкриття МП збільшився на 26 % щодо контрольної групи ($p^K < 0,001$) і

на 16 % перевищив показники групи Тіотріазоліну ($p^T < 0,05$). У віддаленому періоді після ФІ внаслідок корекції мітохондріальної активності під дією Ронколейкіну показник відкриття МП на 43 % перевищував рівень контрольної групи ($p^K < 0,001$) і на 18 % — показники групи Тіотріазоліну ($p^T < 0,05$).

Аналіз функціональної активності мітохондрій у головному мозку експериментальних тварин у стані постішемичного ушкодження свідчить, що в групі із застосуванням Ронколейкіну стабільність МП ефективно відновлюється і динамічно зростає з максимальним проявом у відновлювальному періоді. Відновлюється також фізіологічний іонний баланс, зникають прояви деполаризації, що запобігає дестабілізації внутрішньої мембрани мітохондрій, формуванню неспецифічного каналу — РТ пори, розривам зовнішньої мембрани та мітоптозу.

Відкриття пор відбувається внаслідок окиснення або нітрозильовання тіольних груп цистеїн-залежної ділянки білка внутрішньої мембрани мітохондрій (АТФ/АДФ-антипортер), тому особливу увагу ми звернули на стан тіол-дисульфідної системи. Більшість тіолів (глутатіон, цистеїн, метіонін) і пов'язані з ними ферментні системи прямо й опосередковано беруть участь у функціонуванні різних ланок захисту клітин. Внутрішньоклітинний пул глутатіону включає відновлену (GSH) та окиснену (GSSG) форми, змішані дисульфіди та тіоефіри. Глутатіонпероксидаза (GSH), глутатіонтрансфераза, ГР та NADPH утворюють глутатіонову антипероксидну систему, яка ефективно захищає клітини головного мозку при розвитку оксидативного стресу.

В експерименті ми визначили рівні відновлених та окиснених тіолів і глутатіону, активність ГПР і ГР у гомогенаті го-

ловного мозку щурів із фокальною ішемією в ранньому та віддаленому постішемичних періодах. У контрольних тварин при фотоіндукованому тромбозі в ранньому постішемичному періоді зафіксовано зниження щодо контрольних показників рівня відновлених ($p^{yO} < 0,05$) і підвищення на 23 % рівнів окиснених форм глутатіону ($p^{yO} < 0,01$), що підтверджує формування порушення внутрішньоклітинного пулу глутатіону (рис. 2). У подальшому цей дисбаланс посилюється, на 18-ту добу показники зниження відновлених і підвищення окиснених форм глутатіону сягнули 34–38 % ($p^{yO} < 0,01$). Аналогічні зміни зареєстровані в сумарному

пулі тіолів (рис. 3) — у гомогенаті головного мозку на 4-ту добу реєструвалося зниження щодо контрольних показників на 32 % рівнів відновлених тіолів і підвищення на 28 % — окиснених тіолів ($p^K < 0,001$).

Глутатіонпероксидаза є одним із важливих компонентів антипероксидної ферментної системи клітин, ефективно її відновлює, запобігає нагромадженню гідропероксидів, розвитку неферментних реакцій і нагромадженню вторинних метаболітів. У гомогенаті мозку контрольних тварин розвиток ФІ супроводжувався стабільним зниженням активності ГПР (рис. 4) на 18–21 % ($p^{yO} < 0,01$) протягом усього терміну дослідження.

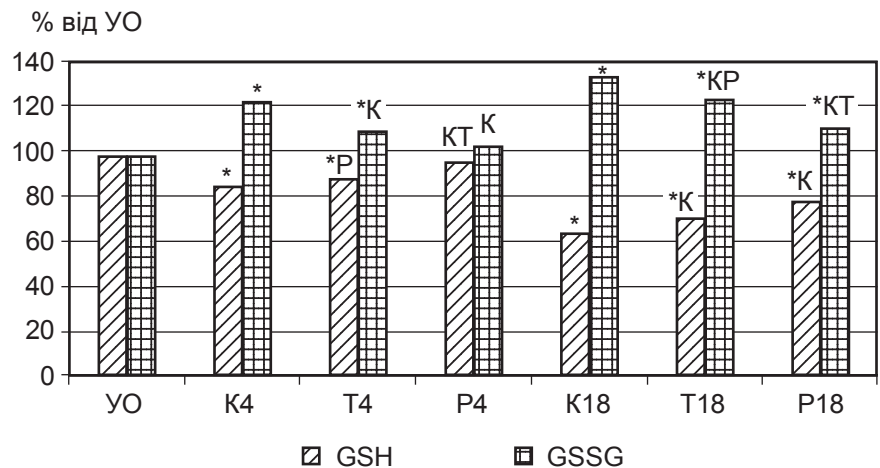


Рис. 2. Вміст відновлених та окиснених форм глутатіону в гомогенаті мозку щурів із фотоіндукованим тромбозом (4-та і 18-та доба)

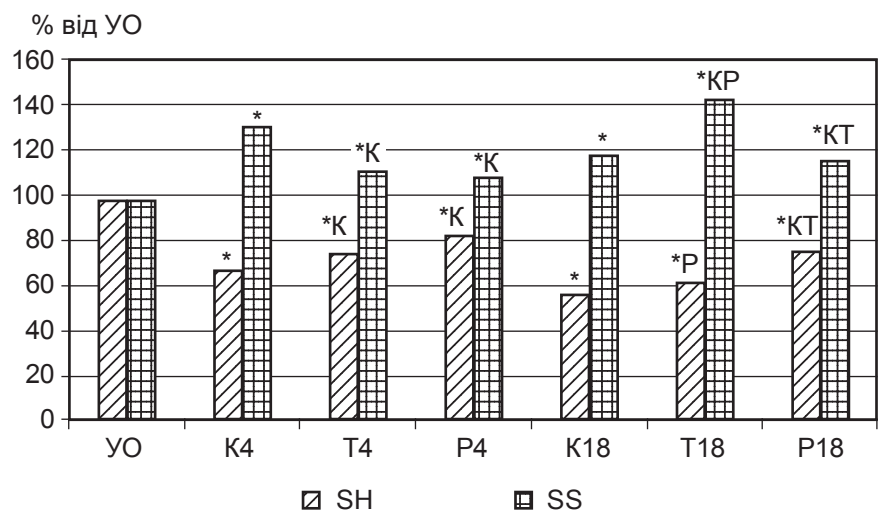


Рис. 3. Вміст відновлених (SH) та окиснених (SS) тіолів у гомогенаті мозку щурів із фотоіндукованим тромбозом (4-та і 18-та доба)



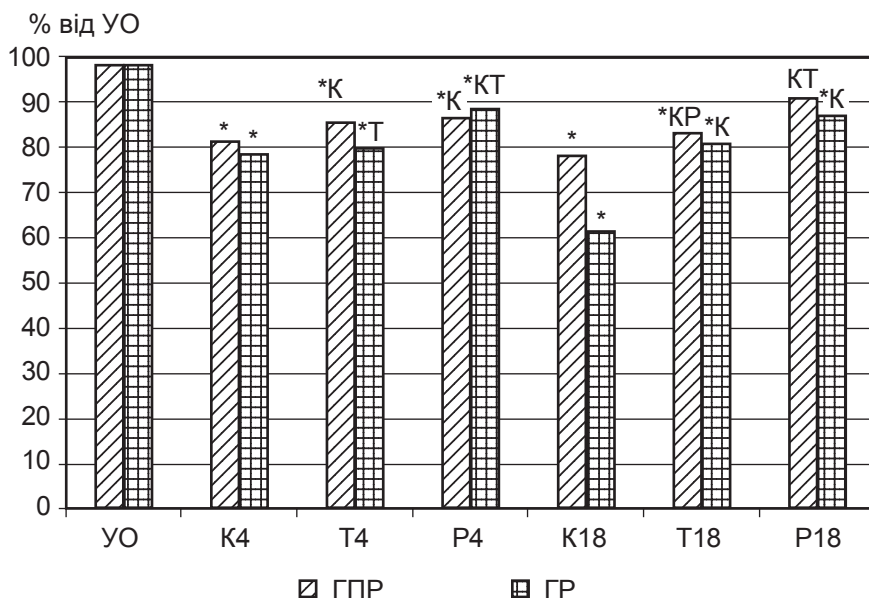


Рис. 4. Вміст глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази в гомогенаті мозку щурів із фотоіндукованим тромбозом (4-та і 18-та доба)

Подібні зміни зареєстровано щодо активності ГР, яка разом з ГПР має найбільше значення для підтримання в організмі певного рівня активного глутатіону шляхом відновлення його дисульфідної форми. У гомогенаті тканини мозку щурів контрольної групи розвиток фокальної ішемії супроводжувався зниженням активності ГР (див. рис. 4) у гострому періоді на 21 % ($p^{YO} < 0,05$) із подальшим прогресуванням — до 36 % на 18-ту добу експерименту ($p^{YO} < 0,01$).

Таким чином, при ішемічному ураженні тканини мозку зміцнення тіол-дисульфідної системи відбувається внаслідок зниження її відновлених інтермедіатів на фоні зростання окиснених форм і значного падіння рівня відновленого глутатіону. Ці патобіохімічні зміни призводять до суттєвих функціональних порушень у нейронах клітинах, які є необоротними [11]. Окиснення тіольних груп цистеїн-залежної ділянки білків внутрішньої мембрани мітохондрій сприяє відкриттю гігантської РТ пори мітохондрій і дестабілізації її ферментних систем, що призводить до розвитку стійкої мітохондріальної дисфункції і, як наслідок, до загибелі — міто-

птозу. В умовах порушення генерації енергії в клітині, викликаного дисфункцією мітохондрій, втрата НАД і АТФ призводить до загибелі клітин внаслідок некрозу або апоптозу [10; 16].

Ронколейкін, введений тваринам із фотоіндукованим тромбозом, інгібує утворення окиснених форм глутатіону протягом усього терміну дослідження на 18–17 % ($p^K < 0,05$). Рівень відновлених форм глутатіону на 18-ту добу після ФІ відновлюється практично до рівня групи УО ($p^K < 0,01$), що перевищує ефект Тіотріазоліну ($p^T < 0,05$). Також під дією Ронколейкіну підвищується концентрація відновлених тіолів на фоні зниження їх окиснених форм ($p^K < 0,01$), відновлюється стан ферментів тіол-дисульфідної системи — підвищується активність глутатіонпероксидази практично до рівня групи УО в гострому періоді після ФІ ($p^K < 0,01$) та активність ГР на 32 % щодо контрольних тварин у віддаленому постішемічному періоді ($p^K < 0,01$).

Висновки

Результати проведеного дослідження підтверджують, що на моделі фокального інсуль-

ту у щурів постішемічне ушкодження тканини мозку супроводжувалося формуванням дисфункції мітохондрій (за показником відкриття мітохондріальних пор) і тіол-дисульфідної системи — підвищення вмісту окиснених форм тіолів, глутатіону на фоні зниження рівнів їх відновлених форм та активності глутатіонпероксидази і глутатіонредуктази.

Застосування Ронколейкіну дозою 0,01 мг/кг вірогідно стабілізує функціональну активність мітохондрій головного мозку щурів із фокальним інсультом, що підтверджується блокуванням відкриття мітохондріальних пор (на фоні ініціації їх циклоспорином). На моделі фокального інсульту у щурів мітопротекторна дія Ронколейкіну була подібна до дії Тіотріазоліну, з максимальним проявом активності на 18-ту добу дослідження.

Ронколейкін дозою 0,01 мг/кг нормалізує стан ферментів тіол-дисульфідної системи (глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази), що приводить до нормалізації рівнів відновлених форм глутатіону та тіолів на фоні зниження їх окиснених форм у клітинах головного мозку щурів із експериментальним фотоіндукованим тромбозом. Активність Ронколейкіну щодо стабілізації тіол-дисульфідної системи більш виражена у відновлювальному періоді після ішемії, подібна до дії Тіотріазоліну та перевищує її.

Отже, Ронколейкін проявляє значний мітопротективний ефект при постгіпоксичних ушкодженнях, що дозволяє розглядати його як перспективний засіб у комплексній терапії постішемічних станів, зокрема для ефективного захисту тканини мозку.

ЛІТЕРАТУРА

1. Аكوпова Л. В. Снижение чувствительности митохондрий к Ca^{2+} -зависимому открытию поры в условиях длительной инкубации / Л. В. Аكوпова, В. Ф. Сагач // Украинский биохимический журнал. — 2004. — Т. 76, № 35. — С. 61–65.



2. *Асатиани В. С.* Ферментные методы анализа / В. С. Асатиани. – М. : Наука, 1969. – 739 с.
3. *Беридзе М. З.* Динамика азот-зависимого оксидантного стресса в острой стадии ишемического инсульта / М. З. Беридзе, М. К. Мегрешвили, Р. П. Шакаришвили // Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова (приложение «Инсульт»). – 2005. – № 13. – С. 58–62.
4. *Жданов Г. Н.* Изучение содержания провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови больных в остром периоде ишемического инсульта / Г. Н. Жданов, М. М. Герасимова // Цитокины и воспаление. – 2006. – Т. 5, № 1. – С. 27–30.
5. *Кетлинский С. А.* Цитокины / С. А. Кетлинский, А. С. Симбирцев – СПб. : Фолиант, 2008. – 552 с.
6. *Изучение глутатиона и ферментов его метаболизма у больных старших возрастных групп с хронической церебральной ишемией* / В. И. Кулинский, Л. С. Колесниченко, В. В. Шпрах [и др.] // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2005. – Т. 1 (39). – С. 63–65.
7. *Защищающие и повреждающие эффекты периодической гипоксии: роль оксида азота* / Е. Б. Манушина, Х. Ф. Дауни, Р. Т. Маллет [и др.] // Вестник РАМН. – 2007. – № 2. – С. 27–33.
8. *Прохорова М. И.* Современные методы в биохимии (углеводный и энергетический обмен) / М. И. Прохорова. – Л. : Изд-во ЛГУ, 1986. – 368 с.
9. *Путилина М. В.* Комбинированная нейропротекторная терапия острых нарушений мозгового кровообращения / М. В. Путилина // Consilium Medicum. – 2009. – Т. 11, № 2. – С. 28–39.
10. *Рациональная нейропротекция* / И. Ф. Беленичев, В. И. Черный, Ю. М. Колесник [и др.] – Донецк : Изд. дом «Заславский», 2009. – 261 с.
11. *Фактор транскрипции HIF-1 α* , белки срочного ответа и резистентность мембранных структур в динамике после острой гипоксии / Т. Г. Сазонтова, А. Г. Жукова, Н. А. Анчишкина [и др.] // Вестник РАМН. – 2007. – № 2. – С. 17–25.
12. *Симбирцев А. С.* Цитокины: Классификация и биологические функции / А. С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2004. – Т. 3, № 2. – С. 16–22.
13. *Скворцова В. И.* Механизмы повреждающего действия церебральной ишемии и новые терапевтические стратегии / В. И. Скворцова // Инсульт. – 2003. – № 9. – С. 20–22.
14. *Bacigaluppi M.* New targets of neuroprotection in ischemic stroke / M. Bacigaluppi, D. M. Hermann // Scientific World J. – 2008. – Vol. 13 (8). – P. 698–712.
15. *Blum A.* Role of cytokines in heart failure / A. Blum, H. Miller // Am. Heart. J. – 1998. – Vol. 135. – P. 181–186.
16. *Dhar-Mascareno M.* Hypoxia — reoxygenation-induced mitochondrial damage and apoptosis in human endothelial cells / M. Dhar-Mascareno, J. M. Caceramo // Free Radic. Biol. Med. – 2005. – Vol. 38, N 10. – P. 1548–1554.
17. *Dietrich W. D.* Cerebral endothelial microvilli: Formation following global cerebral ischemia / W. D. Dietrich, R. Busto, M. D. Ginsburg // J. Neuropathol. Exp. Neurol. – 1984. – Vol. 43. – P. 72–83.
18. *Donnan G. A.* A New Road Map for Neuroprotection. The 2007 Feinberg Lecture / G. A. Donnan // Stroke. – 2008. – Vol. 39. – P. 242–251.
19. *Green A. R.* Pharmacological approaches to acute ischaemic stroke: reperfusion certainly, neuroprotection possibly / A. R. Green // Br. J. Pharmacol. – 2008. – Vol. 153 (Suppl. 1). – P. 325–338.
20. *Olesen J.* Consensus document on European brain research / J. Olesen, M. G. Baker, T. Freund [et al.] // J. Neurol. Neurosurg. Psychiat. – 2006. – Vol. 77. – P. 1–49.
21. *Rosamond W.* Heart Disease and Stroke Statistics – 2008 Update. A Report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee / W. Rosamond // Circulation. – 2008. – Vol. 117. – P. 25–146.
7. *Manukhina E.B., Dauni H.F., Mallet R.T. et al.* Protective and damaging effects of periodic hypoxia: role of azote oxide. *Bullein RAMS* 2007; 2: 27-33.
8. *Prokhorova M.I.* Modern methods in biochemistry (carbohydrative and energatic metabolism). L., Press LGU, 1986. 368 p.
9. *Putilina M.V.* Combined neuroprotective therapy of acute disorder of brain circulation. *Consilium Medicum* 2009; 11, 2: 28-39.
10. *Belenichev I.F., Cherniy I.F., Kolesnik J.M. et al.* Rational neuroprotection. Donetsk, Izd. Dom Zaslavski, 2009. 261 p.
11. *Sazonova T.G., Zukova A.G., Anchishkina N.A. [and others]* Factor of transcription HIF-1 α , proteins of immdiate response and resistance of membrane structure in dynamics after acute hypoxia. *Bullein RAMS* 2007; 2: 17-25.
12. *Simbirtsev A.S.* Cytokines: Classification and biological functions. *Cytokines and inflammation* 2004; 3, 2: 16-22.
13. *Skvortsova V. I.* Mechanisms of damaging action of cerebral ischemia and new therapeutic strategy. *Stroke* 2003; 9: 20-22.
14. *Bacigaluppi M., Hermann D.M.* New targets of neuroprotection in ischemic stroke. *Scientific World J.* 2008; 13 (8): 698-712.
15. *Blum A., Miller H.* Role of cytokines in heart failure. *Am. Heart. J.* 1998; 135: 181-186.
16. *Dhar-Mascareno M., Caceramo J.M.* Hypoxia — reoxygenation-induced mitochondrial damage and apoptosis in human endothelial cells. *Free Radic. Biol. Med.* 2005; 38, 10: 1548-1554.
17. *Dietrich W.D., Busto R., Ginsburg M.D.* Cerebral endothelial microvilli: Formation following global cerebral ischemia. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 1984; 43: 72-83.
18. *Donnan G.A.* A New Road Map for Neuroprotection. The 2007 Feinberg Lecture. *Stroke* 2008; 39: 242-251.
19. *Green A.R.* Pharmacological approaches to acute ischaemic stroke: reperfusion certainly, neuroprotection possibly. *Br. J. Pharmacol.* 2008; 153 (Suppl. 1): 325-38.
20. *Olesen J., Baker M.G., Freund T. [et al.]* Consensus document on European brain research. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 2006; 77: 1-49.
21. *Rosamond W.* Heart Disease and Stroke Statistics – 2008 Update. A Report From the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation* 2008; 117: 25-146.

REFERENCES

Надійшла 4.09.2012

