

А. В. Демченко, І. Ф. Беленічев

## Оцінювання впливу тіоцетаму на глутатионову ланку тіол-дисульфідної системи головного мозку в умовах експериментальної хронічної ішемії

Запорізький державний медичний університет

**Ключові слова:** ішемія мозку, тіоцетам.

Фармакологічна корекція патологічних змін при церебральній ішемії є актуальним завданням. З метою вивчення нейропротективних властивостей і впливу тіоцетаму на когнітивні функції в умовах модельованої хронічної ішемії мозку здійснили дослідження на 45 білих щурах із використанням біохімічних, імуноферментних, фармакологічних і статистичних методів. Визначили здатність тіоцетаму позитивно впливати на процеси запам'ятовування в експериментальних тварин і молекулярно-біохімічні зміни в тканинах ішемізованого головного мозку, що проявилось підвищенням вмісту відновленого глутатіону, активності антиоксидантних ферментів глутатионової ланки, відновленням тіол-дисульфідного статусу клітини, зниженням вмісту нітротирозину. Результати свідчать про зниження інтенсивності процесів оксидантного та нітрозуючого стресів, а також покращення когнітивних функцій в експериментальних тварин після нейропротективної дії тіоцетаму.

### Оценка действия тиоцетама на глутатионовое звено тиол-дисульфидной системы головного мозга в условиях экспериментальной хронической ишемии

А. В. Демченко, И. Ф. Беленичев

Фармакологическая коррекция патологических изменений при церебральной ишемии является актуальной задачей. С целью изучения нейропротекторных свойств и влияния на когнитивные функции тиоцетама в условиях моделированной хронической ишемии мозга проведено исследование на 45 белых крысах с использованием биохимических, иммуноферментных, фармакологических и статистических методов. Установлено положительное влияние тиоцетама на процессы запоминания и молекулярно-биохимические изменения в тканях головного мозга экспериментальных животных, что проявилось повышением содержания восстановленного глутатиона, активности антиоксидантных ферментов глутатионового звена, возобновлением тиол-дисульфидного статуса клетки, снижением содержания нитротирозина. Результаты свидетельствуют о снижении интенсивности процессов оксидантного и нитрозирующего стрессов, а также об улучшении когнитивных функций у экспериментальных животных после нейропротекторного действия тиоцетама.

**Ключевые слова:** ишемия мозга, тиоцетам.**Патология.** – 2015. – №2 (34). – С. 101–105

### Estimation of thioacetam influence on glutathione link of thiol disulfide cerebral system in conditions of experimental chronic ischemia

A. V. Demchenko, I. F. Belenichev

**Aim.** Pharmacological remodeling of pathologic changes when cerebral ischemia takes place is actual task for today. With the purpose of thioacetam neuroprotective properties studying in conditions of experimental chronic cerebral ischemia the investigations of 45 white rats with simulated chronic cerebral ischemia have been carried out.

**Methods and results.** A number of biochemical, enzyme immunoassay, pharmacological and statistic methods of investigation were used. Positive thioacetam influence on molecular and biochemical changes in brain of laboratory animals subjected to ischemia is established. This influence is showed in decreasing processes of oxidative and nitrosative stresses: increasing of reduced glutathione contents, activity of antioxidant enzymes of glutathione link, recreation of thiol disulfide state of a cell, decreasing of neurotoxic compound contents of nitrotyrosine in cerebral tissue.

**Conclusion.** A positive influence of thioacetam on remembering processes among laboratory animals with simulated chronic cerebral ischemia has been noted.

**Key words:** Brain ischemia, Thioacetam.**Pathologia.** 2015; №2 (34): 101–105

Розуміння механізмів загибелі нейрона та фармакологічна корекція цих процесів при церебральній ішемії є однією з центральних проблем сучасної нейрофармакології. За сучасними уявленнями, нейродеструкція ішемічного генезу супроводжується розвитком складних патобіохімічних реакцій у нейроні, а саме енергетичного дисметаболізму, трансміттерного аутокоїдозу, формуванням стійкої мітохондріальної дисфункції, гіперпродукцією активних форм кисню та оксиду азоту (NO) [2]. Виявили підвищення концентрації NO у тканині мозку тварин при фокальній і глобальній ішемії. У

розширенні уявлень про механізми цитотоксичності NO та загибелі нейронів особливої уваги заслуговує тіол-дисульфідна система. Інтермедіати тіол-дисульфідної системи характеризуються транспортними властивостями щодо NO, підвищуючи його біодоступність. Багато тіолів (глутатіон, цистеїн, метіонін) здатні значно обмежити цитотоксичність NO та його дериватів, що збільшує шанси нейрона «вижити» при ішемії [9].

При ішемічному ушкодженні мозкової тканини особливо вразливим є гіпокамп, який бере участь у механізмах пам'яті, навчання, забезпечення пізнавальної діяльності людини та тварин [1].

Отже, перспективним напрямом сучасної нейропротекції вважаємо фармакологічну регуляцію стану тіол-дисульфідної системи й оксиду азоту нейрона. Численні експериментальні та клінічні дослідження показали доцільність застосування комплексного препарату тіоцетам [4,7]. Фармакологічний ефект тіоцетаму забезпечується дією фіксованої комбінації пірацетаму та тіотріазоліну. Наявність у його хімічній структурі тіольних груп, що здатні утворювати стійкі комплекси, котрі конкурують за активні форми кисню й пероксинітрид із SH-групами цистеїнзалежної ділянки білка внутрішньої мембрани мітохондрій, дає змогу запобігти відкриттю мітохондріальної пори в умовах оксидантного та нітрозуючого стресів, забезпечуючи нейропротективний ефект [2].

Недостатньо вивченою є роль глутатіонової ланки тіол-дисульфідної системи в механізмах вторинного ураження мозкової тканини, що призводить до розвитку когнітивного дефіциту, а також неоціненний вплив тіоцетаму на ендогенну систему нейропротекції при хронічній ішемії мозку (ХІМ).

### Мета роботи

Вивчити нейропротективні властивості тіоцетаму в умовах експериментальної ХІМ і його вплив на активність антиоксидантних ферментів глутатіонової ланки тіол-дисульфідної системи головного мозку та когнітивні функції в експериментальних тварин.

### Матеріали і методи дослідження

Дослідження здійснили на білих щурах обох статей масою 180–200г, яких одержали з розплідника ДУ «Інститут фармакології і токсикології АМН України» (м. Київ). Тривалість карантину (акліматизаційного періоду) для всіх тварин становила 14 днів. Протягом карантину кожну тварину щоденно оглядали, оцінювали поведінку та загальний стан. Тварин утримували у стандартних умовах віварію, при вільному доступі до води і стандартного гранульованого корму. Усі експериментальні процедури здійснювали згідно з «Положенням про використання тварин у біомедичних дослідженнях».

Оскільки мета роботи полягала в оцінюванні активності антиоксидантних ферментів глутатіонової ланки тіол-дисульфідної системи за результатом дії нейропротектора тіоцетаму в умовах церебральної ішемії, нам були необхідні моделі експериментальної патології головного мозку, які б відповідали клінічним ситуаціям при ХІМ.

Для цього виконали незворотну двобічну перев'язку загальних сонних артерій експериментальним тваринам, враховуючи видові анатомо-фізіологічні особливості кровопостачання головного мозку білих щурів. При цьому спостерігали відповідний неврологічний дефіцит, когнітивні порушення та біохімічні зміни тканини головного мозку [8].

Експеримент здійснили в експериментальній операційній після кварцювання та обробки антисептиками при температурі 19–20°C. Шерсть у місці операції виголювали, операційне поле обробляли діамантовим зеленим. Двобічну перев'язку загальних сонних артерій

виконували під тіопенталовим наркозом (40 мг/кг) із використанням хірургічного доступу, виділенням сонних артерій, одночасним накладенням на них шовкових лігатур. Враховуючи високу смертність цієї експериментальної моделі, оперували таку кількість тварин, щоб на 21 добу в кожній групі було по 15 тварин. Псевдооперованим тваринам розрізали й ушивали шкіру.

Нейропротективну дію тіоцетаму оцінювали за активністю ферментів системи глутатіону в корі головного мозку та вираженістю когнітивного дефіциту у тварин у відновному періоді після експериментального порушення мозкового кровообігу.

Тварин, які відповідали критеріям включення до експерименту, перед початком дослідження поділили на групи методом рандомізації:

- 1) тварини з ХІМ, які отримували тіоцетам у дозі 250 мг/кг (n=15);
- 2) контрольні – тварини з ХІМ, які отримували фізіологічний розчин у дозі 2 мл/кг (n=15);
- 3) псевдооперовані тварини (n=15).

Тіоцетам вводили внутрішньочеревно 1 раз на добу протягом 21 дня, починаючи з першого дня, відразу після виходу тварини з наркозу. Щурів виводили з експерименту на 21 добу спостереження під тіопенталовим наркозом (40 мг/кг).

Досліджували показники глутатіонової ланки тіол-дисульфідної системи: активність глутатіонтрансферази (ГТ), глутатіонредуктази (ГР) і глутатіонпероксидази (ГПО); концентрацію відновленого глутатіону, відновлення (SH)-груп тіолів [8].

Для біохімічних досліджень використовували гомогенат тканини головного мозку, який був витягнутий на холоді. Тканину головного мозку подрібнювали у 0,25 М сахарозному буфері за допомогою гомогенізатора Silent Crusher S фірми Heidolph. Вміст білка визначали прямою спектрофотометрією при  $\lambda=280$  нм [10]. Активність ферментів і вміст тіолів, які досліджували, виражали в розрахунку на 1 г білка. Також визначали концентрацію маркера нітрозуючого стресу – нітротирозину – в цитозольній фракції гомогенату кори головного мозку твердофазним імуносорбентним сендвіч-методом ELISA, ELISAKit (Cat.№ НК 501-02) фірми Hycult Biotech.

На 20 добу експерименту проводили навчання умовному рефлексу пасивного уникнення (УРПУ) за стандартною методикою [3]. Через 24 години здійснили тестування виробленого досвіду. Про ступінь запам'ятовування тваринами електрошоку судили за різницею латентних періодів переходу їх у темну камеру при виробленні УРПУ та тестуванні його збереження.

Результати дослідження опрацювали із застосуванням статистичного пакета ліцензійної програми «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoftInc., США, № AXXR712D833214FAN5), а також «Microsoft Excel 2010». Статистичне опрацювання виконали, використовуючи U-критерій Манна – Уїтні. Результати наведені у вигляді медіани значень та 25–75% міжквартильного інтервалу – Me (Q1-Q3). Показники двох зв'язаних вибірок порівнювали за допомогою парного непараметричного T-критерію Вілкоксона ( $p<0,05$ ).

**Результати та їх обговорення**

У результаті експериментального дослідження встановили, що ХІМ призводить до зниження активності антиоксидантних ферментів глутатіонової ланки та змін тіол-дисульфідної рівноваги клітини у вигляді зменшення вмісту її відновних форм (табл. 1, 2). У тварин із модельованою ХІМ спостерігали зниження активності ензимів глутатіонзалежної ланки: ГТ – на 48,3%, ГР – на 71,1%, ГПО – на 79,2%. Відзначили збільшення в 3,4 раза кількості нейротоксичного маркера нітрозуючого стресу – нітротирозину. Такі зміни свідчать про наявність оксидантного та нітрозуючого стресів у тканині мозку експериментальних тварин із ХІМ.

Протягом досліджень останніх років виявили: NO і, особливо, продукти його перетворення (пероксинітрил (ONOO<sup>-</sup>), іон нітрозонію (NO<sup>+</sup>), нітроксил (NO<sup>-</sup>) і діазоттріоксид (N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)) є основними чинниками реалізації нітрозуючого стресу, в результаті якого відбувається пряма взаємодія NO з металами, а також непряма взаємодія з тіольними, фенольними, гідроксильними й амініними групами білків і ДНК. Така взаємодія призводить до десенситизації рецепторів, пригнічення активності мітохондріальних ферментів і фрагментації нуклеїнових кислот [5].

Отже, NO є потужним нітрозуючим агентом, мішенями якого можуть бути нуклеофільні групи активних тіолів, аміни, карбоксили, гідроксили й ароматичні кільця. Наявність у нейроні доволі активної тіольної антиоксидантної системи, котра здатна регулювати транспорт NO, забезпечує стійкість клітини до нітрозуючого стресу – найбільш раннього нейро-деструктивного механізму в умовах ішемії, коли при інгібуванні антиоксидантних ферментів (ГТ і ГР) відбувається окислювальна модифікація низькомолекулярних тіолів та утворення гомоцистеїну і, як наслідок, порушення транспорту NO з утворенням його цитотоксичних дериватів, які

підсилюють окислення тіолів. Пригнічення електронного транспорту в мітохондріях призводить до генерації супероксиду й утворення пероксинітрилу, який є специфічним агентом незворотного пригнічення мітохондріального дихання при ішемії мозку, призводить до зниження заряду мітохондрій, а також може ініціювати апоптичний процес, а за відсутності глюкози – некроз [6].

Експериментальні дослідження засвідчили: призначення тіоцетаму призводило до підвищення активності антиоксидантних ферментів ГТ, ГР і ГПО (табл. 1). Після курсового застосування тіоцетаму відзначили вірогідне зниження вмісту нітротирозину ( $p < 0,0001$ ).

Виявили позитивний вплив тіоцетаму на стан компонентів глутатіонової ланки тіол-дисульфідної системи, що проявився підвищенням кількості SH-груп і відновленого глутатіону.

Особливий інтерес викликають наукові дані щодо ефективності тіоцетаму при моделюванні різних форм ішемії головного мозку. Зокрема, при застосуванні тіоцетаму зменшувалась кількість змінених унаслідок ішемії нейронів, прояви периваскулярного та перичелюлярного набряків, кількість капілярів, які спалися. Це стало провідним патогенетичним фактором призначення препарату для запобігання загибелі нейронів. Тіоцетам значно активує проліферацію клітин глії та їхню функцію, викликає посилення сателітозу, що стало головним чинником забезпечення життєдіяльності нейронів при ішемічних ушкодженнях головного мозку будь-якої етіології. Тіоцетам гальмує активність вільнорадикальних реакцій в ішемізованому мозку, вірогідно знижуючи накопичення біотоксичних продуктів (альдегідів, кетонів), обмежуючи їхню нейродеструктивну дію на нейрони [2].

Доведено, що і фокальна, і глобальна ішемії головного мозку супроводжуються ураженням гіпокампа та, як наслідок, призводять до когнітивної дисфункції [1].

В експериментальній групі тварин із модельованою

Таблиця 1

**Активність ферментів глутатіонової ланки тіол-дисульфідної системи та нітротирозину в корі головного мозку експериментальних тварин із ХІМ**

Показники, одиниці вимірювання	Групи тварин		
	ХІМ + тіоцетам, 250 мг/кг (n=15)	ХІМ (контроль) (n=15)	Псевдооперовані (інтакт) (n=15)
ГТ, мкмоль/(хв*г білка)	8,52 (7,38–10,64)*	5,64 (4,39–6,44) †	10,91 (10,06–13,61)
ГР, мкмоль/(хв*г білка)	8,04 (6,39–10,05)*	4,29 (3,30–5,36) †	14,85 (11,54–18,88)
ГПО, ммоль/(хв*г білка)	2,60 (2,16–3,11)*	1,26 (0,77–1,74) †	6,06 (4,38–8,01)
Нітротирозин, нмоль/г білка	10,78 (9,28–11,72)*	23,56 (17,77–31,67) †	7,02 (5,81–8,22)

Примітки: \* –  $p < 0,0001$  щодо групи тварин із ХІМ; † –  $p < 0,0001$  щодо групи псевдооперованих тварин (інтакт).

Таблиця 2

**Показники тіол-дисульфідної системи в корі головного мозку експериментальних тварин із ХІМ**

Показники, одиниці вимірювання	Групи тварин		
	ХІМ + тіоцетам, 250 мг/кг (n=15)	ХІМ (контроль) (n=15)	Псевдооперовані (інтакт) (n=15)
SH-групи, мкмоль/г білка	18,73 (17,62–21,46)*	6,46 (4,72–8,00) †	29,85 (27,17–35,79)
Глутатіон відновний, мкмоль/г білка	2,45 (2,34–3,09)*	0,68 (0,56–0,74) †	3,91 (3,72–4,15)

Примітки: \* –  $p < 0,0001$  щодо групи тварин із ХІМ; † –  $p < 0,0001$  щодо групи псевдооперованих тварин (інтакт).

ХІМ (контроль) унаслідок ішемічного ушкодження мозкової тканини спостерігали розвиток когнітивного дефіциту – латентний час заходження тварин у темний відсік за тестом УРПУ зменшився на 92,2% ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з псевдооперованими тваринами (інтакт).

Після нейропротективної терапії тіоцетамом (рис. 1) відзначили збільшення часу латентного періоду на 60,0% ( $p < 0,001$ ), що свідчило про покращення когнітивних функцій і процесу запам'ятовування в експериментальних тварин.

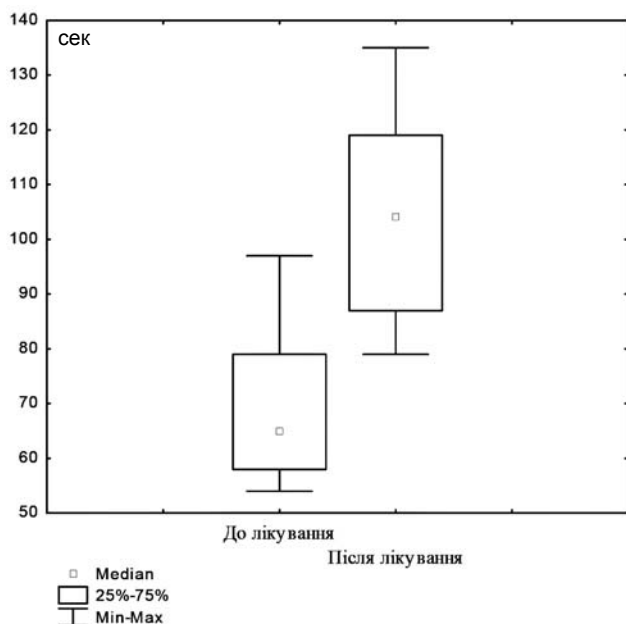


Рис. 1. Динаміка латентного часу заходження тварин, які отримували тіоцетам, у темний відсік за тестом УРПУ.

Отже, виявили позитивний нейропротективний вплив тіоцетаму на показники тіол-дисульфідної системи нейрону та нівелювання проявів нітрозуючого стресу. Така дія тіоцетаму пов'язана з наявністю в його складі 3-метил-1,2,4-тріазоліл-5-тіоацету, що є специфічним скаведжером цитотоксичних дериватів NO. Тіоцетам сприяє підвищенню біодоступності NO, запобігаючи

утворенню пероксинітриду та його маркера в нервовій тканині – нітротирозину. Тіоцетам мав виражену позитивну дію щодо активності антиоксидантних ферментів глутатіонової ланки у вигляді підвищення активності ГТ, ГР і ГПО, що пояснюється участю тіоцетаму в підтримуванні тіол-дисульфідної рівноваги у клітині. Саме тому це мало вирішальне значення в підтримуванні гомеостазу мозкової тканини в умовах хронічної ішемії. Крім того, механізм відновлення активності ГПО та ГР, що виконують нейропротективну функцію, пов'язаний із підвищенням концентрації відновленого глутатіону.

Отже, результати експериментальної нейропротективної терапії у білих щурів із модельованою ХІМ свідчать про антиоксидантні властивості тіоцетаму, що полягають у нівелюванні інтенсивності процесів оксидантного (підвищення вмісту відновленого глутатіону, активність антиоксидантних ферментів глутатіонової ланки, відновлення тіол-дисульфідного статусу клітини) та нітрозуючого стресу (зниження в мозковій тканині вмісту нейротоксичної сполуки нітротирозину). Крім того, в експериментальних тварин тіоцетам покращував процес запам'ятовування, що проявилось у збільшенні часу латентного періоду на 60,0% ( $p < 0,001$ ) за тестом УРПУ та свідчило про покращення когнітивних функцій.

#### Висновки

1. В умовах модельованої ХІМ в експериментальних тварин спостерігали зниження активності антиоксидантних ферментів глутатіонової ланки тіол-дисульфідної системи головного мозку та активацію нітрозуючого стресу зі збільшенням вмісту його маркера – нітротирозину.

2. Застосування препарату тіоцетам у дозі 250 мг/кг в експериментальних тварин із модельованою ХІМ призводило до зниження інтенсивності процесів оксидантного та нітрозуючого стресів, що свідчило про активацію тіол-дисульфідної системи нейрона та підвищення стійкості мозкової тканини до хронічної ішемії.

3. Виявили позитивний вплив тіоцетаму на процеси запам'ятовування в експериментальних тварин із модельованою ХІМ.

#### Список літератури

1. Арушанян Э.Б. Гиппокамп и нарушения познавательной деятельности / Э.Б. Арушанян, Э.В. Бейер // Журнал неврологии и психиатрии. – 2007. – №7. – С. 72–77.
2. Беленічев І.Ф. Рациональная нейропротекция / И.Ф. Беленічев, В.И. Черний, Ю.М. Колесник. – Донецк : Заславский, 2009. – 261 с.
3. Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Д. Хьюстон. – М. : Высшая школа, 1991. – 527 с.
4. Оцінка ефективності тіоцетаму у хворих на дисциркуляторну енцефалопатію / Н.В. Васильєва, І.І. Білоус, О.Б. Яремчук, О.О. Жуковський // Вісник наукових досліджень. – 2011. – №4. – С. 138–139.
5. Губский Ю.И. Токсикологические последствия окислительной модификации белков при различных патологических состояниях (обзор литературы) / Ю.И. Губский, И.Ф. Беленічев, С.В. Павлов // Современные проблемы токсикологии. – 2005. – №3. – С. 20–26.
6. Досенко В.Є. Патолофізіологічні аспекти генетичного поліморфізму ендотеліальної NO-синтази / В.Є. Досенко, В.Ю. Загорій, О.О. Мойбенко // Фізіологічний журнал. – 2002. – Т. 48. – №6. – С. 86–101.
7. Козелкин А.А. Динамика когнитивных расстройств у больных с хронической недостаточностью мозгового кровообращения на фоне комплексного лечения с применением препарата Тиоцетам / А.А. Козелкин, С.А. Козелкина, А.Н. Черкез // Международный неврологический журнал. – 2006. – №5(9). – С. 57–60.
8. Чекман І.С. Доклінічне дослідження специфічності активності потенціальних нейропротективних препаратів / І.С. Чекман, Ю.І. Губський, І.Ф. Беленічев. – К. : ГФЦ МЗ України, 2010. – 81 с.
9. Superoxide, nitric oxide, peroxynitrite and cytokine combinations all cause functional impairment and morphological changes in rat islets of Langerhans and insulin secreting cell lines, but dictate cell death by different mechanisms / M.A. Di Matteo, A.C. Loweth, S. Thomas //

- Apoptosis. – 1997. – №2. – P. 164–169.
10. Protein measurement with the folin phenol reagent / O.H. Lowry, N.J. Rosebrough, A.L. Farr, R.J. Randall // *J. Biol. Chem.* – 1951. – №193. – P. 265–275.
- References**
1. Arushanyan, E. B., & Beier, E. V. (2007). Gippokamp i narusheniya poznavatel'noj deyatel'nosti [Hippocampus and cognitive disturbances]. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii*, 7, 72–77. [in Russian].
  2. Belenichev, I. F. Chernij, V. I., & Kolesnyk, Yu. M. (2009). *Racional' naya nejroproteksiya [Rational neuroprotection]*. Doneck: Zaslavskij. [in Ukrainian].
  3. Buresh, Ya., Bureshova, O., & H'yuston, D. (1991). *Metodiki i osnovnye e'ksperimenty po izucheniyu mozga i povedeniya [Methods and principle experiments of studying brain and behaviour]* Moscow: Vysshaya shkola. [in Russian].
  4. Vasylieva, N. V., Bilous, I. I., Yaremchuk, O. B., & Zhukovskiy, O. O. (2011). Otsinka efektyvnosti tiotsetamu u khvorykh na dystsyirkuliatornu entsfalopatiyu [Estimation of efficiency of thioacetam in patients with dyscirculatory encephalopathy]. *Visnyk naukovykh doslidzhen*, 4, 138–139. [in Ukrainian].
  5. Gubskij, Yu. I., Belenichev, I. F., & Pavlov, S. V. (2005). Toksikologicheskie posledstviya oksidativnoy modifikatsii belkov pri razlichnykh patologicheskikh sostoyaniyakh (obzor literatury) [Toxicological consequences of oxidative modification of proteins in different pathological states (survey of literature)]. *Sovremennye problemy toksikologii*, 3, 20–26. [in Ukrainian].
  6. Dosenko, V. Ye., Zahorii, V. Yu., & Moibenko, O. O. (2002). Patofiziologichni aspekty henetychnoho polimorfizmu endotelialnoi NO-syntazy [Pathophysiological aspects of endothelial NO-synthase genetic polymorphism]. *Fiziologichniy zhurnal*, 48(6), 86–101. [in Ukrainian].
  7. Kozelkin, A. A., Kozelkina, S. A., & Cherkez, A. N. (2006). Dinamika kognitivnykh rasstrojstv u bol'nykh s khronicheskoy nedostatochnost'yu mozkovogo krovoobrascheniya na fone kompleksnogo lecheniya s primeneniem preparata Tiocetam [Dynamics of cognitive diseases among patients with chronic cerebral circulatory insufficiency against the background of holiatry treatment using Tiocetam]. *Mezhdunarodnyy nevrologicheskij zhurnal*, 5, 57–60. [in Ukrainian].
  8. Chekman, I. S., Gubskij, Yu. I., & Belenichev, I. F. (2010). *Doklinicheskoe izuchenie specificheskoy aktivnosti potencial'nykh nejroprotektivnykh preparatov [Pre-clinical studying of potential neuroprotective medicines specific activity]*. Kyiv: GFC MZ Ukrainy. [in Ukrainian].
  9. Di Matteo, M. A., Loweth, A. C., Thomas, S., Mabley, J. G., Morgan, N. G., Thorpe, J. R., & Green, I. C. (1997). Super-oxide, nitric oxide, peroxynitrite and cytokine combinations all cause functional impairment and morphological changes in rat islets of Langerhans and insulin secreting cell lines, but dictate cell death by different mechanisms. *Apoptosis*, 2, 164–169. doi: 10.1023/A:1026412414666.
  10. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 265–275.

**Відомості про авторів:**

Демченко А.В., к. мед. н., асистент каф. сімейної медицини, кардіології і терапії ФПО, Запорізький державний медичний університет, заступник директора, Університетська клініка Запорізького державного медичного університету, E-mail: alina.dem@mail.ru.

Беленічев І.Ф., д. мед. н., професор, зав. каф. фармакології та медичної рецептури, Запорізький державний медичний університет.

**Сведения об авторах:**

Демченко А.В., к. мед. н., асистент каф. семейной медицины, кардиологии и терапии ФПО, Запорожский государственный медицинский университет, заступник директора, Университетская клиника Запорожского государственного медицинского университета, E-mail: alina.dem@mail.ru.

Беленічев І.Ф., д. мед. н., профессор, зав. каф. фармакологии и медицинской рецептуры, Запорожский государственный медицинский университет.

**Information about authors:**

Demchenko A.V., MD, PhD, Assistant of the Department of Family Medicine, Cardiology and Therapy of FPE, Zaporizhzhia State Medical University, Deputy Director, University Clinic of Zaporizhzhia State Medical University, E-mail: alina.dem@mail.ru.

Belenichev I.F., MD, PhD, DSci, Professor, Head of the Department of Pharmacology and Medical Formulation, Zaporizhzhia State Medical University.

Надійшла в редакцію 03.03.2015 р.