

Т. М. Бойчук, С. С. Ткачук, О. М. Ніка

Модифікуючий вплив цукрового діабету на реакцію р53-залежних проапоптотичних механізмів гіпокампа щурів у динаміці ішемічно-реперфузійного пошкодження головного мозку

ВДНЗ «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці, Україна

Ключові слова: гіпокамп, цукровий діабет, ушкодження головного мозку, ішемічно-реперфузійні ураження, апоптоз.

Механізм загибелі клітин гіпокампа за умов ускладнення цукрового діабету (ЦД) гострими порушеннями церебрального кровообігу присвячені поодинокі дослідження, хоча частота ішемічно-реперфузійних уражень головного мозку на тлі діабету набагато перевищує таку в загальній популяції.

Мета роботи – вивчити стан р53-залежних проапоптотичних механізмів у полях гіпокампа в динаміці ішемічно-реперфузійного пошкодження головного мозку в щурів з експериментальним ЦД.

Матеріали та методи. У нейронах полів гіпокампа щурів з експериментальним ЦД методом імунофлуоресценції з використанням моноклональних антитіл вивчали вміст білка р53 в динаміці неповної глобальної ішемії-реперфузії головного мозку. ЦД моделювали одноразовим внутрішньочеревним введенням стрептозотоцину (Sigma, США, 60 мг/кг). Результати оцінювали після 20-хвилинної каротидної ішемії з одностороннім реперфузією та на 12 добу постішемічного періоду.

Результати. Після 20-хвилинної ішемії-односторонньої реперфузії в щурів без ЦД та з його наявністю активність р53-проапоптотичних процесів зростає в усіх полях гіпокампа, однак у щурів останньої групи її показники вірогідно перевищують такі в полях гіпокампа СА1, СА3, СА4 щурів без діабету. На 12 добу постішемічного періоду в полях гіпокампа СА1–СА3 в щурів без діабету проапоптотична активність залишається підвищеною, а в полі СА4 нормалізується. У щурів із ЦД у цей період активність р53-проапоптотичних процесів залишається підвищеною в полі СА1, повертається до рівня в щурів із діабетом у полі СА2 та знижується в полях СА3 і СА4.

Висновки. ЦД кількісно модифікує реакцію продукту проапоптотичного гена р53 на ішемічно-реперфузійне ушкодження головного мозку в ранньому постішемічному періоді в полях гіпокампа СА1–СА3 та якісно – на 12 добу постішемічного періоду в полях гіпокампа СА2–СА4.

Патологія. – 2016. – №3 (38). – С. 9–13

Модифицирующее влияние сахарного диабета на реакцию р53-зависимых проапоптотических механизмов гиппокампа крыс в динамике ишемически-реперфузионного повреждения головного мозга

Т. Н. Бойчук, С. С. Ткачук, О. М. Ніка

Механизм гибели клеток гиппокампа в условиях осложнения сахарного диабета (СД) острыми нарушениями мозгового кровообращения посвящены лишь единичные исследования, хотя частота ишемически-реперфузионных повреждений головного мозга на фоне диабета намного превышает таковую в общей популяции.

Цель работы – изучить состояние р53-зависимых проапоптотических механизмов в полях гиппокампа в динамике ишемически-реперфузионного повреждения головного мозга у крыс с экспериментальным СД.

Материалы и методы. В нейронах полей гиппокампа крыс с экспериментальным СД методом иммунофлуоресценции с использованием моноклональных антител изучали содержание белка р53 в динамике неполной глобальной ишемии-реперфузии головного мозга. СД моделировали однократным внутривентральным введением стрептозотоцина (Sigma, США, 60 мг/кг). Результаты оценивали после 20-минутной каротидной ишемии с односторонней реперфузией и на 12 сутки постшемического периода.

Результаты. После 20-минутной ишемии-односторонней реперфузии у крыс без СД и с его наличием активность р53-проапоптотических процессов возрастает во всех полях гиппокампа, однако у крыс последней группы её показатели достоверно превышают таковые в полях гиппокампа СА1, СА3, СА4 крыс без диабета. На 12 сутки постшемического периода в полях гиппокампа СА1–СА3 у крыс без диабета проапоптотическая активность остаётся повышенной, а в поле СА4 нормализуется. У крыс с СД в этот период активность р53-проапоптотических процессов остаётся повышенной в поле СА1, возвращается к уровню у крыс с диабетом в поле СА2 и снижается в полях СА3 и СА4.

Выводы. Сахарный диабет количественно модифицирует реакцию продукта проапоптотического гена р53 на ишемически-реперфузионное повреждение головного мозга в раннем постшемическом периоде в полях гиппокампа СА1–СА3 и качественно – на 12 сутки постшемического периода в полях гиппокампа СА2–СА4.

Ключевые слова: гиппокамп, сахарный диабет, ишемически-реперфузионные повреждения, повреждения головного мозга, апоптоз.

Патологія. – 2016. – №3 (38). – С. 9–13

The modifying effect of diabetes mellitus on the reaction of p53-dependent proapoptotic mechanisms of hippocampus of rats in dynamic of ischemic-reperfusion damage of brain

T. M. Boychuk, S. S. Tkachuk, O. M. Nika

A few studies are devoted to mechanisms of death of hippocampal cells under conditions of complications of diabetes mellitus (DM) with acute disorders of cerebral circulation, although the frequency of ischemic-reperfusion brain damage on a background of diabetes is much higher than that in the general population.

The objective of research is to study the state of p53-dependent proapoptotic mechanisms in the hippocampal fields in the dynamic of ischemic-reperfusion brain damage in rats with experimental diabetes mellitus.

Materials and methods. In neurons of hippocampal fields of rats with experimental DM content of p53 protein was studied by immunofluorescence using monoclonal antibodies in dynamic of incomplete global brain ischemia-reperfusion. The diabetes mellitus was modeled by single intraperitoneal injection of streptozotocin (Sigma, USA, 60 mg/kg). The results were estimated after a 20-minute carotic ischemia combined with one-hour reperfusion and on the 12th day of postischemic period.

Results. After 20 minutes of ischemia/one hour reperfusion, in rats without DM and with DM, the activity of p53 proapoptotic processes increased in all the fields of hippocampus, only in the last group of rats its indices significantly exceed these are in hippocampal fields CA1, CA3, CA4 of rats without diabetes. On the 12th day of postischemic period in hippocampal fields CA1-CA3 of rats without diabetes the proapoptotic activity remains high, and in the field CA4 returns to normal level. In this period, in rats with diabetes activity of p53 proapoptotic processes remains increased in the field of CA1, returns to the level in rats with diabetes in the field of CA2, and decreases – in the fields CA3 and CA4.

Conclusions. Diabetes mellitus quantitatively modifies the reaction of product of proapoptotic gene of p53 protein to the ischemic-reperfusion injury of the brain in the early postischemic period in the hippocampal fields CA1-CA3 and qualitatively – on the 12th day of postischemic period in hippocampal fields CA2-CA4.

Key words: *Hippocampus, Diabetes Mellitus, Brain Injuries, Ischemia-Reperfusion Injury, Apoptosis.*

Pathologia 2016; №3 (38): 9–13

У зв'язку з когнітивними розладами під час ЦД зміни морфофункціонального стану гіпокампа за цього страждання протягом останніх років почали привертати особливу увагу дослідників [4,10]. Показано, що в пацієнтів із ЦД розвивається когнітивний дефіцит, котрий пов'язаний зі змінами метаболізму в лівому гіпокампі, які діагностували методом магнітно-резонансної спектроскопії [8]. Експериментальне відтворення діабету в мишей дало змогу встановити тонші зміни в гіпокампі, зокрема порушення структури синапсів зі зниженням рівнів білка постсинаптичної щільності 95 і синаптосомально-асоційованого білка 25 (SNAP 25) [2].

Не менш суттєві зміни виникають у гіпокампі за умов його ішемічно-реперфузійного ушкодження [3,7]. Однак механізмам загибелі клітин гіпокампа при ускладненні ЦД гострими порушеннями церебрального кровообігу присвячені лише поодинокі дослідження [1].

Мета роботи

Вивчити стан p53-залежних проапоптичних механізмів у динаміці ішемічно-реперфузійного пошкодження головного мозку в щурів з експериментальним цукровим діабетом.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження виконані на самцях білих нелінійних щурів шести експериментальних груп: 1. Контрольні тварини; 2. Щури, яким моделювали двобічну 20-хвилинну каротидну ішемію з одноденною реперфузією; 3. Щури, яких виводили з експерименту на 12 добу після моделювання 20-хвилинної двобічної каротидної ішемії; 4. Щури з експериментальним ЦД; 5. Щури з ЦД, яким моделювали 20-хвилинну двобічну каротидну ішемію з одноденною реперфузією; 6. Щури з ЦД, яких виводили з експерименту на 12 добу після моделювання 20-хвилинної двобічної каротидної ішемії.

У роботі використали стрептозотоцинову модель ЦД (уведення стрептозоточину, Sigma, США, 60 мг/кг внутрішньочеревно) самцям щурів віком два місяці [1]. Через чотири місяці в щурів із ЦД та у групі щурів аналогічного віку без діабету під каліпсоловим наркозом (75 мг/кг) кліпсуванням обох загальних сонних арте-

рій протягом 20 хв моделювали двосудинну неповну глобальну ішемію мозку [9]. Наслідки ішемічно-реперфузійного пошкодження гіпокампа вивчали через одну годину від початку реперфузії (ранній ішемічно-реперфузійний період) та на 12 добу після моделювання ішемії (відстрочений ішемічно-реперфузійний період).

Формування ЦД підтверджували наявністю гіперглікемії та шляхом вивчення морфологічного стану підшлункової залози; експериментальні групи формували з щурів, в яких рівень глікемії дорівнював або перевищував 10 ммоль/л.

Після евтаназії тварин шляхом декапітації під каліпсоловим наркозом (75 мг/кг внутрішньочеревно) головний мозок якомога швидше вилучали в умовах низької температури, згідно з координатами стереотаксичного атласу [6] виділяли ділянки, що містять поля гіпокампа CA1, CA2, CA3 та CA4 та поміщали їх для 24-годинної фіксації в 10% розчин Буена. Після відповідної гістологічної проводки здійснювали заливку препаратів у парафінові блоки.

Блок p53 виявляли методом імунофлуоресценції в серійних зрізах полів гіпокампа товщиною 5 мкм. Зрізи депарафінували в ксилолі, регідрували в низхідних концентраціях етанолу, тричі по 10 хвилин відмивали в 0,1 М фосфатному буфері (рН 7,4). Регідровані зрізи гіпокампа протягом 18 годин інкубували у вологій камері при 4 °С одночасно з первинними кролячими моноклональними антитілами до p53 щура та мишачими моноклональними антитілами до CD4 щура (Beckman Coulter, США), кон'югованими з FITC, промивали 0,1 М фосфатним буфером і містили в суміш гліцерину та фосфатного буфера (9:1) для наступної люмінесцентної мікроскопії.

P53⁺-клітини гіпокампа ідентифікували за допомогою флуоресцентного мікроскопа Axioskop. Зображення вводили в комп'ютерну систему цифрового аналізу VIDAS-386 (Kontron Elektronik, ФРН) [5].

Експерименти здійснювали з дотриманням основних положень GLP (1981) Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовують в експери-

ментах та інших наукових цілях (18.03.1986); Директиви ЄС № 609 від 24.11.1986 р. і наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р.

Статистичну значущість відмінностей оцінювали за t-критерієм Стьюдента для незалежних виборок. Дані представлені у вигляді середніх арифметичних і стандартного відхилення.

Результати та їх обговорення

У тварин без ЦД 20-хвилинна каротидна ішемія з одногодинною реперфузією призвела до зростання в полях гіпокампа СА1, СА2, СА3, СА4 площі р53-імунореактивного матеріалу (ІРМ) у 2,1, 1,3, 1,7, 1,9 раза відповідно та питомого вмісту білка р53 у 2,1, 4,3, 1,74, 2,1 раза відповідно стосовно показників у шурів без порушення церебрального кровообігу (табл. 1). Крім того, в полі СА2 за цих експериментальних умов зросла також концентрація білка р53 у 2,9 раза.

На 12 добу спостереження в полі СА1 динаміка була відсутньою, відзначені зміни зберігались щодо контролю (площа р53-ІРМ і питомий уміст білка р53 перевищували контрольні показники у 2,0 та 2,4 раза). У полі СА2

площа р53-ІРМ поверталася до рівня показника у тварин контрольної групи, а питомий уміст білка р53 залишався підвищеним щодо контролю в 1,4 раза, але він став у 3,2 раза нижчим, ніж у ранньому терміні спостереження. Концентрація білка р53 також поверталася до величини показника в контрольних шурів, унаслідок чого стала нижчою, ніж у попередньому терміні у 2,5 раза.

Відстрочені наслідки ішемічно-реперфузійного пошкодження в полі СА3 полягали в зниженні концентрації білка р53 стосовно показника в контрольних тварин на 12 % та раннього ішемічно-реперфузійного періоду – на 10 %. Площа р53-ІРМ залишалася вищою, ніж у контролі в 1,4 раза, а питомий уміст білка р53 знижувався щодо попереднього терміну спостереження в 1,4 раза, залишаючись вищим, ніж у контрольних шурів в 1,3 раза.

У полі СА4 на 12 добу ішемічно-реперфузійного періоду обидва показники, що зазнали зростання в ранньому терміні спостереження (площа р53-ІРМ та питомий уміст білка р53), повернулися до рівня, що притаманний тваринам контрольної групи. Стосовно попереднього терміну ці параметри були нижчими в 1,7 та 1,9 раза відповідно.

Таблиця 1

Вплив ішемії-реперфузії на реакцію р53⁺-клітин полів гіпокампа контрольних шурів і тварин із цукровим діабетом (M±m)

| Група спостереження | Концентрація білка р53 E _ю | Площа ІРМ на 10 000 мкм ² | Питомий уміст білка р53 E _ю |
|---|---------------------------------------|---|--|
| Контроль | 0,0041±0,0004 | 220,023±26,032 | 0,890±0,195 |
| Ішемія-реперфузія 20 хв/1 год | 0,0044±0,0003 | 435,478±44,637* | 1,851±0,178* |
| Ішемія-реперфузія 12 діб | 0,0049±0,0005 | 441,657±45,205* | 2,120±0,208* |
| Діабет | 0,0037±0,0003 | 398,466±34,397* | 1,286±0,126 |
| Діабет та ішемія-реперфузія 20 хв/1 год | 0,0040±0,0004 | 916,525±62,99# p ₂ <0,001 | 3,521±0,368# p ₂ <0,001 |
| Діабет та ішемія-реперфузія 12 діб | 0,0048±0,0004 | 632,022±59,983#& | 2,928±0,227# |
| Поле СА2 | | | |
| Контроль | 0,0036±0,0002 | 625,076±57,356 | 1,951±0,241 |
| Ішемія-реперфузія 20 хв/1 год | 0,0104±0,0009* | 800,043±69,727* | 8,464±3,985* |
| Ішемія-реперфузія 12 діб | 0,0042±0,0004^ | 643,521±64,603 | 2,647±0,229^ |
| Діабет | 0,0040±0,0003 | 699,684±61,109 | 2,283±0,200 |
| Діабет та ішемія-реперфузія 20 хв/1 год | 0,0047±0,0005 | 732,827±73,878 | 3,321±0,361# |
| Діабет та ішемія-реперфузія 12 діб | 0,0044±0,0004 | 563,737±55,519& | 2,064±0,311& |
| Поле СА3 | | | |
| Контроль | 0,0042±0,0002 | 336,359±32,509 | 1,307±0,130 |
| Ішемія-реперфузія 20 хв/1 год | 0,0041±0,0001 | 586,773±54,216* | 2,270±0,242* |
| Ішемія-реперфузія 12 діб | 0,0037±0,0001** | 461,571±44,328* | 1,674±0,139^ |
| Діабет | 0,0031±0,0001* | 663,05±67,461* | 1,981±0,195* |
| Діабет та ішемія-реперфузія 20 хв/1 год | 0,0033±0,0002 | 955,43±97,43# | 2,468±0,207 |
| Діабет та ішемія-реперфузія 12 діб | 0,0038±0,0003# | 581,898±58,612#& | 1,976±0,143& |
| Поле СА4 | | | |
| Контроль | 0,0041±0,0002 | 363,499±43,946 | 1,369±0,131 |
| Ішемія-реперфузія 20 хв/1 год | 0,0044±0,0002 | 701,116±73,506* | 2,864±0,243* |
| Ішемія-реперфузія 12 діб | 0,0037±0,0001 | 424,165±49,632^ | 1,497±0,273^ |
| Діабет | 0,0037±0,0007 | 510,595±52,065* | 1,484±0,223 |
| Діабет та ішемія-реперфузія 20 хв/1 год | 0,0029±0,0001 | 892,845±87,274# | 2,386±0,208# |
| Діабет та ішемія-реперфузія 12 діб | 0,0033±0,0001& | 373,018±39,544#& | 1,185±0,246& |

Примітки: вірогідність різниці порівняно з * – контролем; ^ – ішемією-реперфузією (20 хв/1 год) у контрольних тварин; # – діабетом; & – ішемією-реперфузією (20 хв/1 год) у тварин із діабетом.

Отже, у ранньому терміні спостереження реакція полів гіпокампа на ішемічно-реперфузійне пошкодження більш односпрямована, а селективна чутливість різних відділів гіпокампа більшою мірою проявляється в пізньому постішемічному періоді.

У щурів із ЦД виявлені мозаїчні зміни p53-залежної проапоптичної активності: в полі CA1 стосовно контролю в 1,8 раза зросла площа p53-IPM, у полі CA2 змін досліджуваних показників не виявлені, в полі CA3 в 1,4 раза знизилася концентрація білка p53, зросли його питомий уміст (в 1,5 раза) та площа p53-IPM (удвічі), в полі CA4 зросла площа p53-IPM (в 1,4 раза). Такі регіональні особливості можуть свідчити про селективну чутливість полів гіпокампа до формування діабетичної енцефалопатії.

У ранньому ішемічно-реперфузійному періоді в щурів із ЦД реакція досліджених показників порівняно з відповідними показниками за умов діабету без порушення церебрального кровообігу була такою: у полях CA1, CA3, CA4 зросли площа p-53-IPM і питомий уміст білка p53 (у 2,3 та 2,7; 1,4 та 1,25; 1,4 та 1,7 раза відповідно), а в полі CA2 – лише питомий уміст білка, що досліджували. Отже, в більшості полів наявна подібність реагування гена p53 на ішемічно-реперфузійне втручання в контрольних щурів і тварин із ЦД, хоча варто відзначити наявність кількісних відмінностей. Однак на 12 добу спостереження спрямування змін, подібне до того, що було в контрольних щурів, зберігалось тільки в полі CA1 (зростання площі p53-IPM і питомого вмісту білка p53 в 1,6 та 2,3 раза стосовно показників за неускладненого діабету). Крім того, в цьому полі відзначено позитивну динаміку (наближення до норми) площі p53-IPM, що проявлялось зниженням цього показника в 1,5 раза щодо раннього терміну спостереження.

У полі CA2 щурів із ЦД на 12 добу ішемічно-реперфузійного періоду змін досліджуваних показників щодо таких під час неускладненого діабету не виявили, однак площа p53-IPM і питомий уміст білка p53 зменшились порівняно з показниками, що одержали після 20-хвилинної ішемії/одногодинної реперфузії.

Щодо поля CA3, то тут на 12 добу експерименту в щурів із ЦД спостерігали реверсію змін стосовно таких у щурів з аналогічним втручанням без ЦД: зростання концентрації білка p53 на 22 % та зниження площі p53-IPM на 12 %. Слід відзначити також у цьому полі позитивну динаміку площі p53-IPM і питомого вмісту білка p53 внаслідок зниження цих показників на 39 і 20 % відповідно щодо тих, які були зафіксовані в ранньому ішемічно-реперфузійному періоді.

У полі CA4 на 12 добу спостереження стосовно показників у тварин із ЦД без порушення мозкового кровообігу також наявне зростання на 14 % концентрації білка p53 та зниження в 1,4 раза площі IPM. Площа p53-IPM і питомий уміст білка p53, як і в полі CA3, знизилась щодо попереднього терміну спостереження, дещо наближаючись до норми.

Порівняльний аналіз характеру реакції p53-залежних

процесів у ранньому постішемічному періоді в щурів із діабетом і без його наявності показує односпрямованість змін у полях CA1, CA3 та CA4 тварин обох експериментальних груп, однак абсолютні значення змінених показників у тварин із ЦД були суттєво вищими, а отже процеси апоптозу були інтенсивнішими. Натомість у полі CA2 щурів із ЦД у цей період реакція p53-позитивних клітин (на відміну від тварин без діабету) в котрих зросли всі досліджені показники, обмежилася зростанням питомого вмісту білка p53. Отже, в цьому періоді спостереження виявлені кількісні відмінності реагування білка p53 на ішемію-реперфузію в полях CA1, CA3 та CA4 та якісні – в полі CA2.

На 12 добу ішемічно-реперфузійного періоду в полі CA1 тварин без ЦД і з його наявністю активність p53-апоптичних процесів залишалася підвищеною щодо відповідних груп порівняння, однак як і в ранньому періоді спостереження значення площі p53-IPM у щурів із гіперглікемією було суттєво вищим, ніж у тварин без діабету, що свідчить про вищу активність процесів апоптозу. У полях CA2–CA4 в цей період ЦД спричинив численні якісні модифікації реакції досліджених показників на ішемію-реперфузію.

Отже, можна констатувати: ЦД модифікує реакцію проапоптичного гена p53 на ішемічно-реперфузійне ушкодження головного мозку на 12 добу постішемічного періоду в полях гіпокампа CA2–CA4.

Висновки

1. У ранньому ішемічно-реперфузійному періоді в щурів без ЦД в усіх полях гіпокампа активність p53-залежних проапоптичних процесів зростає. На 12 добу постішемічного періоду в полях CA1–CA3 проапоптична активність залишається підвищеною, а в полі CA4 повертається до рівня у тварин контрольної групи.

2. Чотиримісячний ЦД активує p53-залежні проапоптичні механізми в полях CA1, CA3, CA4 та не впливає на них у полі CA2.

3. У щурів із чотиримісячним ЦД у ранньому постішемічному періоді активність p53-залежних проапоптичних процесів у всіх полях гіпокампа зростає щодо такої в щурів із ЦД без порушення церебрального кровообігу та вірогідно перевищує більшість відповідних показників у полях гіпокампа CA1, CA3, CA4 щурів з аналогічним втручанням без діабету.

4. На 12 добу ішемічно-реперфузійного періоду в щурів із діабетом активність p53-проапоптичних процесів щодо показників за діабету без порушення церебрального кровообігу в полі CA1 залишається підвищеною, в полі CA2 повертається до рівня в щурів із діабетом, а в полях CA3 та CA4 знижується.

Перспективи подальших досліджень. Планується вивчення стану Bcl-2-залежних антиапоптичних процесів у гіпокампі щурів вищевідзначених експериментальних груп та їхнє зіставлення з активністю встановлених p53-залежних проапоптичних механізмів.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Список літератури

1. Ткачук С.С. Експресія білків Hif-1 α , p53 та Bcl-2 в головному мозку за умов двобічної каротидної ішемії-реперфузії на тлі цукрового діабету в самців-щурів / С.С. Ткачук, О.М. Ленков // Клінічна та експериментальна патологія. – 2010. – Т. IX. – №2(32). – С. 111–113.
2. Alzheimer's disease and type 2 diabetes-related alterations in brain mitochondria, autophagy and synaptic markers / C. Carvalho, M.S. Santos, C.R. Oliveira, P.I. Moreira // *Biochim. Biophys. Acta (BBA) – Mol. Basis Dis.* – 2015. – Vol. 1852. – №8. – P. 1665–1675.
3. Cardiac arrest triggers hippocampal neuronal death through autophagic and apoptotic pathways / D. Cui, H. Shang, X. Zhang et al. // *Sci. Rep.* – 2016. – Vol. 6. – P. 27642.
4. Glucose regulation, cognition, and brain MRI in type 2 diabetes: a systematic review / S.L.C. Geijselaers, S.J.S. Sep, C.D.A. Stehouwer, G.J. Biessels // *The Lancet Diabet. Endocrinol.* – 2015. – Vol. 3. – №1. – P. 75–89.
5. Kolesnik Y.M. Image analysis system for quantitative immunofluorescence measurement / Y.M. Kolesnik, A.V. Abramov // *Microscopy and Analysis.* – 2002. – №5. – P. 12–16.
6. König J.F. The rat brain. A stereotaxis atlas of forebrain and lower part of the brain stem / J.F. König, P.A. Klippel. – Baltimore: The Williams and Wilkins Company, 1963. – 162 p.
7. Neuroprotective Effect of Resveratrol on Acute Brain Ischemia Reperfusion Injury by Measuring Annexin V, p53, Bcl-2 Levels in Rats / C. Kizmazoglu, H. Emre Aydin, I. Ertan Sevin et al. // *J. Korean Neurosurg. Soc.* – 2015. – Vol. 58. – №6. – P. 508–512.
8. Patients with type 2 diabetes exhibit cognitive impairment with changes of metabolite concentration in the left hippocampus / Y. Wang, X.-Y. Xu, C.-H. Feng et al. // *Metabol. Brain Dis.* – 2015. – Vol. 30. – №4. – P. 1027–1034.
9. Скибо Г.Г. Использование различных экспериментальных моделей для изучения клеточных механизмов ишемического поражения мозга / Г.Г. Скибо // Патология. – 2004. – Т. 1. – №1. – С. 22–30.
10. The Effect of Diabetes Mellitus on Apoptosis in Hippocampus: Cellular and Molecular Aspects / A. Sadeghi, J. Hami, S. Razavi et al. // *Int. J. Prev. Med.* – 2016. – Vol. 7. – Iss. 1. – P. 57.
1. Tkachuk, S. S. & Lienkov, A. M. (2010) Ekspresiiia bilkiv Hif-1 α , r53 ta Bcl-2 v holovnomu mozku za umov dvobichnoi karotyidnoi ishemii-reperfuzii na tli tsukrovoho diabetu v samsiv-shchuriv [Expression of Hif-1 α , p53 and Bcl-2 proteins in the brain under the conditions of bilateral carotid ischemia-reperfusion in experimental diabetes mellitus in male rats]. *Klinichna ta eksperymentalna patolohiia*, IX, 2(32), 111–113. [in Ukrainian].
2. Carvalho, C., Santos, M. S., Oliveira, C. R., & Moreira, P. I. (2015) Alzheimer's disease and type 2 diabetes-related alterations in brain mitochondria, autophagy and synaptic markers. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Basis of Disease*, 1852(8), 1665–1675. doi: 10.1016/j.bbadis.2015.05.001.
3. Cui, D., Shang, H., Zhang, X., Jiang, W., & Jia, X. (2016) Cardiac arrest triggers hippocampal neuronal death through autophagic and apoptotic pathways. *Sci. Rep.*, 6, 27642. doi: 10.1038/srep27642.
4. Geijselaers, S. L. C., Sep, S. J. S., Stehouwer, C. D. A., & Biessels, G. J. (2015) Glucose regulation, cognition, and brain MRI in type 2 diabetes: a systematic review. *The Lancet Diabet. Endocrinol.*, 3(1), 75–89. doi: 10.1016/S2213-8587(14)70148-2.
5. Kolesnik, Y. M., & Abramov, A. V. (2002) Image analysis system for quantitative immunofluorescence measurement. *Microscopy and Analysis*, 5, 12–16.
6. König, J. F., & Klippel, P. A. (1963) *The rat brain. A stereotaxis atlas of forebrain and lower part of the brain stem.* Baltimore: The Williams and Wilkins Company.
7. Kizmazoglu, C., Emre Aydin, H., Ertan Sevin, I., Kalemci, O., Yüceer, N., & Atasoy, M. A. (2015) Neuroprotective Effect of Resveratrol on Acute Brain Ischemia Reperfusion Injury by Measuring Annexin V, p53, Bcl-2 Levels in Rats. *J. Korean Neurosurg. Soc.*, 58(6), 508–512. doi: 10.3340/jkns.2015.58.6.508.
8. Wang, Y., Xu, X.-Y., Feng, C.-H., Li, Y. L., Ge, X., Zong, G. L., et al (2015) Patients with type 2 diabetes exhibit cognitive impairment with changes of metabolite concentration in the left hippocampus. *Metabol. Brain Dis.* 30(4), 1027–1034. doi: 10.1007/s11011-015-9670-4.
9. Skibo, G. G. (2004) Ispol'zovanie razlichnykh eksperimental'nykh modelej dlya izucheniya kletochnykh mekhanizmov ishemieskogo porazheniya mozga [The use of various experimental models to study cellular mechanisms of cerebral ischemic lesions]. *Pathologia*, 1(1), 22–30. [in Ukrainian].
10. Sadeghi, A., Hami, J., Razavi, S., Esfandiary, E., & Hejazi, Z. (2016) The Effect of Diabetes Mellitus on Apoptosis in Hippocampus: Cellular and Molecular Aspects. *Int. J. Prev. Med.*, 7(1), 57. doi: 10.4103/2008-7802.178531.

References

1. Tkachuk, S. S. & Lienkov, A. M. (2010) Ekspresiiia bilkiv Hif-1 α , r53 ta Bcl-2 v holovnomu mozku za umov dvobichnoi karotyidnoi

Відомості про авторів:

Бойчук Т. М., д-р мед. наук, професор, ректор ВДНЗ «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці, Україна.

Ткачук С. С., д-р мед. наук, професор, зав. каф. фізіології імені Я. Д. Кіршенבלата, ВДНЗ «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці, Україна, E-mail: ajnora14@rambler.ru.

Ніка О. М., асистент каф. нервових хвороб, психіатрії та медичної психології імені С. М. Савенка, ВДНЗ «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці, Україна.

Сведения об авторах:

Бойчук Т. Н., д-р мед. наук, профессор, ректор ВГУЗ «Буковинский государственный медицинский университет», г. Черновцы, Украина.

Ткачук С. С., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. физиологии имени Я. Д. Киршенבלата, ВГУЗ «Буковинский государственный медицинский университет», г. Черновцы, Украина, E-mail: ajnora14@rambler.ru.

Ника О. М., ассистент каф. нервных болезней, психиатрии и медицинской психологии имени С. Н. Савенко, ВГУЗ «Буковинский государственный медицинский университет», г. Черновцы, Украина.

Information about authors:

Boychuk T. M., MD, PhD, DSci, Professor, Rector, Higher State Educational Establishment of Ukraine "Bukovinian State Medical University", Chernivtsi, Ukraine.

Tkachuk S. S., MD, PhD, DSci, Professor, Head of the Y.D. Kirshenblat Department of Physiology Higher State Educational Establishment of Ukraine "Bukovinian State Medical University", Chernivtsi, Ukraine, E-mail: ajnora14@rambler.ru.

Nika O. M., Assistant of the S.M. Savenko Department of Nervous Diseases, Psychiatry and Medical Psychology Higher State Educational Establishment of Ukraine "Bukovinian State Medical University", Chernivtsi, Ukraine.

Надійшла в редакцію 06.10.2016 р.