

ПРОТЕЇНИ АСТРОГЛІЇ У МОЗКУ ЩУРІВ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ХРОНІЧНОГО ГЕПАТИТУ ТА ДІЇ 2-ОКСОГЛУТАРАТУ

О. З. ФОМЕНКО^{1,2}, Г. О. УШАКОВА², С. Г. ПІЄРЖИНОВСЬКИЙ^{3,4}

¹Дніпропетровська державна медична академія, Україна;

²Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, Україна;

³Університет м. Люнд, Швеція;

⁴Інститут сільськогосподарської медицини, Люблін, Польща;

e-mail: olfom@ua.fm

Під час розвитку печінкової енцефалопатії в умовах моделювання хронічного гепатиту у щурів лінії Вістар показано вірогідне збільшення рівня кальційзв'язуючого протеїну S100b та гліального фібрилярного кислого протеїну (ГФКП) у цитозольній фракції протеїнів мозку щурів у разі одночасного зменшення рівня філаментного ГФКП у сечовинній фракції. Збільшення концентрації S100b може стимулювати демонтування проміжних філаментів астроцитів. За допомогою імуногістохімічного аналізу встановлено, що астроцити мозку щурів з хронічним гепатитом втрачають характерну зірчасту форму та набрякають; за даними імуноблотингу виявлено зниження головної форми ГФКП та появу низькомолекулярних дериватів. Вживання 2-оксоглютарату (2,28 г/л у питній воді протягом 10 діб після розвитку хвороби) стабілізує рівень астроцит-специфічних протеїнів у мозку дослідних щурів і повертає до нормального стану астроцити.

Ключові слова: хронічний гепатит, астроцити, S100b, ГФКП, 2-оксоглютарат.

Дослідження молекулярно-біохімічних механізмів розвитку печінкової енцефалопатії (ПЕ) – комплексу неврологічних та психічних розладів, що спостерігається у хворих з хронічними захворюваннями печінки чи при портокавальному анастомозі, на сьогодні є досить актуальним. Кількість хворих на хронічний гепатит В та С у світі перевищує 480–520 мільйонів осіб, і щорічно від 700 до 1000 тис. осіб помирають внаслідок цих інфекцій. Епідемія парентеральних вірусних гепатитів в Україні перебігає як прихована і дані офіційної статистики не відображають її реальних обсягів. Водночас, на думку експертів ДУ «Інституту епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського АМН України», кількість осіб, хронічно інфікованих вірусами парентеральних гепатитів в Україні, може перевищувати 270 тис. [1].

Розвиток печінкової енцефалопатії є багатогранним процесом. По-перше, у головному мозку накопичуються патогенні чинники: насамперед, це аміак, рівень якого підвищений за умов хронічних хвороб печінки [2]; також має місце підвищений рівень марганцю [3] та γ -аміномаєляної кислоти [4], коротколанцюгових жирних кислот [5], меркаптанів [6], помилкових медіаторів, як наприклад тірамін,

октопамін і β -фенілетаноламіну [7]. По-друге, спостерігається набряк мозку: він розвивається на тлі існування осмотичного та оксидативного стресу, запалення та гіпонатріємії [8]. Усі ці патогенні фактори мають опосередкований вплив на нейрони головного мозку, але їхня безпосередня дія направлена на астрогліальні клітини, які, в першу чергу, забезпечують функціональну здібність гематоенцефалічного бар'єру та реакції детоксикації (особливо глутамін-глутаматний цикл за участю 2-оксоглютарату). Стан астрогліальних клітин зазвичай оцінюють за рівнем специфічних протеїнів – Ca^{2+} -зв'язуючого протеїну S-100b та гліального фібрилярного кислого протеїну (ГФКП). Астрогліальний Ca^{2+} -зв'язуючий протеїн S-100b приймає участь у регуляції гомеостазу астроцитів і нервових клітин [9]. Показано, що S-100b як внутрішньоклітинний регулятор впливає на фосфорилування протеїнів, енергетичного метаболізму, цитоскелетної динаміки (і, таким чином, регулює клітинну поверхню та міграцію), кальцієвого гомеостазу та проліферації й диференціації клітин [10]. S-100b, що продукується в астроцитах, може транспортуватися до міжклітинного середовища, де він може бути нейротрофічним чинником, або нейротоксичним (в залежності від концентрації) [11]. В умовах ураження голов-

ного мозку різного генезу спостерігається зростання рівня протеїну S-100b [12]. Останнім часом з'явилися роботи, в яких зростаючий рівень S-100b пов'язують з гіперперфузією окремих органів [13].

Однією з молекул, що має вагомий внесок у структурну організацію астрогліальних клітин є ГФКП [14], який бере участь у формуванні цитоскелету клітин і впливає на регуляцію їхнього об'єму. Існують дані про зв'язок рівнів S-100b та ГФКП: зростання рівня S-100b потенціє розпад проміжних філаментів, зменшуючи кількість ГФКП [15].

За останні п'ять років почали з'являтися дані щодо гіперчутливості астроцитів внаслідок розвитку гіперамонії та хронічних хвороб печінки, але у більшості робіт описано тільки морфологічні зміни гліальних клітин.

Метою даної роботи було визначення співвідношення рівня астроцит-специфічних протеїнів S-100b та ГФКП у різних відділах мозку щурів в умовах експериментального хронічного гепатиту та застосування 2-оксоглутарата (для корекції печінкової енцефалопатії [16–18]).

Матеріали та методи

Експериментальну частину роботи було проведено на щурах лінії Вістар (32 тварини, 3-місячні, з масою тіла 160–180 г). Тварини знаходилися в стандартних умовах із циклічністю доби: світло – 12 год, ніч – 12 год.

Експериментальна модель хронічного гепатиту (ХГ) була створена на основі моделі хронічного гепатиту С за патентом [19]. Під шкіру задньої лапки щурів 4-х разово, через кожні 5 днів вводили 50% розчин CCl_4 (у рафінованій олії), а по закінченні в корінь хвоста щурів вводили повний ад'ювант Фрейнда 0,5 мл, який містив 0,5 мг БЦЖ і 5 мг протеїну гомогената печінки; через 8 днів вводили азатіопрін у дозі 50 мг/кг, а ще через 7 днів – повний ад'ювант Фрейнда з гомогенатом печінки 0,25 мл, ще через 5 днів – вводили азатіопрін у дозі 50 мг/кг, через 4 дні – повний ад'ювант Фрейнда з гомогенатом печінки 0,25 мл.

Вплив на розвиток печінкової енцефалопатії проміжного метаболіту глутамін-глутаматного циклу астроцитів досліджували з застосуванням 2-оксоглутарату (2-ОГ) (Essentys АВ, Швеція).

Щури були розділені на 4 групи, по 8 тварин у кожній групі: 1-а – інтактні; 2-а – з експериментальним ХГ; 3-я – без моделювання ХГ (введення 2-ОГ, 2,28 г/л питної води про-

тягом 10 днів); 4-а – моделювання ХГ з наступним введенням 2-ОГ, 2,28 г/л питної води протягом 10 днів. Декапітацію тварин проводили під легким наркозом. Для подальших досліджень з мозку тварин виділяли мозочок, сенсорну частину кори півкуль, таламус, гіпокамп. З метою дослідження астроцит-специфічних протеїнів, що різняться за місцем локалізації, за допомогою диференціального центрифугування та солюбілізації протеїнів за участю сечовини (4 М) одержані різні фракції, що містили цитозольні (водорозчинні) і екстрацелюлярні/цитоскелетні протеїни [20]. Буфер містив: трис – 25 мМ (рН7,4), ЕДТО – 1 мМ, дитіотрейтол – 2 мМ, ФМСФ – 0,2 мМ, NaN_3 – 0,01%.

Визначення кількості астроцит-специфічних протеїнів у фракціях тканин мозку проводили згідно стандартної методики конкурентного імуноензимного аналізу, з використанням моноспецифічних поліклональних антитіл проти ГФКП та S-100b (Sigma, США), відповідних вторинних антитіл проти IgG кролів, мічених пероксидазою хрому (Sigma, США). Для побудови калібрувальних кривих використовували очищені антигени S-100b (Sigma, США) та ГФКП (Boehringer, Німеччина). Для оцінки результатів проводили вимірювання оптичної густини на спектрофотометрі “Anthos 2010” при довжині хвилі 492 нм. Кількість протеїнів представлено у нг на мг тканини.

Дослідження морфологічних особливостей астроцитів проводили за допомогою стандартного протоколу імуногістохімічного аналізу з використанням антитіл до ГФКП. Після стадій депарафінізації, регідратації парафінових зрізів мозку і блокування ендогенної пероксидази, на дослідні зрізи наносили розчин кролячих анти-IgG до ГФКП, що були розведені у 500 разів 20 мМ фосфатним буфером – рН 7,2, який містив 1%-ий БСА. На контрольні зрізи наносили зазначений буфер без антитіл для контролю рівня неспецифічного фарбування. Інкубацію проводили у вологій камері при 4 °С протягом 8–10 год. Після промивки на зрізи наносили вторинні антикролячі антитіла, що були мічені пероксидазою хрому та інкубували протягом 1 год при кімнатній температурі, з подальшим фарбуванням за допомогою 3,3'-діамінобензидину. Після дегідратації забарвлені зрізи заключали в DePex.

Дослідження поліпептидного складу протеїнів проводили методом електрофорезу в ПААГ у присутності DSNa за Леммлі.

Серед протеїнів, що були розділені під час електрофорезу, специфічні протеїни визначали методом імуноблотингу з використанням моноспецифічної антисироватки до ГФКП.

Результати обробляли статистично за *t*-критерієм Стьюдента. Дані представлені у вигляді $M \pm \sigma$. Статистично значущими вважали дані при $P < 0,05$.

Результати та обговорення

Під час розвитку експериментального хронічного гепатиту в усіх відділах мозку щурів визначено високий рівень кальційзв'язуючого протеїну S-100b. Найбільше його зростання спостерігали у мозочку – у 12,1 раза, у таламусі – у 10,6 раза, у сенсорній частині кори півкуль та гіпокампі – у 4,5 та 4,7 раза відповідно (рис. 1).

Одержані величини кальційзв'язуючого протеїну S100b складаються з концентрацій його цитозольної форми і експресованих астроглією позаклітинних молекул S100b. Збільшення концентрації S100b у мозку щурів в умовах розвитку ХГ свідчить про декілька процесів, що можливо відбуваються одночасно: активацію астроцитів внаслідок токсикації мозку (безпосередньо – глутамін-глутаматного циклу) і збільшення транспорту S100b з астроглії до міжклітинного простору та негативний вплив на нейрони.

Як відомо, дія S100b залежить від його рівня: у наномолярних концентраціях у мозку цей протеїн є нейротрофічним фактором у

разі розвитку нейронів та їхньої регенерації, але, у той же час, підвищення концентрації S100b до мікромольного рівня призводить до збільшення експресії β -амілоїдних протеїнів та апоптозу клітин мозку [21]. Розвиток печінкової енцефалопатії під час хронічного гепатиту зумовлює збільшення проникності гематоенцефалічного бар'єру [22], функціонування якого забезпечується саме гліальними клітинами. Нами було визначено, що внаслідок росту рівня S100b він починає проникати крізь гематоенцефалічний бар'єр та може бути використаний як маркер ураження нервових клітин під час розвитку печінкової енцефалопатії [23]. На даний час визначають рівень S100b не тільки в сироватці крові, але й у сечі та спинномозковій рідині. Як було продемонстровано в дослідженнях [24–26], збільшений рівень протеїну S100b у сечі та спинномозковій рідині є також несприятливим фактором для дітей, що хворіють на септичну та гіпоксичну ішемічну енцефалопатію. Клінічні дослідження довели, що існує залежність між рівнем S100b і ГФКП у спинномозковій рідині та ступенем ураження при інсульті [27] та травмах головного мозку [28].

Одержані нами дані вказують на взаємозалежність між зміною рівня S-100b і ГФКП у мозку щурів з ХГ. Концентрація цитозольної форми ГФКП під час хронічного гепатиту значно збільшена. Найсуттєвіші зміни спостерігали у сенсорній частині кори півкуль та у таламусі/гіпоталамусі (зростання

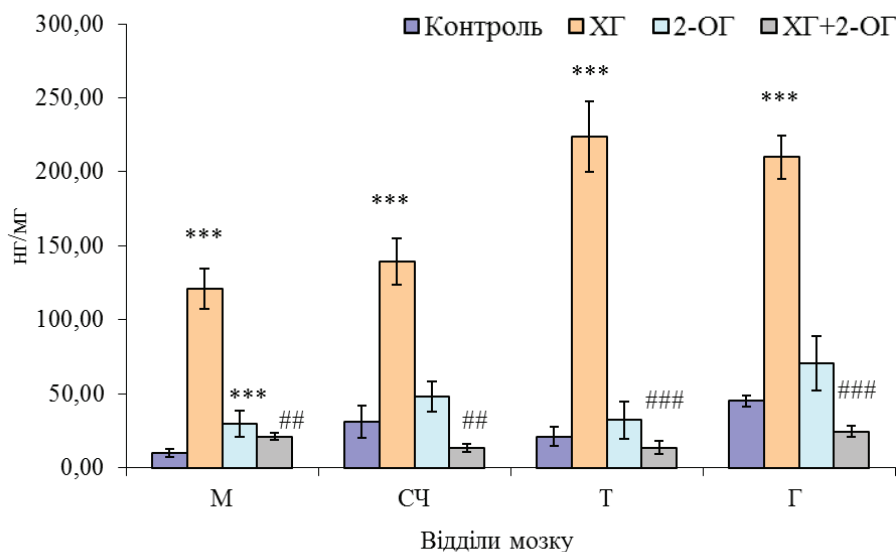


Рис. 1. Рівень кальційзв'язуючого протеїну S-100b у мозку щурів. М – мозочок, СЧ – сенсорна частина кори півкуль, Т – таламус, Г – гіпокамп, $M \pm \sigma$, $n = 8$, *** $P < 0,001$ (порівняно з контрольною групою), ## $P < 0,01$, ### $P < 0,001$ (порівняно з групою хронічного гепатиту)

у 5,6 раза) (рис. 2, А), трохи менше – у мозочку (у 4,2 раза) та у гіпокампі (у 3,6 раза) (рис. 2, А).

Встановлено, що на тлі значного збільшення концентрації цитозольної форми ГФКП у мозку щурів з ХГ концентрація філаментної форми цього протеїну змінюється наступним чином: у мозочку та таламусі відбувається зменшення на 36 та 24% відповідно (результати невірні), а у

сенсорній частині кори півкуль концентрація фГФКП майже не змінилась (рис. 2, Б). Збільшення цитозольної форми ГФКП у мозку щурів у разі відносно незмінної кількості його філаментної форми під час ХГ свідчить про унеможливлення агрегації структурних одиниць ГФКП у проміжні філаменти на тлі збільшення продукування S100b. Як відомо, S100b впливає специфічним чином на

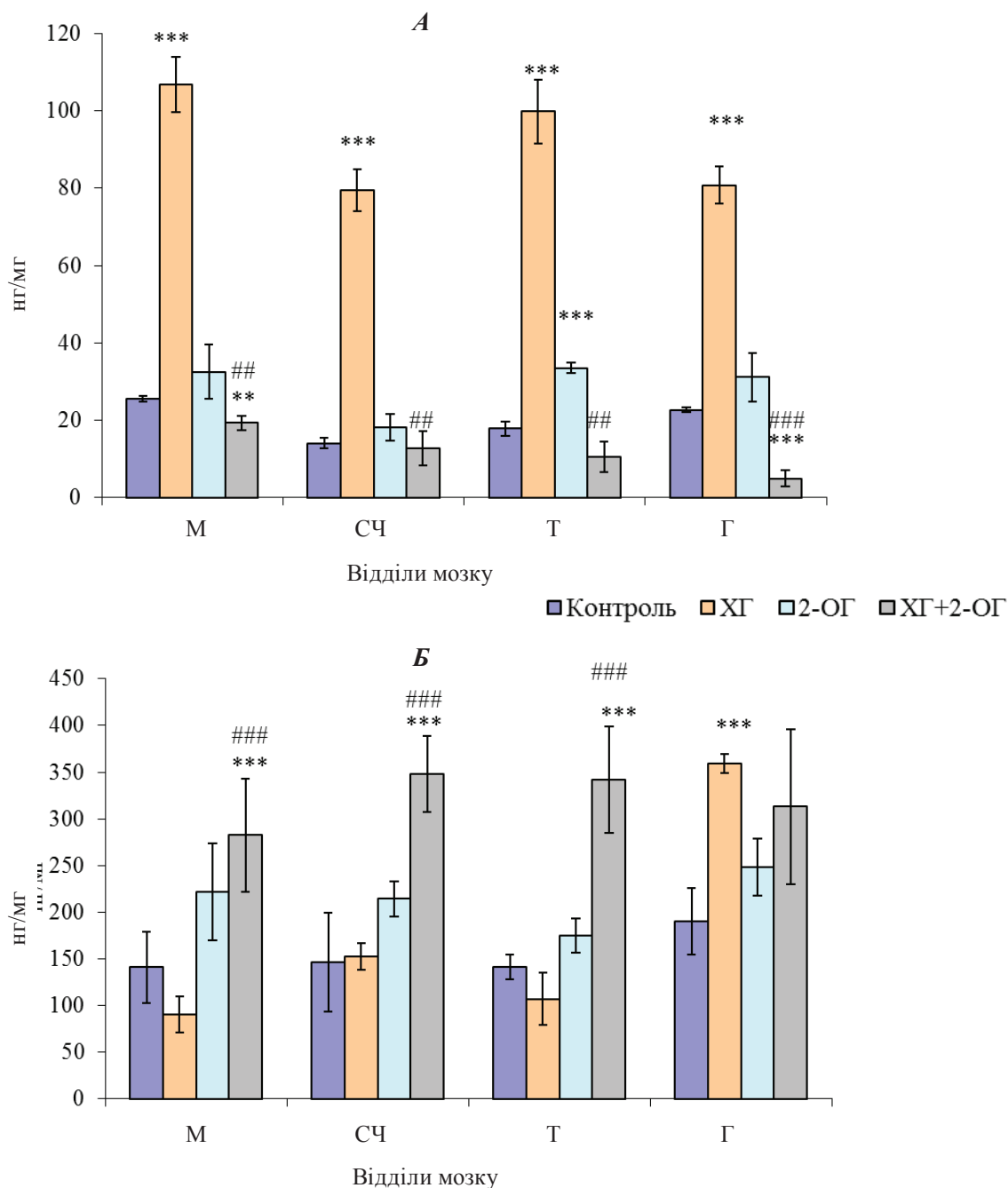


Рис. 2. Рівень цитозольної (А) та філаментної (Б) форми ГФКП у мозку щурів. М – мозочок, СЧ – сенсорна частина кори півкуль, Т – таламус, Г – гіпокамп, n = 8, ** – P < 0,01, *** P < 0,001 (порівняно з контрольною групою), # P < 0,01, ### P < 0,001 (порівняно з групою хронічного гепатиту)

протеїни цитоскелету астроцитів, а саме кальдесмон, кальпонін, проміжні філаменти III типу, ГФКП та протеїни мікротрубочок. Так, за свідченнями [29] та [30] S100b пригнічує збирання мікротрубочок через розпад тубуліну та стимулює кальцієву чутливість вже зібраних мікротрубочок. Астроцити в мозку мутантних мишей, які продукували збільшену кількість S100b, мали зменшену кількість ГФКП [31]. Ми дослідили динаміку змін кальційзв'язуючого протеїну S100b та цитозольної й філаментної форм ГФКП. Кореляційний аналіз показав, що існує пряма залежність між кількістю S100b та цитозольної форми ГФКП ($r = 0,97-0,9$), але між S100b та філаментною формою ГФКП кількісна залежність стає зворотною ($r = -0,50 - -0,34$) майже у всіх відділах мозку, крім гіпокампа ($r = 0,77$). Таким чином, збільшення продукування S100b призводить до роз'єднання вже існуючих проміжних філаментів, при цьому концентрація розчинної (незібраної) форми ГФКП збільшується.

Результати імуноблотингу філаментних фракцій виділених з різних відділів мозку щурів (фарбування антитілами до ГФКП) показали, що під час ХГ відбувається збільшення низькомолекулярних дериватів ГФКП і зменшення його головної філаментної форми (39 кДа), що також вказує на демонтуння філаментів. Найбільш виразно цей процес відбувається у мозочку (рис. 3).

Однак, у гіпокампі відмічено вірогідне зростання рівня фГФКП (на 89%), навіть в умовах високого рівня S100b й збільшеного рівня низькомолекулярних форм ГФКП, що є свідченням розвитку реактивного астрогліозу в цій структурі мозку.

За даними імуногістохімічного дослідження встановлено, що в умовах розвитку експериментального ХГ частина астроцитів у мозку щурів втрачає свою характерну зірчасту форму та набрякає. Відбувається їхнє переродження в астроцити Альцгеймера II типу (рис. 4). Ці аномальні астроцити, які набрякаючи збільшуються у розмірах, зазвичай зустрічаються попарно або потрійно, та мають збільшені склоподібні ядра. Така склоподібність пояснюється тим, що ДНК та асоційовані протеїни не розподіляються по ядру, а концентруються на його краях.

Внаслідок захворювання на ХГ починає розвиватися фіброз печінки, що призводить до збільшення кількості клітин сполучної тканини та заміщення ними гепатоцитів [32]. Таким чином, погіршується детоксикаційна функція печінки. У крові спостерігається збільшення токсичних продуктів (а саме аміаку), що мо-

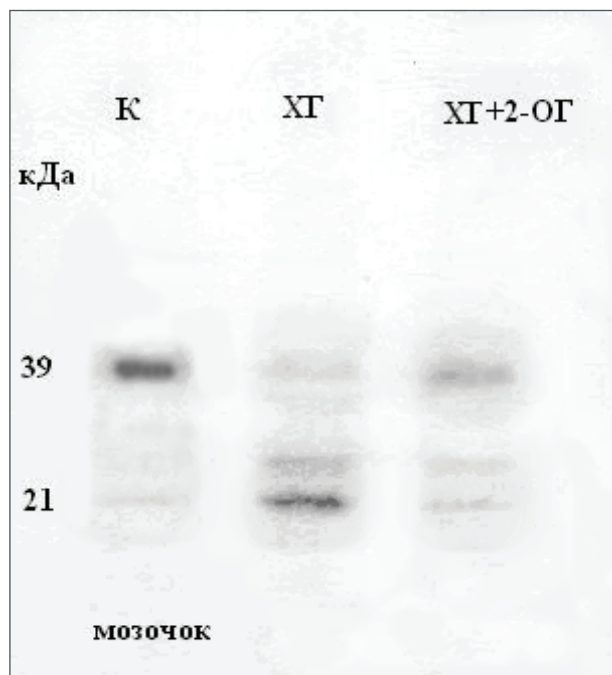


Рис. 3. Імуноблотинг протеїнів з сечовинної фракції мозочку щурів (фарбування антитілами до ГФКП). К – контрольна група, ХГ – група щурів з хронічним гепатитом, ХГ+2-ОГ – група щурів з хронічним гепатитом на тлі вживання 2-оксоглутарата (2,28 г/л питної води, протягом 10 днів)

жуть проникати крізь гемато-енцефалічний бар'єр. Аміак, потрапивши у головний мозок, елімінується астроцитами. Через збільшення його кількості, астроцити не справляються з цим навантаженням і у них розвивається набряк [33]. Саме збільшення кількості аміаку при ХГ є основним фактором появи печінкової енцефалопатії.

З метою корегування розвитку печінкової енцефалопатії ми досліджували ефект 2-оксоглутарата – головного метаболіту, що забезпечує нейтралізацію вільного аміаку в мозку. На сьогодні не має лікарського препарату на основі цього метаболіту, але в декількох дослідженнях було встановлено, що саме гіперамонімія призводить до гальмування циклу трикарбонових кислот у мозку за рахунок відтоку 2-оксоглутарата [16–18].

У нашому експерименті вживання 2-оксоглутарата (2,28 г/л питної води протягом 10 днів після розвитку хронічного гепатиту) призводило до позитивних змін у мозку досліджуваних щурів. У всіх відділах мозку щурів відбувалось вірогідне зниження концентрації S100b у порівнянні з тваринами з ХГ й наближення рівня цього

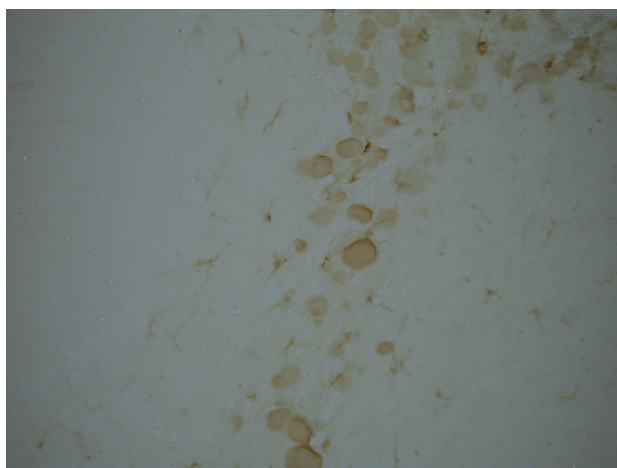
A*Б*

Рис. 4. Сагітальні зрізи мозочка щурів, що забарвлені антитілами до ГФКП: А – контрольна група, Б – група з хронічним гепатитом. Збільшення у 1200 разів

протеїну до контрольних значень (рис. 1). Так, концентрація S100b зменшилась у мозочку на 47%, у сенсорній частині кори півкуль – на 61%, у таламусі та гіпокампі – на 90%. Зменшення концентрації кальційзв'язуючого протеїну S-100b є беззаперечним свідченням нормалізації стану головного мозку щурів під впливом 2-оксоглутарату у разі ХГ. Про це свідчить і повернення рівня розчинної форми ГФКП до нормальних значень у всіх відділах мозку досліджуваних щурів. У гіпокампі спостерігається навіть значне зниження концентрації цГФКП відносно контрольного рівня (рис. 2, А). У порівнянні з групою тварин з ХГ концентрація цГФКП зменшилась у мозочку на 72%, у сенсорній частині кори півкуль – на 84%, у таламусі/гіпоталамусі – на 89%. Таке значне зменшення цГФКП супроводжувалось відповідною стимуляцією продукування філаментної форми ГФКП. У філаментній фракції мозку щурів кількість фГФКП після вживання 2-оксоглутарата на тлі розвинутої печінкової енцефалопатії не тільки поверталась до нормальних значень, але була вищою (рис. 2, Б). Зменшення ГФКП у мозку щурів в умовах збільшення кількості його філаментної форми під впливом 2-оксоглюта-

рату свідчить про стимулювання нормалізації цитоскелету астроцитів (імуногістохімічно підтверджено нормалізацію розміру та зірчатої форми астроцитів, стимуляцію відновлення астроцитів та наявність тільки поодиноких порушених клітин; дані імуноблотингу підтвердили запобігання фрагментації фГФКП). Можливо, таке різке зростання продукції фГФКП є терміною компенсацією поновлення функцій астроглії внаслідок детоксикації 2-оксоглутаратом.

Таким чином, розвиток печінкової енцефалопатії у щурів в умовах експериментального ХГ призводить до ушкодження астроглії (втрата характерної зірчатої форми та набрякання, переродження в астроцити Альцгеймера II типу), що супроводжується збільшеним продукуванням у мозку S100b та деполімеризацією проміжних філаментів цитоскелету астроцитів (на тлі зниження філаментної форми ГФКП та її фрагментації на низькомолекулярні деривати, поряд зі збільшенням цитозольної форми ГФКП);

В той же час використання 2-оксоглутарату позитивно впливає на розподіл астроцитарних протеїнів та відновлює функції астроглії.

**ПРОТЕИНЫ АСТРОГЛИИ
В МОЗГЕ КРЫС В УСЛОВИЯХ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО
ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА
И ДЕЙСТВИЯ 2-ОКСОГЛУТАРАТА**

*О. З. Фоменко^{1,2}, Г. А. Ушакова²,
С. Г. Пиержиновский^{3,4}*

¹Днепропетровская государственная
медицинская академия, Украина;

²Днепропетровский национальный университет
имени Олеса Гончара, Украина;

³Университет г. Люнд, Швеция;

⁴Институт сельскохозяйственной
медицины, Люблин, Польша;
e-mail: olfom@ua.fm

Показано увеличение уровня кальций-связывающего протеина S100b и цитозольной формы глиального фибриллярного кислого протеина (ГФКП), а также уменьшение уровня филаментного ГФКП при развитии печеночной энцефалопатии в мозге крыс линии Вистар в условиях экспериментального хронического гепатита (ХГ). Увеличение концентрации S100b может стимулировать разборку промежуточных филаментов астроцитов. С помощью иммуногистохимического анализа установлено, что астроциты в мозге крыс с ХГ, теряют характерную звездчатую форму и отекают; результаты иммуноблотинга подтвердили фрагментацию основной формы ГФКП и появление ее низкомолекулярных дериватов. Применение 2-оксоглутарата (2,28 г/л питьевой воды в течение 10 дней после развития ХГ) стабилизирует уровень астроцит специфических протеинов мозга крыс и нормализует состояние астроцитов.

Ключевые слова: хронический гепатит, астроциты, S100b, ГФКП, 2-оксоглутарат.

**PROTEINS OF ASTROGLIA
IN THE RAT BRAIN UNDER
EXPERIMENTAL CHRONIC HEPATITIS
CONDITION AND 2-OXOGLUTARATE
EFFECT**

*O. Z. Fomenko^{1,2}, G. O. Ushakova²,
S. G. Pierzynowski^{3,4}*

¹Dniepropetrovsk State Medical Academy, Ukraine;

²Oles Gonchar Dniepropetrovsk
National University, Ukraine;

³Lund University, Sweden;

⁴Institute of Agricultural Medicine, Lublin, Poland;
e-mail: olfom@ua.fm

S u m m a r y

A probable increase of the level of calcium-binding protein S100b and soluble form of glial fibrillary acidic protein (GFAP), as well as reducing the level of filament GFAP in the brain of Wistar rats under hepatic encephalopathy development caused by chronic hepatitis (HP) were shown. Increasing concentrations of S100b may stimulate the disassembly of intermediate filaments of astrocytes. The immunohistochemical analysis helps to reveal that astrocytes in the brain of rats that had HP lose the characteristic stellate shape and swelling. Immunoblotting result have shown the fragmentation of the main filament form of GFAP and appearance of low mass derivatives. Application of 2-oxoglutarate (2.28 g/l of drinking water during 10 days after the onset of chronic hepatitis) stabilized the studied proteins and the state of astroglia.

Key words: chronic hepatitis, astrocyte specific proteins, S100b, GFAP, 2-oxoglutarate.

1. <http://hepatit.org.ua/2010/05/20/12-voprosovo-gepatitah-kruglyiy-stol-ekspertov/>
2. Shawcross D. L., Olde Damink S. W., Butterworth R. F. et al. // Metab. Brain Dis. — 2005. — 20, N 3. — P. 169–179.

3. *Rovira A., Alonso J., Cyrdoba J.* // *Am. J. Neuroradiol.* – 2008. – **29**, N 9. – P. 1612–1621.
4. *Xiao-Qing Li, Lei Dong, Zhong-Hua Liu et al.* // *World J. Gastroenterol.* – 2005. – **11**, N 21. – P. 3319–3322.
5. *Минушкин О. Н., Ардатская М. Д., Елизарова Н. А.* // *Клин. вестн.* – 2002. – № 1. – С. 34–38.
6. *Malaguarnera M., Greco F., Barone G. et al.* // *Dig. Dis. Sci.* – 2007. – **52**, N 11. – P. 3259–3265.
7. *Faint V.* // *Nurs. Crit. Care.* – 2006. – **11**, N 2. – P. 69–74.
8. *Jalan R.* // *J. Hepatol.* – 2005. – **42** (Suppl. 1). – P. 115–123.
9. *Sorci G., Bianchi R., Riuizi F. et al.* // *Cardiovasc. Psychiatry Neurol.* – 2010. – Epub. 2010, Aug 18.
10. *Donato R., Sorci G., Riuizi F. et al.* // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2009. – **1793**, N 6. – P. 1008–1022.
11. *Van Eldik L. J., Wainwright M. S.* // *Restor. Neurol. Neurosci.* – 2003. – **21**, N 3–4. – P. 97–108.
12. *Kochanek P. M., Berger R. P., Bayir H. et al.* // *Curr. Opin. Crit. Care.* – 2008. – **14**, N 2. – P. 135–141.
13. *Routsi C., Stamataki E., Nanas S. et al.* // *Shock.* – 2006. – **26**, N 1. – P. 20–24.
14. *Pekny M., Pekna M.* // *J. Pathol.* – 2004. – **204**. – P. 428–437.
15. *Pelinka L. E., Kroepfl A., Leixnering M. et al.* // *Neurotrauma.* – 2004. – **21**, N 11. – P. 1553–1561.
16. *Hertz L., Kala G.* // *Metab. Brain Dis.* – 2007. – **22**. – P. 199–218.
17. *Johansen M. L., Bak L. K., Schousboe A. et al.* // *Neurochem. Int.* – 2007. – **50**. – P. 1042–1051.
18. *Ott P., Clemmesen O., Larsen F. S.* // *Ibid.* – 2005. – **47**. – P. 13–18.
19. *u2006004614*, Україна, МПК⁸ G09B 23/28 (2007.01). Спосіб моделювання хронічного гепатиту С / Ніколенко В. Ю., Ніколенко Ю. І., Ніколенко О. Ю.; Заявник. Донецький державний медичний університет ім. М. Горького – № 15752; заявл. 18.01.06; набрано чинності. 17.07.06.
20. *Ушакова Г. О.* Роль глікозаміноглікан-зв'язуючих протеїнів у морфогенезі та пластичності мозку: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра біол. наук: спец. 03.00.04 «Біохімія» / Г. О. Ушакова. – Харків, 2005. – 35 с.
21. *Rothermundt M., Marion P., Prehn J. H. M., Arolt V.* // *Microsc. Res. Tech.* – 2003. – **60**. – P. 614–632.
22. *Полунина Т. Е., Маев И. В.* // *Русск. мед. журн.* – 2010. – **18**, № 5. – С. 291–296.
23. *Ushakova G., Fomenko O., Pierzynowski S.* // *Annales Universitates Mariae Curie-Skladowska. Sectio DDD Pharmacia.* – 2010. – **XXIII**, N 3. – P. 203–206.
24. *Hamed S. A., Hamed E. A., Abdella M. M.* // *Neuropediatrics.* – 2009. – **40**. – P. 66–72.
25. *Liu L., Zheng C. X., Peng S.F. et al.* // *Neonatology.* – 2010. – **97**. – P. 41–44.
26. *Gazzolo D., Frigiola A., Bashir M.* // *PLoS One.* 2009. – **4**(2). – P. 4298.
27. *Brouns R., De Vil B., Cras P. et al.* // *Clin. Chem.* – 2010. – **56**. – P. 451–458.
28. *Kleindienst A., Meissner S., Eyupoglu I. Y. et al.* // *Acta Neurochir. Suppl.* – 2010. – **106**. – P. 247–250.
29. *Donato R.* // *J. Biol. Chem.* – 1988. – **263**. – P. 106–110.
30. *Sorci G., Agneletti A. L., Bianchi R., Donato R.* // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1998. – **1448**. – P. 277–289.
31. *Ueda S., Gu X. F., Whitaker-Azmitia P. M. et al.* // *Brain Res.* – 1994. – **633**. – P. 275–283.
32. *Павлов Ч. С.* // *Русск. мед. журн.* – 2007. – **9**, № 1. – С. 11–15.
33. *Butterworth R. F.* // *Neurochem. Int.* – 2010. – **57**, N 4. – P. 383–388.

Отримано 13.01.2011