

Р.Р. Шаріпов, А.В. Коцюруба, Б.С. Коп'як, В.Ф. Сагач

## Індукція оксидативного стресу в мітохондріях серця за фокальної ішемії–реперфузії головного мозку та протекторна дія екдистерону

*Виходячи з того, що гостра стадія ішемічного інсульту супроводжується розвитком цереброкардіального синдрому на моделі фокальної ішемії–реперфузії головного мозку досліджували оксидативний стрес у мітохондріях серця щурів і можливі механізми кардіопротекторної дії екдистерону. За умов фокальної ішемії–реперфузії головного мозку збільшується швидкість генерації активних форм кисню: супероксидного ( $\cdot O_2^-$ ) та гідроксильного радикалів ( $\cdot OH$ ), пулів стабільного пероксиду водню ( $H_2O_2$ ). Накопичуються продукти перекисного окиснення ліпідів (дієнові кон'югати та малоновий діальдегід), внаслідок активації ксантиноксидазного (маркер сечова кислота), ліпооксигеназного (маркер лейкотрієн  $C_4$ ) і циклооксигеназного (маркер тромбоксан  $B_2$ ) шляхів генерування  $\cdot O_2^-$ . У тварин, які отримували екдистерон протягом 18 днів зменшувалися швидкість генерації активних форм кисню, пули продуктів перекисного окислення ліпідів, інгібувалися шляхи генерування  $\cdot O_2^-$ , зменшується смертність тварин. Отримані результати підтверджують розвиток оксидативного стресу в мітохондріях серця щурів, потужні антирадикальні властивості екдистерону, його кардіопротекторну дію за умов фокальної ішемії–реперфузії головного мозку.*

*Ключові слова: фокальна ішемія–реперфузія головного мозку, цереброкардіальний синдром, мітохондрії серця, оксидативний стрес.*

### ВСТУП

Інсульт головного мозку щороку вражає від 100 до 120 тис. жителів України та належить до найбільш тяжких форм цереброваскулярних захворювань. Гостра стадія ішемічного інсульту супроводжується функціональними порушеннями серцево-судинної системи, які зумовлюють високу ймовірність виникнення патологічних змін у серці [1]. Зокрема, розвиток цереброкардіального синдрому, проявами якого є значне підвищення перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) мембран, порушення електрогенезу, патологічні морфологічні зміни кардіоміоцитів, погіршує перебіг ішемічного інсульту [2]. Ступінь гіперперфузії головного мозку корелює з кардіальними порушеннями [1]. ПОЛ, як наслідок розвитку оксидативного стресу в кардіоміоцитах, значною мірою спричинене

цереброкардіальним синдромом, є результатом надмірної генерації активних форм кисню (АФК) у мітохондріях [3]. Окисне пошкодження білкових і ліпідних компонентів внутрішньої мембрани мітохондрій збільшує неспецифічну проникність останньої внаслідок відкриття пори перемінної проникності [4]. Ці процеси ініціюють розвиток апоптозу кардіоміоцитів і порушення функції серця [5]. Відомо, що деякі гормональні препарати, в тому числі стероїдний гормон кальцитріол (гормональна форма вітаміну  $D_3$ ) [6] мають кардіопротекторну дію. Екдистерон – природний його аналог [7], має потужні антирадикальні та антиоксидантні властивості [6], активує фосфатидилінозитольний [8], сфінгомієліновий [9], а також РІЗК/ПКВ та eNOS/NO сигнальні каскади [10], які є регуляторами апоптозу. Ці власти-

© Р.Р. Шаріпов, А.В. Коцюруба, Б.С. Коп'як, В.Ф. Сагач

вості екдистерону зумовлюють його здатність інгібувати як кальцій-, так і АФК-залежне відкривання мітохондріальної пори перемінної проникності.

Мета нашої роботи – дослідити особливості розвитку оксидативного стресу в мітохондріях серця щурів за умов фокальної ішемії–реперфузії головного мозку та можливі механізми кардіопротекторної дії екдистерону.

## МЕТОДИКА

Дослідження проводили на щурах лінії Вістар масою 280–320 г, згідно з вимогами Європейської конвенції із захисту хребетних тварин (Страсбург, 1986). Тварин поділили на 4 групи по 8 тварин у кожній. Інтактні тварини ввійшли до 1-ї контрольної групи, до 2-ї щури, котрих утримували в стандартних умовах і яким моделювали фокальну ішемію–реперфузію головного мозку оперативним шляхом. Тварини 3-ї та 4-ї груп отримували екдистерон протягом 18 діб 100 мкг/100 г на добу, з питною водою у вигляді препарата «Біоспон», який являє собою екстракт екдистерону з рослини *Serratula coronata* (експериментальне виробництво Інституту біохімії ім. О.В.Палладіна АН України). Крім того тваринам 4-ї групи оперативно моделювали фокальну ішемію–реперфузію головного мозку.

Оскільки ішемічний інсульт часто викликається оклюзією середньої мозкової артерії або однієї з її гілок, для дослідження було обрано модель ізольованої оклюзії – МСАО (від англ. middle cerebral artery occlusion) [11, 12]. Вона може бути використана для експериментального дослідження ішемічного інсульту тому, що відповідає тромбоемболічному типу останнього [13, 14]. Моделювали ішемічний інсульт під наркозом (внутрішньоочередово вводили розчин кетаміну з розрахунку 75 мг/кг). Під час операції у внутрішню сонну артерію вводили оклюдер, який потрапляв у просвіт передньої мозкової артерії та блоку-

вав середню мозкову артерію. Для оклюзії останньої використовували монофіламентний оклюдер 4/0 («Dossol corp.», США). Моделювання МСАО здійснювали протягом 60 хв, потім його видаляли. Після пробудження тварин перевіряли наявність фокального ішемічно–реперфузійного пошкодження головного мозку. Для цього щура утримували за хвіст на відстані 1–2 см від поверхні. В нормі щури симетрично витягують обидві кінцівки у напрямку до підлоги. При наявності фокального ішемічно–реперфузійного пошкодження головного мозку визначається тонічна флексія контралатеральної передньої лапи. Тварин, у яких цей феномен не спостерігався, в дослід не брали. Визначали відсоток тварин, що вижили протягом 24 год після оперативного втручання в 2-й і 4-й групах, а також біохімічні показники, що характеризують інтенсивність різних шляхів генерації АФК і ПОЛ, у мітохондріях серця тварин усіх груп. Для цього у щурів 1-ї та 3-ї груп, а також через 24 год після фокальної ішемії–реперфузії головного мозку, у тварин 2-ї та 4-ї груп, що вижили, після декапітації виділяли мітохондрії з тканин серця послідовним центрифугуванням гомогенату. Осад мітохондрій суспендували у невеликому об'ємі середовища без додавання ЕДТА і зберігали при 4 °С. Вміст загального білка в суспензії мітохондрій визначали за методом Лоурі. В отриманих мітохондріях досліджували маркери оксидативного стресу, визначаючи швидкість генерації  $\cdot\text{O}_2^-$  (за окисненням цитохрому С) [15], швидкість генерації  $\cdot\text{OH}$  (методом окиснення дезоксирибози) [16], вміст  $\text{H}_2\text{O}_2$  (лактопероксидазним методом) [17]. Також досліджували інтенсивність ліпоксигеназного (маркер лейкотрієн  $\text{C}_4 - \text{LTC}_4$ ), циклооксигеназного (маркер тромбоксан  $\text{B}_2 - \text{TxB}_2$ ) та ксантинооксидазного (маркер сечова кислота) шляхів генерації  $\cdot\text{O}_2^-$ . Вміст ейкозаноїдів визначали RIA-методом, використовуючи відповідні добірки реактивів фірми „Amersham” (Англія) і «DuPont» (США), сечової кислоти – в колориметричній реакції за допомогою

добірки реактивів фірми «Філісіт-Діагностика» (Україна). Інтенсивність неферментативного вільнорадикального ПОЛ оцінювали за вмістом маркерів цього процесу – дієнових кон'югатів (ДК) і малонового діальдегіду (МДА), а також вільного негемового заліза – активатора утворення в реакції Фентона  $\cdot\text{OH}$ , що є ініціатором ПОЛ. Вміст ДК визначали спектрофотометрично за поглинанням при  $\lambda=232$  нм гептанових екстрактів проб [18], МДА – за реакцією з тіобарбітуровою кислотою [19], заліза – модифікованим фотометричним методом, використовуючи реактиви фірми «Філісіт-Діагностика». Отримані результати оброблені методами варіаційної статистики з використанням програм Excell (MS Office XP), SDUDENT (MS Excell) та Origin 6.0 («Microcall Inc.», США).

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Внаслідок значного інгібування екдистероном генерації АФК (табл. 1), особливо токсичного ініціатора ПОЛ  $\cdot\text{OH}$ -радикала, в мітохондріях серця за умов фокальної ішемії–реперфузії головного мозку виживали 100 % тварин 4-ї групи порівняно зі щурами 2-ї групи, які його не отримували (з 8 тварин через 24 год вижило 5 – 62,5 %). Відомо, що фізіологічні дози АФК, згідно з теорією „гормезису” (оксидативний стрес здатний максимально адаптувати захисні сили і адаптивні можливості організму за умов дії стресових чинників), можуть відігравати регуляторну роль в адаптації організму, у тому числі органів серцево-судинної системи, до

змін навколишнього чи внутрішнього середовища. Але також відомо, що за умов патології, в нашому випадку за умов фокальної ішемії–реперфузії, коли утворення АФК збільшується надмірно як в організмі в цілому, так і в міокарді серця, воно є однією з ланок розвитку цереброкардіального синдрому [2, 20]. Через 24 год після моделювання фокальної ішемії–реперфузії в мітохондріях серця щурів спостерігається як значне збільшення генерації  $\cdot\text{O}_2^-$  і  $\cdot\text{OH}$ , так і надмірне зростання пулів стабільного  $\text{H}_2\text{O}_2$  (див. табл.1). Це вказує на розвиток оксидативного стресу в мітохондріях і відповідає механізму розвитку цереброкардіального синдрому. При цьому в мітохондріях серця тварин, які отримували екдистерон, спостерігаються як значно менші рівні генерації АФК ( $\cdot\text{O}_2^-$  і  $\cdot\text{OH}$ ), так і суттєве зниження вмісту  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

Зменшення генерації  $\cdot\text{O}_2^-$  у тварин 3-ї групи порівняно з інтактним контролем може свідчити про адаптогенну дію екдистерону в мітохондріях серця за фізіологічних умов [6, 21]. При розвитку оксидативного стресу в мітохондріях серця внаслідок фокальної ішемії–реперфузії він проявив потужну антирадикальну дію, зокрема, інгібуючи всі три досліджені нами шляхи генерації  $\cdot\text{O}_2^-$ , що підтверджується нижчими рівнями маркерів (табл. 2).

Як відомо, важливими шляхами генерації  $\cdot\text{O}_2^-$  в мітохондріях серця, особливо при оксидативному стресі, є дихальний ланцюг, а також діяльність ксантинооксидази, циклооксигенази, ліпооксигенази тощо. У процесі деградації пуринових нуклеотидів при роботі ксантинооксидази одночасно утворюються  $\cdot\text{O}_2^-$

Таблиця 1. Вміст активних форм кисню і  $\text{H}_2\text{O}_2$  в мітохондріях серця за умов ішемії–реперфузії головного мозку ( $\text{M}\pm\text{m}$ )

Умови досліджу	$\cdot\text{O}_2^-$ , ум. од	$\text{H}_2\text{O}_2$ , пмоль/мг білка	$\cdot\text{OH}$ , ум. од
Контроль (n=8)	4,61±0,58	4,77±1,64	0,42±0,05
Ішемія–реперфузія (n=5)	15,06±2,11 *	397,32±142,79 *	2,51±0,79 *
Екдистерон (n=8)	2,72±0,61	18,03±8,3	0,56±0,02 *
Екдистерон і ішемія–реперфузія (n=8)	4,56±1,09 **	60,78±10,42 **	0,76±0,14 **

Примітка. У табл.1–3: \*P<0,05 відносно контролю; \*\*P<0,05 відносно 2-ї групи.

і сечова кислота. Остання є маркером ксантиноксидазного шляху генерації супероксиду. Вміст сечової кислоти в мітохондріях серця щурів збільшився у тварин 2-ї групи порівняно з контролем ( $P < 0,05$ ; див. табл. 2). У тварин 4-ї групи, достовірно менше зростання вмісту сечової кислоти після фокальної ішемії–реперфузії головного мозку порівняно зі значеннями у тварин 2-ї групи.

Під дією фосфоліпази А2 з фосфоліпідів клітинних мембран відщеплюється арахідонова кислота. Вільна арахідонова кислота в свою чергу може циклооксигеназним шляхом перетворюватися на простагландини та стабільний  $\text{TxV}_2$ , а ліпоксигеназним – у лейкотрієни, в т.ч. пептидолейкотрієн  $\text{LTC}_4$ .

У тварин 2-ї групи після фокальної ішемії–реперфузії вміст  $\text{TxV}_2$  та  $\text{LTC}_4$  збільшувалися порівняно з контрольними тваринами ( $P < 0,05$ ; див. табл. 2). У тварин 4-ї групи їх збільшення було достовірно меншим порівняно з показниками тварин 2-ї групи.

Отримані результати вказують, що екдистерону властива інгібуюча дія на всі три досліджені шляхи генерації  $\text{O}_2^-$ . Зниження ферментативного окиснення вільної арахідонової кислоти та пригнічення генерації  $\text{O}_2^-$  передбачає не лише можливе інгібуння активності ліпідних оксидаз, але і пригнічення гідролізу фосфоліпідів фосфоліпазою А2, тобто здатність екдистерону запобігати пошкодженню мембран мітохондрій міокарда за фокальної ішемії–реперфузії головного мозку.

Як відомо, в процесі ПОЛ утворюються

нестійкі гідроперекиси ліпідів, розпад яких призводить до появи різноманітних вторинних і кінцевих продуктів (ДК, МДА тощо), що є високотоксичними сполуками. Вони не лише негативно впливають на мембрани, але й ініціюють мітохондрійзалежний процес апоптозу пошкоджених клітин внаслідок відкривання мітохондріальної пори. Надмірна активація ПОЛ у мітохондріях серця за фокальної ішемії–реперфузії головного мозку може ініціювати набухання мітохондрій з роз'єднанням окисного фосфорилування й інактивацією тіолових ферментів, що беруть участь у диханні та гліколізі [22, 23]. Відомо [9, 21], що екдистерон може уповільнювати ланцюгову реакцію ПОЛ внаслідок зменшення генерації її ініціатора  $\text{OH}^\bullet$ , що цілком підтверджують наші результати (див. табл. 1, 3).

У мітохондріях серця тварин 2-ї групи ми отримали (табл. 3) достовірне збільшення вмісту ДК та МДА порівняно з контролем. У тварин 4-ї групи, які отримували екдистерон, збільшення цих показників після фокальної ішемії–реперфузії головного мозку було достовірно нижчим порівняно зі значеннями у тварин 2-ї групи. У тварин 3-ї групи вміст ДК був навіть нижчим, ніж у 1-й групі ( $P < 0,05$ ; див. табл. 3).

У тварин 2-ї групи вміст вільного заліза в мітохондріях серця на порядок перевищував такий у тварин 1-ї групи, тоді як у тварин 4-ї групи, він зростав в значно меншій мірі (див. табл. 3). Надмірне збільшення пулу вільного заліза в мітохондріях серця за фокальної

**Таблиця 2.** Вміст маркерів різних шляхів генерації супероксидного радикала в мітохондріях серця щурів за умов ішемії–реперфузії головного мозку ( $M \pm m$ )

Умови досліджу	Сечова кислота, нмоль/мг білка	Тромбоксан $\text{V}_2$ , пмоль/мг білка	Лейкотрієн $\text{C}_4$ , пмоль/мг білка
Контроль (n=8)	1,17 ± 0,22	1,92 ± 0,65	0,44 ± 0,06
Ішемія–реперфузія (n=5)	18,14 ± 5,56 *	5,48 ± 1,91*	2,61 ± 0,89 *
Екдистерон (n=8)	1,97 ± 0,04	1,49 ± 0,02	0,69 ± 0,02
Екдистерон і ішемія–реперфузія (n=8)	2,62 ± 0,42 **	1,97 ± 0,37 **	0,87 ± 0,14 **

**Таблиця 3. Вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів у мітохондріях серця за фокальної ішемії–реперфузії головного мозку (M±m)**

Умови досліджу	Дієнові кон'югати, нг/мг білка	Малоновий діальдегід, нмоль/мг білка	Вільне залізо, пмоль/мг білка
Контроль (n=8)	2,73± 0,58	2,22 ±0,45	50,17 ±7,84
Ішемія–реперфузія (n=5)	27,12 ± 9,51 *	10,07 ±3,42 *	500,78±188,66 *
Екдистерон (n=8)	0,94 ± 0,23 *	1,76±0,25	70,44 ±13,77
Екдистерон і ішемія–реперфузія (n=8)	8,13 ± 0,92 **	3,65 ±0,65 **	123,34 ±48,16 **

ішемії–реперфузії може бути причиною дуже інтенсивного утворення (див. табл. 1)  $\cdot\text{OH}$ , що є ініціатором ПОЛ, в реакції Фентона, оскільки  $\text{Fe}^{2+}$  є потужним активатором цієї реакції. Не виключено, що саме більш низький вміст вільного заліза тварин 4-ї групи порівняно з 2-ю зумовлює і значно меншу інтенсивність проходження реакції Фентона, а, отже, і генерації  $\cdot\text{OH}$  (див. табл. 1) і, як наслідок, процесу ПОЛ (див. табл. 3). Це може бути одним з важливих біохімічних механізмів кардіопротекторної дії екдистерону за фокальної ішемії–реперфузії головного мозку.

## ВИСНОВКИ

1. Попереднє профілактичне введення екдистерону призводило до 100 % виживання тварин після фокальної ішемії–реперфузії головного мозку.

2. У мітохондріях серця за умов фокальної ішемії–реперфузії головного мозку розвивається оксидативний стрес, що підтверджується багаторазовим збільшенням генерації  $\cdot\text{O}_2^-$  і  $\cdot\text{OH}$ , а також значним збільшенням пулів стабільного  $\text{H}_2\text{O}_2$  в мітохондріях, при цьому значно активуються ксантиноксидазний, циклооксигеназний та ліпооксигеназний шляхи генерації  $\cdot\text{O}_2^-$ , підтвердженням чого є збільшення концентрації сечової кислоти,  $\text{TxB}_2$  та  $\text{LTC}_4$  як маркерів цих процесів.

3. За умов фокальної ішемії–реперфузії головного мозку в мітохондріях серця значно зростає інтенсивність ПОЛ, про що

свідчить підвищення пулів ДК і МДА внаслідок активації генерації  $\cdot\text{OH}$ -радикала, що є ініціатором ПОЛ, в реакції Фентона, на що вказує збільшення вмісту вільного заліза, каталізатора цієї реакції, в мітохондріях.

4. Попереднє введення екдистерону суттєво зменшує прояви оксидативного стресу в мітохондріях серця щурів з фокальною ішемією–реперфузією головного мозку. Це супроводжується пригніченням генерації  $\cdot\text{O}_2^-$  і  $\cdot\text{OH}$ , зменшенням пулу стабільного  $\text{H}_2\text{O}_2$  в мітохондріях серця внаслідок інгібування ксантиноксидазного, циклооксигеназного та ліпооксигеназного шляхів генерації  $\cdot\text{O}_2^-$ , що пригнічує ПОЛ в мітохондріях серця та підтверджує потужні антирадикальні властивості екдистерону та його кардіопротекторну дію.

**Р.Р. Шаріпов, А.В. Коцюрuba, Б.С. Коп'як, В.Ф. Сагач**

## **ИНДУКЦИЯ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА В МИТОХОНДРИЯХ СЕРДЦА ВО ВРЕМЯ ИШЕМИИ–РЕПЕРФУЗИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА И ПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ ЭКДИСТЕРОНА**

Исходя из факта, что острая стадия ишемического инсульта сопровождается развитием церебробкардиального синдрома, проявляющегося оксидативным стрессом, накоплением продуктов перекисного окисления липидов в кардиомиоцитах, морфофункциональные изменения в миокарде, на модели фокальной ишемии–реперфузии головного мозга исследовали оксидативный стресс в митохондриях сердца крыс и возможные механизмы кардиопротекторного действия экдистерона. В условиях фокальной ишемии–реперфузии головного мозга увеличивается скорость генерации активных форм кислорода:

супероксидного ( $\text{O}_2^-$ ) і гидроксильного радикалов ( $\text{OH}\cdot$ ), пулов стабільного пероксида водорода ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). Накапливаються продукти перекисного окислення ліпидов (диеновые коньюгаты і малоновий діальдегід), вследствие активации ксантинооксидазного (маркер мочева кислота), ліпооксигеназного (маркер лейкотриєн  $\text{C}_4$ ) і циклооксигеназного (маркер тромбоксан  $\text{B}_2$ ) путей генерирования  $\text{O}_2^-$ . У животних, получавших ектистерон в течение 18 сут, в условиях фокальної ішемії–реперфузії головного мозга, наблюдалось уменьшение скорости генерации активных форм кислорода, ингибирование путей генерирования  $\text{O}_2^-$ , уменьшились пулы продуктов перекисного окислення ліпидов, выросла выживаемость животных. Полученные результаты подтверждают развитие оксидативного стресса в митохондриях сердца крыс, мощные антирадикальные свойства ектистерона, его кардиопротекторное действие, в условиях фокальної ішемії–реперфузії головного мозга. Ключевые слова: фокальная ішемія–реперфузія головного мозга, цереброкардіальний синдром, митохондрії серця, оксидативний стресс.

**R.R. Sharipov, A.V. Kotsiuruba, B.S. Kopyak, V.F. Sagach**

#### **INDUCTION OF OXIDATIVE STRESS IN HEART MITOCHONDRIA OF BRAIN FOCAL ISCHEMIA-REPERFUSION AND PROTECTIVE EFFECT OF ECDYSTERONE**

Based on the fact that the acute phase of ischemic stroke is accompanied by the development of heart damage, manifestations of which are oxidative stress, morphological changes in the myocardium, in the model of brain focal ischemia – reperfusion, we investigated the oxidative stress in rat heart mitochondria and possible mechanisms of cardioprotective effect of ecdysterone. Under the conditions of brain focal ischemia – reperfusion, there is an increase rate of the generation of reactive oxygen species: superoxide ( $\text{O}_2^-$ ) and hydroxyl radicals ( $\text{OH}\cdot$ ), pools of stable hydrogen peroxide ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), accumulate products of lipid peroxidation (diene conjugates and malonic dialdehyde), as a result of activation xanthine oxidase (marker uric acid), lipoxygenase (marker leukotriene  $\text{C}_4$ ) and cyclooxygenase (marker tromboxane  $\text{B}_2$ ) ways of  $\text{O}_2^-$  generating. In animals that received ecdysterone for 18 days, under conditions of brain focal ischemia – reperfusion, the rate of reactive oxygen species generation and the pools of lipid peroxidation products were decreased, and the survival of animals was increased. The obtained results support the development of oxidative stress in heart mitochondria of rats, powerful antiradical properties of ecdysterone, its cardioprotective effect, in conditions of brain focal ischemia - reperfusion.

*O. O. Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv*

#### **REFERENCES**

1. Dolgov AM. Tserebrokardialny syndrome in ischemic

- stroke. Herald of intensive therapy 1995;(2):15-18. [In Russian].
2. Zhdanov GN, Gerasimov MM. Studying the content of proinflammatory and anti-inflammatory cytokines in the serum of patients with acute phase of ischemic stroke. Cytokines and Inflammation 2006;5(1):27-30. [In Russian].
3. Costantini P, Belzacq AS, Vieira HL et al. Oxidation of a critical thiol residue of the adenine nucleotide translocator enforces Bcl-2-independent permeability transition pore opening and apoptosis. Oncogene. 2000;19(2):307-314.
4. Gunter TE, Yule DI, Gunter KK et al. Calcium and mitochondria. FEBS Lett. 2004;567(1):96-102.
5. Crompton M. Bax, Bid and the permeabilization of the mitochondrial outer membrane in apoptosis. Curr Opin Cell Biol. 2000;12(4):414-419.
6. Lafont R, Dinan L. Practical uses for ecdysteroids in mammals including humans: and update. J Insect Sci. 2003;3(7):1-30.
7. Tóth N, Hunyadi A, Báthori M, Zádor E. Phytoecdysteroids and Vitamin D Analogues – Similarities in Structure and Mode of Action. Curr. Med. Chem. 2010;17(18):1974-1994.
8. Kotsiuruba AV, Bukhanevich OM, Mehed' OF et al. The (27)-steroid hormones ecdysterone and calcitriol activate the phosphoinositol cycle in its membrane phase / Ukr Biokhim Zh. 1999;71(1):27-32. [In Ukrainian].
9. Kotsyuruba AB, Bukhanevich OM, Tuganova AB and Tarakanov SS. Mechanisms of the early effect of biologically active hydroxysterols: calcitriol and ecdysterone. Identification of sphingomyelin as the effector mechanism of the early effect. Ukr Biokhim Zh. 1995;67(2):53-58. [In Ukrainian].
10. Sagach VF, Korkach YP, Kotsyuruba AV et al. Inhibition of opening mitochondrial pore by ecdysterone in the heart of old rats / Fiziol Zh. 2008;54(4):3-10. [In Ukrainian].
11. Traystman RJ. Animal models of focal and global cerebral ischemia. ILAR J. 2003;44(2):85-95.
12. Smrcka M, Otevrel F, Kuchtickova S et al. Experimental model of reversible focal ischemia in the rat / Scripta medica (BRNO) 2001;(74):391-398.
13. Hossmann K-A. Animal models of cerebral ischemia. I. Review of literature. Cerebrovasc Dis. 1991;1:2-15.
14. Takizawa S, Hakim AM. Animal models of cerebral ischemia. Rat models. Cerebrovasc. Dis. 1991;1:16-21.
15. Conte D, Narindrasorasak S, Sarkar B et al. In vivo and in vitro iron-replaced zinc finger generates free radicals and causes DNA damage. J Biol Chem. 1996;271(9):5125-5130.
16. Humphries KM, Yoo Y, Szweda LI. Inhibition of NADH-linked mitochondrial respiration by 4-hydroxy-2-nonenal. Biochemistry. 1998;37(2):552-557.
17. Kuthan H, Ullrich V, Estabrook RW. A quantitative test for superoxide radicals produced in biological systems. Biochem J. 1982;203(3):551-8.
18. Gavrilov VB, Gavrilova AR, Khmara NF. Measurement of diene conjugates in blood plasma using the UV absorption of heptane and isopropanol extracts. Lab

- Work. 1988;(2):60-64. [In Russian]
19. Mihara M, Uchiyama M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. Anal Biochem. 1978;86(1):271-278.
  20. Mayer SA, Lin J, Homma S et al. Myocardial injury and left ventricular performance after subarachnoid hemorrhage. Stroke. 1999;30(4):780-786.
  21. Kotsiuruba AV, Bukhanevich OM, Tuhanova AV, Tarakanov SS. Mechanisms of the early effect of biologically active hydroxysterols: calcitriol and ecdysterone. Modulation of intracellular pools of arachidonic acid and products of its oxidative metabolism. Ukr Biokhim Zh. 1995;67(2):45-52. [In Ukrainian].
  22. Gusev EI, Skvortsova VI, Kovalenko AV, Sokolov MA. Mechanisms of brain tissue damage in acute focal cerebral ischemia. Zh Nevrol Psikhiatr. 1999;99(2):65-70. [In Russian].
  23. Tarasov NI, Tepliakov AI, Malakhovich EV et al. State of lipid peroxidation, blood antioxidant defense in patients with myocardial infarction aggravated by circulatory insufficiency. Ter Arkh. 2002;74(12):12-15. [In Russian].

*Ин-т фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України, Київ  
Egiptian77@gmail.com*

*Матеріал надійшов до  
редакції 20.03.2014*