

Вплив блокатора NMDA-рецепторів адемолу на функції та апоптотичні явища в зоровій корі головного мозку щурів при субарахноїдальному крововиливі

О.А. Ходаківський, І.Л. Черешнюк, О.І. Альчук, Л.І. Маринич,
Р.А. Кравець, О.В. Ходаківська

Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова; e-mail: vsmulab@gmail.com

На моделі експериментального геморагічного інсульту (введення у попередньо катетеризований субарахноїдальний простір гепаринізованої аутокрові з розрахунку 0,1 мл/100 г) встановлено, що курсова внутрішньовенна 21-добова інфузійна терапія щурів із субарахноїдальним крововиливом 1,0%-м розчином 1-адамантилетилокси-3-морфоліно-2-пропанол гідрохлориду (адемола) дозою 2 мг/кг, ефективніша, ніж німодипін (30 мкг/кг). У дослідних тварин це сприяє більш повноцінному регресу неврологічного дефіциту за шкалою stroke-index із помірного до легкого ступеня важкості при одночасному покращенні мнемоторної активності в тесті умовної реакції пасивного уникання, що вказує на притаманні адемолу нейропротекторні властивості. Разом з цим результати протокової цитофлуометрії у гострому періоді модельного субарахноїдального крововиливу (4-та доба), терапія щурів розчином адемола, як і референс-препаратом, призводить до зменшення у зоровій корі головного мозку відсотка нейронів, які мають ознаки фрагментації їхньої ядерної ДНК. Це свідчить на користь антиапоптотичного ефекту адемола в умовах геморагічного інсульту. Зважаючи на виражені мнемоторні та антиапоптотичні властивості, його можна віднести до первинних нейропротекторів, і вважати перспективним для спрямованого гальмування ранніх механізмів, які призводять до клітинної смерті при інсульті у людини.

Ключові слова: адемола; німодипін; субарахноїдальний крововилив; апоптоз; неврологічний дефіцит; пам'ять; нейропротекція; щури.

ВСТУП

В останні роки адамантанамісні біологічно активні речовини привертають значний інтерес науковців різних галузей медицини як потенційна платформа при розробці препаратів нейропротекторної спрямованості для терапії гострого порушення мозкового кровотоку (ГПМК) у людини і тварин [1 - 5]. Відомо, що патогенетичні ланки ішемічного каскаду за різних типів інсульту (ішемічний та геморагічний) схожі між собою [6], що зокрема, полягає у наявності спільного тригерного механізму – розвитку глутаматної нейротоксичності при надмірній активації

NMDA-збудливих рецепторів [7 - 12]. Однак є і суттєві відмінності, які пов'язані з появою додаткового патогномонічного чинника при геморагічному інсульті (ГІ), коли у людей часто фіксуються гематоми при внутрішньомозковому або субарахноїдальному крововиливі (САК) і рефлекторний ангіоспазм кортикальних судин. У таких хворих ГІ порівняно із ГПМК за ішемічним типом відрізняється більш важчим перебігом, високою летальністю, тяжчою неврологічною симптоматикою та більшою інвалідизацією. Треба відмітити, що застосування нейропротективної терапії

© О.А. Ходаківський, І.Л. Черешнюк, О.І. Альчук, Л.І. Маринич, Р.А. Кравець, О.В. Ходаківська

у пацієнтів з ГІ залишається актуальною загальномедичною проблемою сьогодення. За даними наших попередніх досліджень, які були присвячені вивченню протиішемічних властивостей одного із похідних адамантану – промислового зразка ампульного 1,0 %-го розчину 1-адамантилетилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду (адемола), встановлено, що цей препарат проявляє властивості блокатора так званих збудливих NMDA-глутаматних рецепторів. Слід відмітити, що при модельному ішемічному інсульті у тварин двох різних видів (щурів та монгольські піщанки) введення адемола ефективною дозою 2 мг/кг покращує кровобіг у каротидному басейні та зменшує вираженість неврологічних порушень у цих гризунів, що супроводжується покращенням їхніх мнестичних функцій [13]. Також встановлено, що на тлі його застосування позитивні функціональні зміни в ЦНС корелюють із послабленням явищ нейроцитодеструкції та нейроапоптозу в корі головного мозку цих тварин.

Метою нашої роботи було оцінити вплив адемола на неврологічний статус щурів та їх мнемоторну активність і охарактеризувати при цьому його антинейроапоптотичний ефект в умовах ГІ на моделі САК.

МЕТОДИКА

Оцінку впливу промислового зразка ампульного 1,0 %-го розчину адемола (Фармацевтична фірма «Дарниця», Україна) на неврологічний статус, мнемоторні функції та процеси апоптозу в зоровій корі головного мозку щурів вивчали на моделі САК. ГІ відтворювали введенням у попередньо катетеризований субарахноїдальний простір гепаринізованої аутокрові з розрахунку 0,1 мл/100 г під пропофоловим наркозом (60 мг/кг, внутрішньоочередово; «Fresenius Kabi», Австрія). На роль препарату порівняння (референсу) був обраний німодипін із розрахунку 30 мкг/кг (німотоп, «BayerPharma», Німеччина). Тваринам контрольної групи

робили ін'єкцію фізіологічного розчину (2 мл/кг). Експериментальне лікування ГІ розпочинали через 1 год після моделювання у щурів патологічного стану, а далі один раз на день упродовж 21 доби. Всі лікарські засоби вводили інфузійно внутрішньовенно, у попередньо катетеризовану (катетер внутрішньовенний «Унофлон» 22 G, Індія) стегнову вену за допомогою інфузоматної системи Braun McGaw (Німеччина). Загальний час інфузії становив у кожному окремому випадку 4 год. Під час терапії тварина знаходилась у вільному положенні у спеціальній камері-пеналі (ВІОРАС, США), яка використовується для проведення подібних маніпуляцій. Введення препаратів таким чином має низку переваг перед їх внутрішньоочередовими застосуваннями. Зокрема створюється пікова концентрація препарату в крові, яка підтримується упродовж певного тривалого проміжку (під час інфузії), що наближає умови проведення експериментальної фармакотерапії до клінічних. У разі застосування німодипіну, згідно з інструкцією-виробника, інфузоматна система була затемнена.

Оцінку здатності щурів до навчання та запам'ятовування аверсивного стимулу досліджували на 21-шу добу церебральної ішемії в тесті умовної реакції пасивного уникання (УРПУ) [14]. Методика ґрунтується на інстинкті тварин до обмеженого затемненого простору. Навчання проводили в двокамерній установці, що складалася з двох відсіків – світлого та темного. Тварину вміщували до світлого відсіку, фіксували латентний час входу в темний відсік, де щур отримував подразнення електричним струмом та вибігав у світлий відсік. Збереження УРПУ перевіряли через добу за зміною латентного часу входу щура до темного відсіку. Також відмічали кількість тварин, які намагались увійти до темної камери, але не завершили спроби. Динаміку неврологічного дефіциту у щурів із САК досліджували у гострому (4-та доба) та відновлювальному

(21-ша доба) періодах ГІ за сумою балів за шкалою stroke-index [15].

Вважається, що фрагментація ядерної ДНК – найважливіша складова частина апоптозу, і в цій його стадії він набуває практично незворотного характеру [16]. Тому доцільним було в умовах тотального спазму церебральних судин, що є наслідком САК охарактеризувати вплив адемолу на нейроапоптотичні зміни в зоровій корі головного мозку шурів за допомогою протокової цитометрії, яка являє собою один із поширених методів для оцінки фрагментації ДНК як маркера апоптозу. Це явище в ядрах клітин зорової кори головного мозку шурів досліджували на 4-ту добу ГІ на цитометрії Partec PAS («Partec», Німеччина). Протоковий аналіз виконували засобами програмного забезпечення FloMax («Partec», Німеччина) виділенням ділянки Sub-G₁ на ДНК-гістограмах [17].

Кількісні результати обробляли за допомогою програми статистичної обробки StatPlus 2009. Використовували параметричний критерій t Стьюдента при нормальному розподілі варіаційного ряду, непараметричний критерій Уайта – за його відсутності, парний критерій Вілкоксона – для визначення змін у динаміці всередині групи, кутове перетворення Фішера – при обліку результатів в альтернативній формі (наявність або відсутність певної ознаки, наприклад при оцінці окремих критеріїв неврологічного дефіциту). Відмінності вважали статистично значущими при $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Інтегративними показниками, що дають змогу оцінити якість захисної дії потенційного нейропротектора на ішемізований головний мозок в умовах ГІ, окрім його впливу на виживання тварин, є швидка ліквідація неврологічного дефіциту та покращення мнестичних функцій. Саме тому на першому етапі було доцільним дати по-

рівняльну оцінку курсової терапії шурів з модельним САК адемолом та референс-препаратом німодипіном за динамікою неврологічного статусу тварин у різні періоди експериментальної церебральної ішемії. Як препарат порівняння ми не мали можливості взяти нейропротектор із механізмом дії аналогічним адемолу, а саме блокадою NMDA-глутаматних рецепторів. Оскільки, незважаючи на високу ефективність деяких із них (наприклад, мемантину та амантадину сульфату) в умовах експериментальної церебральної ішемії, клінічні випробовування їх дієвості та безпечності ще тривають. Тому на роль референсу був обраний саме німодипін. Він вибірково взаємодіє з кальцієвими каналами L-типу та блокує трансмембранний потік кальцію. Німодипін має виражені вазодилатуючі та протиішемічні властивості, попереджаючи спазм судин кори головного мозку в умовах САК. Також йому притаманна і модулювальна дія на формування глутаматної ексайтотоксичності [18]. Все це за фармакологічними ефектами на головний мозок наближає німодипін до адемолу.

Слід відмітити, що введення шурам у субарахноїдальний простір аутокрові супроводжувалося змінами в неврологічному статусі із максимальним проявом на 4-ту добу спостереження (рис. 1). Так, на той період у тварин із САК, яким вводили лише фізіологічний розчин NaCl (група контрольної патології), середній бал за шкалою McGrow становив 7,33, що відповідає неврологічній симптоматиці середньо-тяжкого ступеня важкості. На 21-шу добу не спостерігалось повного відновлення втрачених функцій ЦНС. На користь такого твердження, по-перше, вказував наявний неврологічний дефіцит (4,8 бала). А по-друге, дослідження процесів пам'яті та навчання у відновлювальний період ГПМК за критерієм зменшення латентного періоду входу до темної камери, де тварини напередодні зазнавали електробольового подразнення кінцівок свідчать про пригнічення мнестичних функцій (рис. 2).

Експериментальне лікування щурів із ГПМК адемолом, як і німодипіном, сприяло покращенню їх неврологічного статусу, починаючи вже з перших діб церебральної ішемії (див. рис. 1). Аналізуючи динаміку регресу неврологічного дефіциту, можна відзначити, що як у ранній, так і у відновлювальний періоди САК, дія адемолу вірогідно переважала таку німодипіну. Так, на 4-ту добу спостереження середній бал становив 4,33 щодо 5,73, а наприкінці експерименту (21-ша доба) відповідно 2,73 щодо 4,06 ($P < 0,05$), що відповідає неврологічному дефіциту легкого або помірного ступеня важкості. Також нами встановлено, що адемолом вірогідно краще від німодипіну сприяв покращенню досліджуваних показників тесту УРПУ (див. рис. 2).

Результати проведених досліджень свідчать про те, що адемолом, будучи блокаторм NMDA-рецепторів, на тлі вираженої нейропротективної активності не чинить негативного впливу на мнестичні функції, а навпаки – гальмує формування неврологічного дефіциту у тварин після моделювання САК та покращує пам'ять. Отриманий результат не суперечить нейрофізіологічним та нейрофармакологічним аспектам глутамергічної трансмісії. Відомо, що деякі адамантанвмісні речовини, зок-

рема бiс-амонієві сполуки та похідні 1-аміно-, 2-аміно-, 1-оксо-адамонтана, є антагоністами/агоністами поліамінового сайту NMDA-рецепторів. Його модуляція гальмує розвиток нейродеструктивних процесів, опосередкованих глутаматною ексайтотоксичністю. Біологічно активні речовини із подібним механізмом дії мають нейротрофічну складову та здатні підвищувати експресію молекул пам'яті CREB [19]. Таким чином, похідні адамантану, яким притаманна модуляторна дія на поліаміновий сайт NMDA-рецепторів не призводять до появи небажаних побічних ефектів з боку ЦНС, що рееструються за змінами у поведінкових реакціях.

Апоптоз включається в патологію будь-яких проявів ішемічних та травматичних ушкоджень нервової тканини, включаючи деменціальні зміни внаслідок ГПМК або черепно-мозкових травм. Можна вважати апоптоз як окремий патобіохімічний механізм нейродегенеративних розладів широкого спектра. У попередніх наших дослідженнях, які торкались впливу адемолу на перебіг нейродеструктивних процесів за експериментального ішемічного інсульту встановлено, що терапія цим препаратом сприяє збереженню цитоархітекτονіки кори

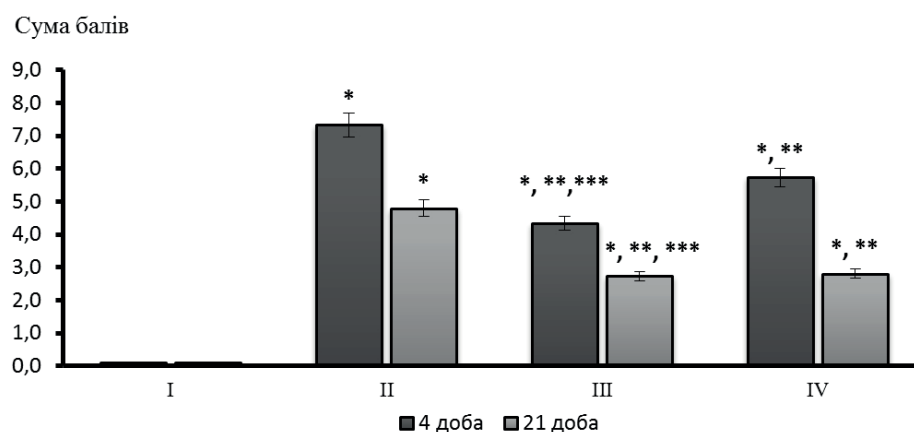


Рис. 1. Динаміка неврологічного дефіциту в балах за шкалою stroke-index у щурів із субарахноїдальним крововиливом на тлі внутрішньовенної інфузії розчинів адемолу та німодипіну ($n=15$). I - псевдооперовані тварини і введення 0,9%-го NaCl (2 мл/кг), II - контрольна група субарахноїдального крововиливу (САК) і введення 0,9%-го NaCl (2 мл/кг), III - САК і введення адемолу (2 мг/кг), IV - САК і введення німодипіну (30 мг/кг). * $P < 0,05$ відносно псевдооперованих тварин. ** $P < 0,05$ відносно контрольної групи; *** $P < 0,05$ відносно дії німодипіну

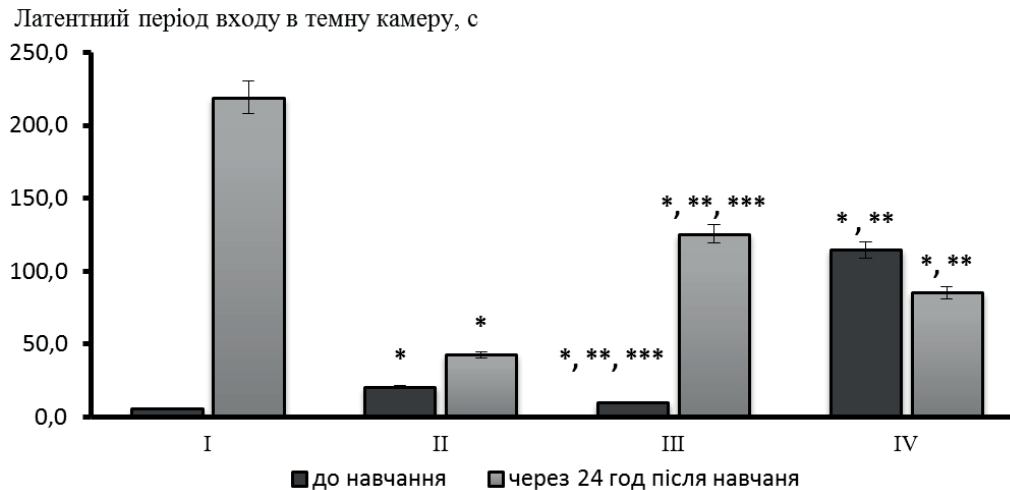


Рис. 2. Вплив внутрішньовенної інфузії розчинів адемолу та німодипіну на навчання та пам'ять щурів із субарахноїдальним крововиливом (21-ша доба експерименту), за тестом умовної реакції пасивного уникнення (n=15). I - псевдооперовані тварини і введення 0,9%-го NaCl (2 мл/кг), II - контрольна група субарахноїдального крововиливу (САК) і введення 0,9%-го NaCl (2 мл/кг), III - САК і введення адемолу (2 мг/кг), IV - САК і введення німодипіну (30 мкг/кг). * P<0,05 відносно псевдооперованих тварин. ** P<0,05 відносно контрольної групи; *** P<0,05 відносно дії німодипіну

головного мозку щурів, яке доводиться вірогідним зниженням активності нейрон-специфічної енолази, інтенсивності фрагментації ДНК ядер (маркера нейроапоптозу) та щільності деструктивно-змінених, при збереженні площі тіл нейронів, а також вмісту в них нуклеїнових кислот [20, 21].

Проведене дослідження показало, що у тварин групи контрольної групи інтенсивність фрагментації ДНК в ядрах нейронів лобних часток кори головного мозку через 4 доби після моделювання ГІ вірогідно зросла відносно показника псевдооперованих щурів у середньому в 1,83 раза (рис. 3, 4). Отримані

результати можуть вказувати на процес інтенсивного формування зони ішемії кори за рахунок нейроцитів, які перебувають у стані апоптотичної смерті.

Окреме лікувальне курсове введення щурам із модельним САК адемолу, як і німодипіну чинило подібний за спрямованістю та силою антинейроапоптотичний вплив. На користь такого твердження вказувало достовірне відносно тварин групи контрольної групи зменшення рівня фрагментації ДНК в ядрах нейронів зорової кори головного мозку в середньому на 31,3 та 22,4 % відповідно (див. рис. 3 та 4).

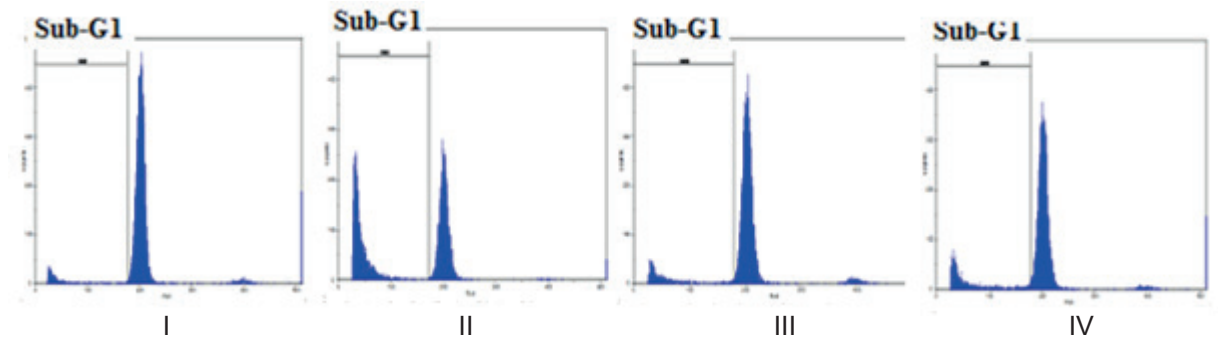


Рис. 3. Приклади ДНК-гістограм ядерних суспензій клітин зорової кори головного мозку псевдооперованих тварин (I) та щурів із моделлю субарахноїдального крововиливу (4-та доба), що отримували внутрішньовенну інфузію: II – 0,9%-го розчину NaCl (контрольна група); III – адемолу (2 мг/кг); IV – німодипіну (30 мкг/кг). Sub-G1 – фрагментація ядерної ДНК (апоптоз)

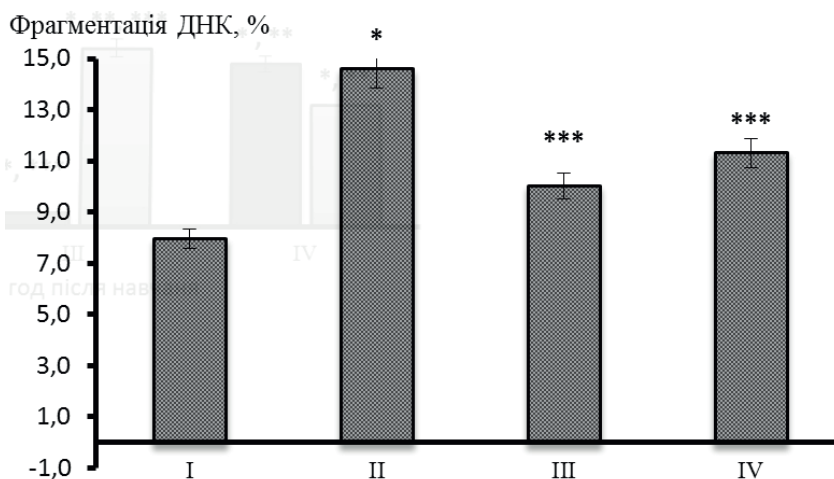


Рис. 4. Вплив внутрішньовенної інфузії розчинів адемолу та німодипіну (4-та доба терапії) на відсоток клітин у зоровій корі головного мозку щурів із субарахноїдальним крововиливом, які мають ознаки фрагментації їхньої ядерної ДНК за даними протокової цитометрії (n=8). I - псевдоперовані тварини і введення 0,9%-го NaCl (2 мл/кг), II - контрольна група субарахноїдального крововиливу (САК) і введення 0,9%-го NaCl (2 мл/кг), III - САК і введення адемолу (2 мг/кг), IV - САК і введення німодипіну (30 мкг/кг). * P<0,05 відносно псевдоперованих тварин. ** P<0,05 відносно контрольної групи; *** P<0,05 відносно дії німодипіну

Пригнічення апоптозу, очевидно, свідчить про локалізацію та редукцію зони ішемії за рахунок збереження числа функціонально позитивних нейронів. Описаний вид активності у адемолу, може бути пов'язаний із його здатністю регулювати експресію в головному мозку гена раннього реагування *c-fos* та антиапоптотичного *bcl-2* [22].

Зважаючи на виражені протиішемічні та антиапоптотичні властивості адемолу при САК, його можна віднести до первинних нейропротекторів, що робить цей фармакологічний засіб перспективним для патогенетично спрямованого переривання ранніх механізмів клітинної смерті, і дає обґрунтовану можливість застосування його в майбутньому на перших етапах судинно-мозкової катастрофи у людей.

ВИСНОВКИ

Курсова внутрішньовенна 21-добова інфузійна терапія щурів із модельним субарахноїдальним крововиливом 1,0 %-м розчином адемолу дозою 2 мг/кг вірогідно

позитивніше, ніж застосування німодипіну (30 мкг/кг), сприяє більш повноцінному регресу неврологічного дефіциту за шкалою *stroke-index* із помірного до легкого ступеня важкості при одночасному покращенні мнемотропної активності в тесті умовної реакції пасивного уникання, що вказує на притаманні адемолу нейропротекторні властивості.

За результатами протокової цитометрії у гострому періоді модельного субарахноїдального крововиливу (4-та доба), терапія щурів розчином адемолу на рівні німодипіну сприяє зменшенню відсотка нервових клітин у зоровій корі головного мозку щурів, які мають ознаки фрагментації їхньої ядерної ДНК, що свідчить на користь антинейроапоптотичного ефекту препарату в умовах геморагічного інсульту.

Зважаючи на виражені мнемотропні та антиапоптотичні властивості адемолу, його можна віднести до первинних нейропротекторів, що робить цей фармакологічний засіб перспективним для патогенетично спрямованого переривання ранніх механізмів клітинної смерті при інсульті у людини.

**А.А. Ходаковский, И.Л. Черешнюк,
А.И. Альчук, Л.И. Маринич, Р.А. Кравец,
О.В. Ходаковская**

ВЛИЯНИЕ БЛОКАТОРА NMDA-РЕЦЕПТОРОВ АДЕМОЛА НА ФУНКЦИИ И ЯВЛЕНИЯ АПОПТОЗА В ЗРИТЕЛЬНОЙ КОРЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ СУБАРАХНОИДАЛЬНОМ КРОВОИЗЛИЯНИИ

На модели экспериментального геморрагического инсульта (введение в предварительно катетеризованное субарахноидальное пространство гепаринизированной аутокрови из расчета 0,1 мл/100 г) установлено, что курсовая внутривенная 21-суточная инфузионная терапия крыс с субарахноидальным кровоизлиянием 1,0%-м раствором 1-адамантилетилокси-3-морфолино-2-пропанол гидрохлорида (адемола) дозой 2 мг/кг, эффективнее, чем применение нимодипина в дозе 30 мкг/кг. У экспериментальных животных она способствует более полноценному регрессированию неврологического дефицита по шкале stroke-index с умеренной до легкой степени тяжести при одновременном улучшении мнемотропной активности в тесте условной реакции пассивного избегания, что указывает на присущие адемола нейропротекторные свойства. Вместе с тем результаты проточной цитофлуометрии, в остром периоде модельного субарахноидального кровоизлияния (4-е сутки), терапия крыс раствором адемола, как и референс-препаратом, приводит к уменьшению в зрительной коре головного мозга процента нейронов, имеющих признаки фрагментации их ядерной ДНК. Это свидетельствует в пользу антиапоптотического эффекта адемола в условиях геморрагического инсульта. Учитывая выраженные мнемотропные и антиапоптотические свойства, его можно отнести к первичным нейропротекторам и полагать перспективным для направленного торможения ранних механизмов, которые приводят к клеточной смерти при инсульте у человека.

Ключевые слова: адемола; нимодипин; субарахноидальное кровоизлияние; апоптоз; неврологический дефицит; память; нейропротекция; крысы.

**О.А. Khodakovskiy, I.L. Chereshniuk,
O.I. Alchuk, L.I. Marynych, R.A. Kravets,
O.V. Khodakivska**

EFFECTS OF NMDA RECEPTOR ADEMOL ON FUNCTIONS AND APOPTOSIS IN VISUAL CORTEX AFTER SUBARACHNOID HEMORRHAGE IN RATS

Using model of hemorrhagic stroke in rats (heparinized autologous blood was injected into the subarachnoid space at a dose of 0.1 ml/100 g), we discovered that 21 days course of

intravenous therapy with 1% solution of 1-adamantiloxy-3-morpholino-2-propanolhydrochloride (ademol) at a dose of 2 mg/kg was more effective to reduce neurological deficit (from severe to moderate by stroke-index, $p < 0.05$) and improve mnemotropic activity in the test of passive avoidance compared to nimodipine at a dose of 30 mg/kg. These findings proved neuroprotective properties of ademol. Therapy with ademol as well as with reference drug in the acute phase of subarachnoid hemorrhage (4th day) resulted in a decrease in the number of cells with fragmented DNA in the visual cortex in rats. The results of our study indicated anti-apoptotic action of ademol on the cortical neurons after hemorrhagic stroke. Taking into account pronounced mnemotropic and anti-apoptotic effects of ademol, it has been classified as a primary neuroprotective drug and can be used as pathogenetic therapeutic agent to prevent early cell death after stroke in human.

Key words: ademol; nimodipine; subarachnoid hemorrhage; apoptosis; neurological deficit; memory; neuroprotection; rats.

*National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya,
vsmulab@gmail.com*

REFERENCES

1. Lipton SA. Failures and successes of NMDA receptor antagonists: molecular basis for the use of open-channel blockers like memantine in the treatment of acute and chronic neurologic insults. *NeuroRx*. 2004 Jan;1(1):101-10. doi: 10.1602/neurorx.1.1.101. PubMed PMID: 15717010.
2. Makotrova TA, Trusova NA, Shrader NI, Levin OS. [Neuroprotective potential of akatinol-memantine in ischemic stroke]. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S.S. Korsakova*. 2013;113(7 Pt 2):82-5. [Russian]. PubMed PMID: 23994936.
3. Mirzoyan RS, Gan'shina TS, Maslennikov DV, Kovalev GI, Zimin IA, Pyatin BM, et al. Cerebrovascular and neuroprotective effects of adamantine derivative. *Biomed Res Int*. 2014;2014:586501. doi: 10.1155/2014/586501. Epub 2014 Mar 20.
4. Hoque A, Hossain MI, Ameen SS, Ang CS, Williamson N, Ng DC, et al. A beacon of hope in stroke therapy-blockade of pathologically activated cellular events in excitotoxic neuronal death as potential neuroprotective strategies. *Pharmacol Ther*. 2016 Apr;160:159-79. doi: 10.1016/j.pharmthera.2016.02.009. Epub 2016 Feb 17.
5. Chen ZZ, Yang DD, Zhao Z, Yan H, Ji J, Sun XL. Memantine mediates neuroprotection via regulating neurovascular unit in a mouse model of focal cerebral ischemia. *Life Sci*. 2016 Apr 1;150:8-14. doi: 10.1016/j.lfs.2016.02.081. Epub 2016 Feb 23.
6. Statinova EA, Cherniy TV, Tkacheva EL, Kugler SE. Application of complex treatment of neuroprotection in ischemic stroke. *Ukrain's'kyj zhurnal ekstremal'noi' medycyny imeni G.O.Mozhajeva*. 2010;11(4):110-16. [Russian].
7. Germanò A, Caffo M, Angileri FF, Arcadi F, Newcomb-

- Fernandez J, Caruso G, et al. NMDA receptor antagonist felbamate reduces behavioral deficits and blood-brain barrier permeability changes after experimental subarachnoid hemorrhage in the rat. *J Neurotrauma*. 2007 Apr;24(4):732-44. doi: 10.1089/neu.2006.0181. PubMed PMID: 17439355.
8. Hazell AS. Excitotoxic mechanisms in stroke: an update of concepts and treatment strategies. *Neurochem Int*. 2007 Jun;50(7-8):941-53. doi: 10.1016/j.neuint.2007.04.026. Epub 2007 May 10. PubMed PMID: 17576023.
 9. Liu X, Hunter C, Weiss HR, Chi OZ. Effects of blockade of ionotropic glutamate receptors on blood-brain barrier disruption in focal cerebral ischemia. *Neurol Sci*. 2010 Dec;31(6):699-703. doi: 10.1007/s10072-010-0241-5. Epub 2010 Mar 9.
 10. Montagne A, Hébert M, Jullienne A, Lesept F, Le Béhot A, Louessard M, et al. Memantine improves safety of thrombolysis for stroke. *Stroke*. 2012 Oct;43(10):2774-81. doi:10.1161/STROKEAHA.112.669374. Epub 2012 Aug 9.
 11. Im DS, Jeon JW, Lee JS, Won SJ, Cho SI, Lee YB, et al. Role of the NMDA receptor and iron on free radical production and brain damage following transient middle cerebral artery occlusion. *Brain Res*. 2012 May 21;1455:114-23. doi: 10.1016/j.brainres.2012.03.025. Epub 2012 Mar 17.
 12. Righy C, Bozza MT, Oliveira MF, Bozza FA. Molecular, Cellular and Clinical Aspects of Intracerebral Hemorrhage: Are the Enemies Within? *Curr Neuropharmacol*. 2016;14(4):392-402. PubMed PMID: 26714583; PubMed PMCID: PMC4876594.
 13. Khodakivskyi OA. [Comparative impact assessment adamantane derivatives of compounds UK-1 and UK-4 on the activity of NMDA-receptor]. *Clinical Pharmacol*. 2011;15(4):60-3. [Ukrainian].
 14. Buresh Ja, Bureshova O, Hjuston D. [Methods and basic experiments on study of brain and behavior]. Moscow: Vysshaja shkola, 1991. 398 p. [Russian].
 15. McGrow CP. Experimental Cerebral Infarction Effects of Pentobarbital in Mongolian Gerbils. *Arch Neurol*. 1977 Jun;34(6):334-6. PubMed PMID: 871258.
 16. Mushkambarov NN, Kuznetsov SL. [Molecular biology: a manual for students of medical schools]. Moscow: MIA, 2007. 536 p. [Russian].
 17. Portier BP, Ferrari DC, Tagliatela G. Rapid assay for quantitative measurement of apoptosis in cultured cells and brain tissue. *J Neurosci Methods*. 2006 Jul 15;155(1):134-42. doi: 10.1016/j.jneumeth.2006.01.024. Epub 2006 Mar 23. PubMed PMID: 16563518.
 18. Babu CS, Ramanathan M. Post-ischemic administration of nimodipine following focal cerebral ischemic-reperfusion injury in rats alleviated excitotoxicity, neurobehavioural alterations and partially the bioenergetics. *Int J Dev Neurosci*. 2011 Feb;29(1):93-105. doi: 10.1016/j.ijdevneu.2010.08.001. Epub 2010 Aug 14.
 19. Kotel'nykova SO, Nepoklonov AV, Kokshenev YY, Yvanova EA, Krayneva VA, EA Val'dman, et al. [Comparative study of himantane and amantadine effects in experimental intracerebral posttraumatic hematoma]. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S.S. Korsakova*. 2012;112(9):63-6. [Russian]. PubMed PMID: 23235415
 20. Khodakivskyi OA. [Estimation of influence of experimental therapy of ademol on intensity of flow of destructive changes in membrane of neurons in mongolian herbels under condition of acute cerebral ischemia]. *Reports of Morphology*. 2011;17(1):62-5. [Ukrainian].
 21. Khodakivskyi OA, Chereschnyuk IL. Investigation of influence of derivate of adamantan ademol on fragmentation of DNA nucleuses of neurons of frontal lobes of cortex under ischemia reperfusion of brain in rats. *Ukrains'kyi visnyk psikhonevrolohii*. 2013;21(1):26-28. [Ukrainian].
 22. Khodakovskiy OA, Pavlov SV, Buchtiyarova NV. Modulation of apoptosis with ademol under condition of modeling of acute disorder of encephalic circulation by influence on expression of early reacting gens. *Nauchnie vedomosti Belhorodskoho natsyonal'noho unyversyteta*. 2013;22(11):155-159. [Russian].

Матеріал надійшов до редакції 02.11.2016