

## Промотор апоптоза ген р53 и антиапоптозный ген bcl-2 в пролиферирующих клетках

И.А.Комаревцева, Э.Н.Попов, Е.В.Комаревцева, А.В.Заика

Луганский государственный медицинский университет, кафедра медицинской химии,  
кафедра хирургии и урологии  
Луганск, Украина

В работе изучены уровень апоптоза, экспрессия промотора апоптоза гена р53 и антиапоптозного гена Bcl-2, антигена клеточной пролиферации (PCNA) в клетках кожи интактной и при локальной воспалительной реакции. Внутрикожное введение никотиновой кислоты и Кутис Композитум в кератиноцитах эпидермиса активизирует программу апоптоза, что вызывает рост фрагментированной ДНК, оверэкспрессии р53 и низкую иммунопозитивность Bcl-2. Внутрикожное введение никотиновой кислоты и Кутис Композитум в кератиноцитах эпидермиса сопровождается также стимуляцией пролиферации PCNA.

**Ключевые слова:** апоптоз, пролиферация, клетки эпидермиса кожи.

### ВВЕДЕНИЕ

Апоптоз — тонко регулируемый физиологический процесс, способный элиминировать ненужные клетки, не вызывая воспалительный ответ и его последствия. Это принципиально важно для эмбриогенеза, поддержания тканевого гомеостаза, а также для защиты от инфекционных агентов и канцерогенеза [6]. Множество различных стимулов, таких как клеточный стресс, отсутствие в среде факторов роста, повреждение ДНК, цитокиновая сигнализация, могут вызвать апоптоз [5]. Хотя триггерные механизмы всех этих стимулов различны, как различны и пути трансформации их в клетку, большинство из них, в конечном счете, сходятся на внутриклеточном протеолитическом каскаде. Стимуляция протеолиза приводит к необратимому распаду клеточных белков, выполняю-

щих структурную роль в клетке, а также распаду белков, вовлеченных в контроль клеточного цикла, синтеза и репарации ДНК. Наконец, эти биохимические события приводят к деформации клеточной мембраны, сморщиванию клетки и конденсации хроматина, которые являются характерными морфологическими особенностями апоптоза [8].

В коже клетки, умирающие путем апоптоза, были найдены при различных состояниях, типа воспалительных дерматозов и опухолей кожи [4, 18, 19]. Накапливаются данные, что апоптоз играет важную роль не только в патогенезе кожных заболеваний, но и также вовлечен в гомеостатические механизмы в здоровой коже [15, 17]. В этом отношении конечное дифференцирование кератиноцитов является специальной формой апоптоза, поскольку есть подобия между терминально дифференцирующимися кератиноцитами и апоптотической клеткой. Так, в гранулярных кератиноцитах имеются признаки активации эндонуклеазы и фрагментации ДНК [3, 9, 16]. Таким образом, вероятно, что пролиферация кератиноцитов регулируется апоптотической смертью клетки, чтобы поддерживать постоянную толщину эпидермы.

Появление новых данных по экспрессии Fas, FasL и белков семейства Bcl-2 в коже при разнообразных состояниях и заболеваниях раскрывает роль апоптоза в регулировании гомеостаза в коже [7, 10, 11]. Простое присутствие Fas и FasL в клетках кожи — только первый детерминант апоптоза. Восприимчивость клеток кожи к сигналам смерти, типа Fas/FasL-связывание или депривации цитокина может быть изменена многими различными белками, например белками семейства Bcl-2 [13].

Апоптоз, являясь нормальным проявлением жизнедеятельности организма, также оказывается компонентом воспалительных процессов,

поскольку он важен не только для формирования структуры тканей, но и для сохранения этой структуры. Так, при нарушении механизмов регуляции апоптоза может служить основой патологических синдромов и являться важным фактором патогенеза ряда заболеваний — от аутоимунных и опухолевых процессов при подавлении апоптоза до дефектов развития цитопений, иммунодефицитов и генерализованных воспалительных процессов при его усилении [12, 14, 18, 19].

Целью работы явилось изучение уровня апоптоза, экспрессии промотора апоптоза гена p53 и антиапоптозного гена Bcl-2, антигена ядер пролиферирующих клеток (PCNA) в клетках кожи в норме и при воспалении.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При проведении данной работы эксперименты были поставлены на белых крысах-самцах линии Wistar, 16-недельного возраста, массой 200-300 г, которые были распределены на следующие группы:

1. Контрольная группа — животные, которым внутридермально вводили физиологический раствор, — 11 крыс.
2. Животные, которым внутридермально вводили никотиновую кислоту (НК), — 16 крыс.
3. Животные, которым внутридермально вводили Кутис Композитум (КК), — 18 крыс.

Всего в эксперименте было использовано 45 животных. В экспериментальной работе использовали препараты провоспалительного и противовоспалительного действия. Исследования проводили на 9 сут. моделирования воспалительной реакции в коже. Выбранные нами сроки исследования были обусловлены процессом нормальной регенерации тканей после моделируемого асептического внутрикожного воспаления.

Все исследования проводились в одно и то же время суток. Препараты вводили внутрикожно инсулиновым шприцем (глубина 1-2 мм) в 30 одновременных последовательных инъекциях при общем объеме вводимых растворов до 0,7 мл. Область введения — наружная поверхность левого бедра, которая являлась зоной морфологических исследований (область кожи контралатерального бедра являлась дополнительным морфологическим контролем).

Все лекарственные средства и изотонический раствор хлорида натрия (физиологический

раствор) вводили 1 раз в 3 дня в общем объеме 0,7 мл. Препарат НК (1% раствор) и препарат Кутис Композитум (2,2% раствор) вводили в количестве 0,2 мл, разведенных физиологическим раствором до 0,7 мл.

Детекция апоптоза осуществлялась по выявлению ДНК-фрагментации в гомогенатах ткани кожи с дифениламиновым реагентом по методу U.K.Messmer [2] в нашей модификации [1]. Ее суть заключается в том, что гомогенат ткани сразу готовится в лизис-буфере (рН=8). В качестве среды выделения использовался лизис-буфер (5 мМ Tris HCl, 20 мМ ЭДТА (рН=8), 0,5% Trilon X-100) в объемном соотношении 1:9. Пробу готовили при t=4°C. Аликвоту каждой пробы центрифугировали в течение 15 мин. при 13000 g, отделяя интактный хроматин (осадок) от фрагментированной ДНК (супернатант). Затем пробы ресуспензировали в 500 μл ТЕ-буфера (10 мМ Tris HCl, 1 мМ ЭДТА, рН=8) и преципитировали в 600 μл 12% трихлоруксусной кислоты (ТХУ) при t=4°C. Далее преципитаты центрифугировали при 4000 g 10 мин. и супернатант отбрасывали. В пробирки с осадком добавляли по 300 μл 5% ТХУ и проводили гидролиз на водяной бане при 90°C в течение 10 мин. Затем пипеткой осторожно из пробирок отбирали супернатант. После охлаждения в пробирки с супернатантом добавляли дифениламиноновый реагент в объемном соотношении 1:2. Максимальное развитие окраски достигалось через 17-18 ч при комнатной температуре.

Интенсивность окраски прямо пропорциональна содержанию ДНК в пробе. После проведения цветной реакции аликвоты раствора переносили в кюветы спектрофотометра (СФ-46) и измеряли оптическую плотность при λ=570 нм против контроля (дифениламиноновый реагент + 5% ТХУ).

Степень повреждения ДНК выражали в процентах как отношение ее количества в надосадочной жидкости к суммарному количеству в осадке и надосадочной жидкости.

Маркеры апоптоза и пролиферативную активность клеток эпидермиса определяли иммуногистохимическим методом. При изучении пролиферативных процессов использовали определение антигена ядер пролиферирующих клеток (PCNA), при оценке клеточной гибели — экспрессию промотора апоптоза гена p53 и антиапоптозного гена Bcl-2. Иммуногистохимическое исследование проводили на серийных парафиновых срезах толщиной 5 мкм. Срезы инкубировали с антителами к PCNA

ТАБЛИЦА 1  
Показатели ДНК-фрагментации  
в клетках кожи

Вводимое вещество	ДНК-фрагментация в клетках кожи, % (биохимический показатель апоптоза)	
	N	M±m
Физиологический раствор	12	11,16±0,67
Никотиновая кислота	10	38,28±2,01
Кутис Композитум	10	27,97±1,75

Примечания: N – размер выборки; M – среднее значение показателей; m – ошибка средней при достоверности разницы показателей в группах сравнения по Вилкоксона,  $p \leq 0,005$ .

(Dako, Дания, клон PC-10, предварительное разведение), p53 (Dako, Дания, клон DO-7, рабочее разведение 1:100), Bcl-2 (Dako, Дания, клон 124, рабочее разведение 1:20). Индексы мечения (ИМ) PCNA и p53 рассчитывали как отношение числа позитивно окрашенных ядер к общему числу ядер. При исследовании препаратов, окрашенных антителами к Bcl-2, рассчитывали отношение иммуногистохимически позитивных клеток с окрашенной цитоплазмой к общему числу клеток. Анализ изображения проводили с помощью флуоресцентного микроскопа с цифровой видеокамерой и программой анализа изображения BioVision 2.0.

Статистический анализ проводился пакетом статистических программ SPSS 8.0. Распределение выборки проверялось критерием Колмогорова-Смирнова, а также по величине асимметрии и акцесса. При нормальном распределении изучаемых выборок применялись методы параметрической статистики с использованием критерия Стьюдента. При ненормальном распределении изучаемых выборок, а также при оценке качественных показателей использовались методы непараметрической статистики: ранговый и знаковый критерии Вилкоксона и критерий  $\chi^2$  (хи-квадрат). Достоверность учитывалась при  $\alpha$  (альфа)  $\leq 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для выявления степени выраженности запрограммированной гибели клеток под воздействием локальной стимуляции определяли уровень ф-ДНК в клетках кожи. Показатели были статистически значимыми и имели высокую степень достоверности.

Исследование показало, что уровень фрагментированной ДНК при введении НК превосходит таковой в других группах (табл. 1). Про-

цент фрагментации ДНК в коже животных, которым вводили НК, составил  $M=38,28 \pm 2,01$ , в то время как в группе животных, которым вводили КК, он оказался значительно меньше и составил  $M=27,97 \pm 0,002$  при  $p < 0,001$ . Данное исследование указывает на усиление апоптоза клеток кожи в ответ на введение НК по сравнению с КК. Введение КК вызывает запрограммированную генетическую гибель гораздо менее выражено, чем НК, но более значимо, чем в контрольной группе  $M=11,16 \pm 0,67$  при  $p < 0,001$ . Более высокое значение показателя ф-ДНК при введении КК, вероятно, указывает на активацию медиаторного каскада активации воспалительной реакции в коже [18].

Результаты корреляционного анализа показателей ф-ДНК и значения показателей областей инфильтрации воспалительными клетками выявили прямую взаимосвязь степени выраженности апоптоза и активности воспалительной реакции в коже ( $r=0,472$ ;  $p=0,006$ ). Данный факт предполагает наличие прямого влияния моделируемой воспалительной реакции на запуск механизмов гибели клеток кожи.

До последнего времени считалось, что нерепарируемые повреждения ДНК приводят клетку к гибели в результате нарушения функций всех биохимических систем из-за невозможности полноценной транскрипции генов, содержащих дефекты в матрице ДНК [6]. Исследования последних лет привели к формированию принципиально новых представлений о механизме гибели клеток, имеющих повреждения ДНК, как о процессе, осуществляемом в соответствии с определенной генетической программой. В индукции этой программы при наличии повреждений в ДНК клетки важная роль принадлежит белку p53 [7]. Этот белок с молекулярной массой 53 кДа локализован в ядре клетки и является одним из транскрипционных факторов, повышенная экспрессия которого приводит к репрессии ряда генов, регулирующих транскрипцию и причастных к задержке клеток в фазе клеточного цикла G1. При повреждении ДНК под действием ионизирующего излучения или УФ-излучения, ингибиторов топоизомеразы II и некоторых других воздействиях происходит активация экспрессии гена p53. Блок клеточного цикла в фазах G1 и G2 до репликации ДНК и митоза, соответственно, делает возможной репарацию поврежденной ДНК и предотвращает тем самым появление мутантных клеток. Если же активность репарационных систем недостаточна и повреждения ДНК сохраняются, то в таких клетках

индуцируется программируемая клеточная гибель или апоптоз, что приводит к защите организма от присутствия клеток с поврежденной ДНК, то есть мутантных и способных к злокачественной трансформации [4, 11].

На уровне транскрипции p53 регулирует экспрессию генов, участвующих в блокаде клеточного цикла — p21 (ингибитор большинства циклин-зависимых киназ), либо взаимодействует или с комплексами, определяющими синтез и репарацию ДНК, или с белками, модулирующими апоптоз — Bax [6].

Мутации гена p53 позволяют таким клеткам сохранять жизнеспособность в митозе, что чревато выживанием клеток, подвергшихся опухолевой трансформации. И действительно, при онкологической трансформации обнаружено значительное количество мутаций гена p53 [9]. Мутации гена p53 связаны с плохим прогнозом в лечении злокачественных новообразований. Такие опухолевые клетки оказываются резистентными к лучевой и химиотерапии. И наоборот, опухоли с нормальным (диким типом) p53 легко поддаются лечению [10].

Таким образом, при действии генотоксических агентов p53 не только увеличивает время репарации ДНК, но также защищает организм от клеток с опасными мутациями. Блокирование процесса апоптоза, происходящее на разных стадиях канцерогенеза, приводит к снижению способности трансформированных клеток активировать программу клеточной гибели, что определяет прогрессию опухолевого заболевания [4].

В клетках кожи человека также содержится протеин p53, кодируемый геном p53 [6]. Получая сигналы о клеточном повреждении, белок p53 либо останавливает клеточный цикл для репарации генома, либо индуцирует апоптотическую гибель клетки. Активированный белок p53 одновременно осуществляет индукцию белков-промоторов апоптоза **bax**, **bak**, **bad**, а также репрессию белков-ингибиторов апоптоза — **bcl-2** и **bcl-x**. Таким образом, дисбаланс между экспрессией генов белков, отвечающих за выживаемость клеток, и семейства белков, ответственных за гибель клеток, является механизмом, контролирующим гомеостаз клеток кожи [17].

Как показали наши исследования (рис. 1), при введении физиологического раствора в эпидермис кожи крыс экспрессия промотора апоптоза p53 была минимальной, о чем свидетельствует низкая степень выраженности иммунопозитивной реакции.

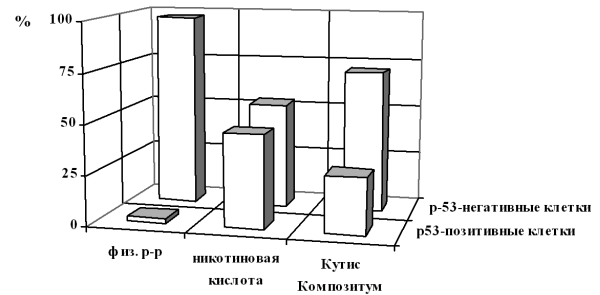


Рис. 1. Экспрессия p53 в кератиноцитах эпидермиса кожи.

По мнению некоторых авторов, в нормальных клетках белка p53 содержится мало — на уровне чувствительности методов определения. Полупериод жизни этого белка составляет приблизительно 5-20 мин., p53 постоянно обновляется путем синтеза [6, 15]. Другие авторы подтверждают, что в физиологических условиях «дикий тип» (wt)p53, характеризующийся коротким периодом полураспада (не более 20 мин.), содержится в клетках в очень низких концентрациях, которые обычно ниже чувствительности иммуногистохимических методов [7].

При введении крысам никотиновой кислоты число p53-позитивных клеток составляло 46,6±6,8%, а в группе введения Кутис Композитум — 28,4±5,3%, что коррелирует с уровнем ДНК-фрагментации в этих группах и свидетельствует об активации апоптоза в кератиноцитах эпидермиса при воспалительном ответе путем гиперэкспрессии промотора апоптоза — белка p53.

Процесс регулируемой клеточной гибели условно может быть разделен на несколько различных фаз: фаза инициации апоптоза, проведение сигнала, активация каспаз, активация эндонуклеаз и специфическая деградация ДНК, в результате чего наступает гибель клетки [6].

Если начальные фазы различаются в зависимости от типа клеток и апоптоз-индуцирующего сигнала, то этап деградации ДНК универсален

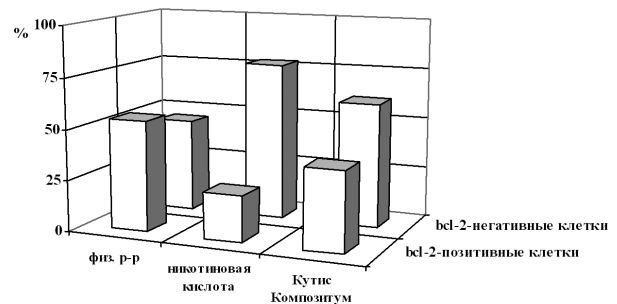


Рис. 2. Экспрессия bcl-2 в кератиноцитах эпидермиса кожи.

для большинства клеток. Эта фаза является переходом к необратимой — терминальной стадии апоптоза, которую контролируют белки семейства Bcl-2, производные одноименных генов [13]. В связи с этим, выяснение роли белков семейства Bcl-2 занимает центральное место в изучении регуляции процесса апоптоза. К настоящему времени известно, что белки этого семейства относятся либо к индукторам апоптоза (Bad, Bax, Bcl-Xs, Bik, Bid, Bak), либо к ингибиторам (Bcl-2, Bcl-XL) [6]. Белки семейства Bcl-2 находятся в постоянном динамическом равновесии, образуя гомо- и гетеродимеры, что в конечном счете влияет на развитие апоптоза клеток. Поэтому считается, что соотношение активных форм этих белков определяет реостат жизни и смерти клетки. Механизм регуляции этого процесса целесообразно рассматривать с позиции структурно-функциональных взаимоотношений между белками этого семейства, которые позволяют объединить их в одно семейство — Bcl-2.

По нашим данным (рис. 2), экспрессия bcl-2 в кератиноцитах эпидермиса была максимальной в группе введения физиологического раствора, при введении никотиновой кислоты и КК иммунопозитивность bcl-2 была выражена слабее.

При оценке другими исследователями процесса экспрессии белка bcl-2 в коже установлено, что иммунопозитивная реакция кератиноцитов к антителам белка определяется чаще в цитоплазме клеток базального слоя эпидермиса [16].

Экспрессия bcl-2 в базальных кератиноцитах должна обеспечивать выживание активно пролиферирующим клеткам. Так ли это происходит при воспалительной реакции, мы изучили на экспрессии антигена ядер пролиферирующих клеток (PCNA) в клетках кожи в норме и при воспалении.

Введение никотиновой кислоты в эпидермис крыс стимулирует процессы пролиферации. Экспрессия PCNA была максимальной в данной группе исследования, тогда как экспрессия bcl-2 (рис. 2) при этом была подавлена высокой экспрессией p53 (рис. 1).

Описанные особенности экспрессии bcl-2 свидетельствуют о преимущественном повышении резистентности к проапоптотическим сигналам менее дифференцированных клеток эпидермиса.

## ВЫВОДЫ

Таким образом, роль апоптоза в воспалительном ответе кожи можно резюмировать сле-

дующим образом. Апоптоз служит регулятором численности структурных элементов и их «правильного» распределения в ткани кожи. При развитии воспалительной реакции с помощью апоптоза контролируется ее интенсивность, течение и степень генерализации. Апоптоз участвует в эффективной элиминации «отработавших» в ходе воспаления клеток и способствует эффективным восстановительно-репаративным процессам в ткани.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Комаревцев В.Н., Комаревцева И.А., Фильчуков Д.А., Головченко Н.Н., Харченко В.В. Апоптоз и патоморфоз опухолей почек // Лікарська справа. — 2001. — Т.1059. — №4. — С. 115-118.
2. Messmer U.K., Verena A.B. Basic fibroblast growth factor selectively enhances TNF — induced apoptotic cell death in glomerular endothelial cells // Biochem. I. — 1996. — Vol. 319. — P. 299-305.
3. Alibardi L. Structural and immunocytochemical characterization of keratinization in vertebrate epidermis and epidermal derivatives // Int. Rev. Cytol. — 2006. — Vol. 253. — P. 177-259.
4. Batinac T., Zamolo G., Ruzić A. Apoptosis in skin cancer development and regression // Coll. Antropol. — 2007. — Vol. 31 (Suppl. 1). — P. 23-28.
5. Bickers D.R., Athar M. Oxidative stress in the pathogenesis of skin disease // J. Invest. Dermatol. — 2006. — Vol. 126. — №12. — P. 2565-2575.
6. Boehm I. Apoptosis in physiological and pathological skin: implications for therapy // Curr. Mol. Med. — 2006. — Vol. 6. — №4. — P. 375-394.
7. Brash D.E. Roles of the transcription factor p53 in keratinocyte carcinomas // Br. J. Dermatol. — 2006. — Vol. 154 (Suppl. 1). — P. 8-10.
8. Contassot E., Gaide O., French L.E. Death receptors and apoptosis // Dermatol. Clin. — 2007. — Vol. 25. — №4. — P. 487-501.
9. D'Errico M., Lemma T., Calcagnile A. Cell type and DNA damage specific response of human skin cells to environmental agents // Mutat. Res. — 2007. — Vol. 614. — №1-2. — P. 37-47.
10. Eberle J., Fecker L.F., Forscher T., Ulrich C., Rüdert-Huber J., Stockfleth E. Apoptosis pathways as promising targets for skin cancer therapy // Br. J. Dermatol. — 2007. — Vol. 156 (Suppl. 3). — P. 18-24.
11. Erb P., Ji J., Kump E. Apoptosis and pathogenesis of melanoma and nonmelanoma skin cancer // Adv. Exp. Med. Biol. — 2008. — Vol. 624. — P. 283-295.
12. Girardi M. Cutaneous perspectives on adaptive immunity // Clin. Rev. Allergy Immunol. — 2007. — Vol. 33. — №1-2. — P. 4-14.
13. Hossini A.M., Eberle J. Apoptosis induction by Bcl-2 proteins independent of the BH3 domain // Biochem. Pharmacol. — 2008. — Vol. 76. — №11. — P. 1612-1619.
14. Kuhn A., Bijl M. Pathogenesis of cutaneous lupus erythematosus // Lupus. — 2008. — Vol. 17. — №5. — P. 389-393.

15. Makrantonaki E., Zouboulis C.C. Molecular mechanisms of skin aging: state of the art // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* — 2007. — Vol. 1119. — P. 40-50.
16. Moll R., Divo M., Langbein L. The human keratins: biology and pathology // *Histochem. Cell Biol.* — 2008. — Vol. 129. — №6. — P. 705-733.
17. Okuyama R., Tagami H., Aiba S. Notch signaling: its role in epidermal homeostasis and in the pathogenesis of skin diseases // *J. Dermatol. Sci.* — 2008. — Vol. 49. — №3. — P. 187-194.
18. Pastore S., Mascia F., Mariani V. The epidermal growth factor receptor system in skin repair and inflammation // *J. Invest. Dermatol.* — 2008. — Vol. 128. — №6. — P. 1365-1374.
19. Ruiz-Argüelles A., Brito G.J., Reyes-Izquierdo P. Apoptosis of melanocytes in vitiligo results from antibody penetration // *J. Autoimmun.* — 2007. — Vol. 29. — №4. — P. 281-286.

**І.О.Комаревцева, Е.М.Попов, К.В.Комаревцева, О.В.Заїка. Промотор апоптозу ген p53 і антиапоптозний ген Bcl-2 у проліферуючих клітинах. Луганськ, Україна.**

**Ключові слова:** апоптоз, проліферація, клітини епідермісу шкіри.

У роботі вивчені рівень апоптозу, експресія промотора апоптозу гену p53 і антиапоптозного гену Bcl-2, антигену клітин проліферації (PCNA) у клітинах шкіри у нормальному стані і в умовах запалення. Внутрішньошкірне введення ніко-

тинової кислоти і Кутис Композитум в кератиноцитах епідермісу активує програму апоптозу, що дало зріст фрагментованої ДНК, оверекспресії p53 і низьку імунопозитивність Bcl-2. Внутрішньошкірне введення нікотинової кислоти і Кутис Композитум до епідермісу щурів супроводжується також стимуляцією проліферації, про що свідчить експресія антигену клітин проліферації PCNA.

**I.A.Komarevtseva, E.N.Popov, K.V.Komarevtseva, A.V.Zaika. The promotor of apoptosis gen p53 and antiapoptotic gen Bcl-2 in cell proliferation. Lugansk, Ukraine.**

**Key words:** apoptosis, proliferation, skin cells.

The level of apoptosis, expression of the promotor of apoptosis gen p53 and antiapoptotic gene Bcl-2, antigen of nuclear proliferates cells (PCNA) in cells of the skin in normal conditions and at inflammation was investigated. Intracutaneous introduction of nicotinic acid and Kutis Kompositum is accompanied by activation of the program of apoptosis that was expressed in high levels of fragmented DNA, the overexpression of p53 and low level of expression of Bcl-2. Intracutaneous introduction of nicotinic acid and Kutis Kompositum was accompanied also with stimulation of proliferation about what expression of antigen of nuclear proliferate cells PCNA is testify.

Надійшла до редакції 12.02.2009 р.

© Український журнал клінічної та лабораторної медицини, 2009  
УДК 615.21:616.833 — 001 — 053.31

## Клинический опыт использования цереброкурина у новорожденных с гипоксически-ишемическим повреждением головного мозга

Г.И.Постернак, М.Ю.Ткачева, Н.Н.Фетисов, Л.В.Калиниченко,  
А.В.Сабадаш, И.Н.Чеканова, И.Л.Холин, В.Б.Черкасов

Луганский государственный медицинский университет, Луганская областная детская клиническая больница,  
Луганский городской родильный дом  
Луганск, Украина

Статья посвящена результатам изучения эффективности цереброкурина в комплексе интенсивной терапии новорожденных в условиях гипоксически-ишемического повреждения головного мозга.

**Ключевые слова:** новорожденные, гипоксически-ишемическое повреждение головного мозга, лечение.