

УДК 615.214.2:616.36:615.065:616.831-008.6

<https://doi.org/10.24959/ubphj.20.258>Ю. В. ХАРЧЕНКО<sup>1</sup>, Н. С. БОНДАРЕНКО<sup>1</sup>, А. Г. СЕРДЮК<sup>1</sup>, Г. О. УШАКОВА<sup>2</sup>, В. І. ЖИЛЮК<sup>1</sup><sup>1</sup> Державний заклад «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», Україна<sup>2</sup> Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара, Україна

## ЗМІНИ НЕЙРОНАЛЬНО-АСТРОЦИТАРНОГО АПАРАТУ ГІПОКАМПУ НА ТЛІ ТРИВАЛОГО ВВЕДЕННЯ ІЗОНІАЗИДУ ТА РИФАМПІЦИНУ ЗА УМОВ ВВЕДЕННЯ ФІКСОВАНОЇ КОМБІНАЦІЇ ІПІДАКРИНУ ГІДРОХЛОРИД/ФЕНІБУТ

**Вступ.** Основним недоліком протитуберкульозних засобів першого ряду ізоніазиду та рифампіцину є їх здатність викликати медикаментозно-індуковане ураження печінки. Водночас окрім гепатотоксичних у 12-24 % випадків їх застосування займають і неврологічні розлади. Наслідком цих процесів є порушення синаптичної пластичності, процесів навчання та пам'яті. Додатковим вагомим фактором у розвитку неврологічних розладів, зокрема когнітивної дисфункції, може бути і порушення балансу кишкової мікрофлори. Одним із напрямків, спрямованих на усунення або послаблення проявів когнітивного дефіциту при різноманітних патологічних станах, є призначення засобів з нейропротекторними властивостями. Однак і сьогодні достеменно невідомою є їх ефективність при порушеннях функції ЦНС, що виникають внаслідок тривалої протитуберкульозної терапії. Адаже можна передбачити, що неврологічні розлади можуть бути опосередковані комплексом взаємопов'язаних факторів.

**Метою** даної роботи було визначити морфометричні та ультраструктурні особливості нейронів та гліальних клітин, а також рівні гліального фібрилярного кислого білка (ГФКБ) у гіпокампі щурів за умов тривалого введення ізоніазиду та рифампіцину на тлі експериментальної терапії фіксованою комбінацією іпідакрину гідрохлорид/фенібут.

**Матеріали та методи.** Дослідження проведені на трьох групах білих щурів-самців лінії Вістар з медикаментозно-індукованим гепатитом, який відтворювали шляхом інтрагастрального введення ізоніазиду та рифампіцину впродовж 28 діб. Щурам дослідної групи впродовж останніх 14 діб експерименту інтрагастрально вводили іпідакрину гідрохлорид/фенібут (1/60 мг/кг). Вміст цитозольної ГФКБ у гіпокампі визначали методом конкурентного твердофазного імуноферментного аналізу. Аналіз напівтонких зрізів CA1 поля гіпокампу щурів здійснювали з використанням програми аналізу Image J. Дослідження ультраструктурних характеристик проводили за допомогою трансмісійного електронного мікроскопа ПЕМ-100-01 («SELM1», Україна).

**Результати та їх обговорення.** За умов експериментальної фармакотерапії питома кількість дегенеративно змінених нейронів була значимо нижчою за показники тварин контролю. При цьому астроцити характеризувалися істотно нижчим набряком цитоплазми та адаптативно-компенсаторними змінами у мітохондріях, а вміст цитоплазматичної ГФКБ був на 44,2 % ( $P = 0,0065$ ) нижчим за групи тварин з гепатитом.

**Висновки.** Курсове введення іпідакрину та фенібуту зменшує виразність проявів нейродегенерації, покращує стан астроглії у гіпокампі, а також знижує цитоплазматичні рівні гліального кислого фібрилярного білка у тварин з медикаментозно-індукованими ураженнями печінки.

**Ключові слова:** іпідакрину гідрохлорид; фенібут; медикаментозне ураження печінки; гіпокамп

Yu. Kharchenko<sup>1</sup>, N. Bondarenko<sup>1</sup>, A. Serdyuk<sup>1</sup>, G. Ushakova<sup>2</sup>, V. Zhyliuk<sup>1</sup><sup>1</sup> State Institution "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine", Ukraine<sup>2</sup> Oles Honchar Dnipro National University, Ukraine

### The role of glia in the mechanisms of neural protection of the fixed combination of ipidacrine hydrochloride / phenibut on the background of drug-induced liver injury

**Topicality.** The main disadvantage of the first-line anti-TB drugs isoniazid and rifampicin is their ability to cause drug-induced liver injury. At the same time, in addition to hepatotoxic, in 12-24 % of cases are neurological disorders. The consequence of these processes is a disturbance of synaptic plasticity, learning processes and memory. In addition, significant factor in the development of neurological disorders may be an imbalance of intestinal microflora. One of the possible options at eliminating or attenuating the manifestations of cognitive deficiency in various pathological conditions is the appointment of drugs with neuroprotective properties. However, even today their effectiveness studied not enough for central nervous system dysfunctions arising from prolonged anti-TB therapy. Therefore, we can assume that neurological disorders can be due to a complex of interrelated factors.

**Aim.** To determine the morphometric and ultrastructural features of neurons and glial cells, as well as the levels of glial fibrillary acid protein (GFAP) in the hippocampus of rats under long-term administration of isoniazid and rifampicin during experimental therapy with a fixed combination of ipidacrine hydrochloride/phenibut.

**Materials and methods.** Studies were conducted on three groups of white Wistar male rats with drug-induced hepatitis, reproduced by intragastric administration of isoniazid and rifampicin for 28 days. In the last 14 days of the intragastric experiment, rats of the research group were administered ipidacrine hydrochloride/phenibut (1/60 mg/kg). The content of cytosolic GFAP in the hippocampus was determined by competitive enzyme-linked immunosorbent assay. Semi-thin sections of CA1 sections of the rat hippocampus were analyzed, Image J. analysis program used. The ultrastructural characteristics were studied, PEM-100-01 transmission electron microscope used (Selmi, Ukraine).

**Results and discussion.** Under the experimental pharmacotherapy the specific number of degeneratively altered neurons was significantly lower than in the controlled animals. At the same time, astrocytes were characterized by significantly less edema of the cytoplasm and adaptive-compensatory changes in mitochondria, and the content of cytoplasmic GFAP was 44.2 % ( $P = 0.0065$ ) lower than the group of animals with hepatitis.

**Conclusions.** Course administration of ipidacrine and phenibut reduces the severity of neurodegeneration appearance, improves the state of astroglia in the hippocampus, and it also reduces the cytoplasmic levels of glial acidic fibrillary protein in animals with drug-induced liver injury.

**Key words:** ipidacrine hydrochloride; phenibut; drug-induced liver injury; hippocampus

Ю. В. Харченко<sup>1</sup>, Н. С. Бондаренко<sup>1</sup>, А. Г. Сердюк<sup>1</sup>, Г. А. Ушакова<sup>2</sup>, В. И. Жилуок<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Государственное учреждение «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», Украина

<sup>2</sup> Днепропетровский национальный университет имени Олеся Гончара, Украина

### Изменения нейронально-астроцитарного аппарата гиппокампа на фоне длительного введения изониазида и рифампицина в условиях введения фиксированной комбинации ипидакрина гидрохлорид/фенибут

**Вступление.** Основным недостатком противотуберкулезных средств первого ряда изониазида и рифампицина является их способность вызывать медикаментозно-индуцированное поражение печени. В то же время кроме гепатотоксических в 12-24 % случаев их применения занимают и неврологические расстройства. Следствием этих процессов является нарушение синаптической пластичности, процессов обучения и памяти. Дополнительным весомым фактором в развитии неврологических расстройств, в частности когнитивной дисфункции, может быть и нарушение баланса кишечной микрофлоры. Одним из вариантов, направленных на устранение или ослабление проявлений когнитивного дефицита при различных патологических состояниях, является назначение средств с нейротропными свойствами. Однако и сегодня точно неизвестна их эффективность при нарушениях функции ЦНС, возникающих вследствие длительной противотуберкулезной терапии. Можно предположить, что неврологические расстройства могут быть обусловлены комплексом взаимосвязанных факторов.

**Целью** данной работы было определить морфометрические и ультраструктурные особенности нейронов и глиальных клеток, а также уровни глиального фибриллярного кислого белка (ГФКБ) в гиппокампе крыс в условиях длительного введения изониазида и рифампицина на фоне экспериментальной терапии фиксированной комбинацией ипидакрина гидрохлорид/фенибут.

**Материалы и методы.** Исследования проведены на трёх группах белых крыс-самцов линии Вистар с медикаментозно-индуцированным гепатитом, воспроизведённым путём интрагастрального введения изониазида и рифампицина в течение 28 суток. Крысам исследовательской группы в течение последних 14 суток эксперимента интрагастрально вводили ипидакрина гидрохлорид/фенибут (1/60 мг/кг). Содержание цитозольной ГФКБ в гиппокампе определяли методом конкурентного твердофазного иммуноферментного анализа. Анализ полутонких срезов СА1 поля гиппокампа крыс осуществляли с использованием программы анализа Image J. Исследование ультраструктурных характеристик проводили с помощью трансмиссионного электронного микроскопа ПЭМ-100-01 («SELMi», Украина).

**Результаты и их обсуждение.** В условиях экспериментальной фармакотерапии удельное количество дегенеративно изменённых нейронов было значимо ниже показателей животных контроля. При этом астроциты характеризовались существенно меньшим отёком цитоплазмы и адаптативно-компенсаторными изменениями в митохондриях, а содержание цитоплазматической ГФКБ было на 44,2 % ( $P = 0,0065$ ) ниже, чем у группы животных с гепатитом.

**Вывод.** Курсовое введение ипидакрина и фенибута уменьшает выраженность проявлений нейродегенерации, улучшает состояние астроглии в гиппокампе, а также снижает цитоплазматические уровни глиального кислого фибриллярного белка у животных с медикаментозно-индуцированным поражением печени.

**Ключевые слова:** ипидакрина гидрохлорид; фенибут; медикаментозно-индуцированное поражение печени; гиппокамп

### ВСТУП

Згідно з рекомендаціями Всесвітньої організації охорони здоров'я ізоніазид, рифампіцин, піразинамід та етамбутол є протитуберкульозними засобами (ПТЗ) першого ряду. На жаль, основним недоліком ізоніазиду та рифампіцину є їх здатність викликати медикаментозно-індуковане ураження печінки (МІУП), а найбільш ймовірним основним джерелом гепатотоксичності цих препаратів є їх СУР2Е1-опосередкований метаболізм з утворенням токсичних метаболітів чи вільних радикалів [1-3]. Характерно, що сумісне застосування ізоніазиду і рифампіцину супроводжується ефектом взаємопотенціювання токсичних властивостей, що збільшує ризик суттєвого ушкодження печінки [4]. Найбільшу небезпеку становить безсимп-

томний «субклінічний» перебіг МІУП, при якому подальший прийом ПТЗ призводить до тяжкого медикаментозного гепатиту, який супроводжується жовтяницею та печінковою енцефалопатією [5].

Слід зазначити, що в структурі побічних реакцій, які виникають при хіміотерапії туберкульозу, окрім гепатотоксичних у 12-24 % випадків застосування ПТЗ займають неврологічні симптоми [6]. Причому найбільш поширені прояви ураження нервової системи спостерігаються при використанні препаратів групи гідразиду ізонікотинової кислоти, а ключовим механізмом нейротоксичності є зниження вмісту піридоксальфосфату. Основними ж біохімічними проявами цих процесів є пригнічення N-метил-D-аспартатних (NMDA) рецепторів, а також зниження вмісту ГАМК

у нейронах та зростання у глії [6]. Наслідком цих процесів є порушення синаптичної пластичності, процесів навчання та пам'яті.

Вагомим фактором у розвитку неврологічних розладів, зокрема когнітивної дисфункції, може бути і порушення балансу кишкової мікрофлори [7]. З літературних джерел відомо, що хіміотерапія туберкульозу в цілому істотно не змінює загальної різноманітності мікробіому, проте різко виснажує множинні імунологічно значимі коменсальні бактерії [8, 9]. Причому зрушення стану мікробіоти після проведеної терапії можуть зберігатися не менше 1 року [9].

Одним із напрямків, спрямованих на усунення або послаблення проявів когнітивного дефіциту при різноманітних патологічних станах, є призначення засобів з нейропротекторними властивостями [10]. Однак і сьогодні достеменно невідомою є їх ефективність при порушеннях функції ЦНС, що виникають внаслідок тривалої протитуберкульозної терапії. Адже можна передбачити, що неврологічні розлади можуть бути опосередковані комплексом взаємопов'язаних факторів.

Добре відомо, що центральною ланкою лімбічної системи є гіпокамп, а його вирішальне значення у кодуванні та консолідації пам'яті, а також роль у нормальному функціонуванні різних типів пам'яті (просторової, моторної, вербальної, соціальної) доведена численними дослідженнями [11, 12]. У свою чергу, найбільш поширеними та динамічними клітинами в ЦНС є астроцити. Вони становлять приблизно 85 % усіх клітин глії та забезпечують первинні процеси комунікації між мозком та кров'ю. Астроцити наділені життєво важливими фізіологічними та метаболічними властивостями. Зокрема, вони беруть активну участь у нейрональному розвитку та інтеграції мозкових функцій, включаючи напрям росту, структурну, метаболічну та трофічну підтримку нейронів, а також модуляцію їх збудливості і нервових імпульсів [13, 14].

Одним зі специфічних маркерів астроцитів є гліальний фібрилярний кислий білок (ГФКБ). Він є головним структурним компонентом проміжних філаментів астроцитарного цитоскелету та необхідний для підтримки їх стабільної морфології, адгезії та проліферації, а також модуляції гліально-нейрональної взаємодії у нормі та патології. Вплив агресивних факторів по відношенню до нейронів супроводжується реакцією астроцитів у вигляді посиленого синтезу ГФКБ та інтенсивного фібрилогенезу, що може відігравати роль у морфогенезі центральної нервової системи (ЦНС) [15-17], а також у процесах навчання та формування набутих навичок [18].

Отже, метою даної роботи було визначити морфометричні та ультраструктурні особливості нейронів та гліальних клітин, а також рівні гліального фібрилярного кислого білка у гіпокампі щурів за умов тривалого введення ізоніазиду та рифампіцину на тлі експериментальної терапії фіксованою комбінацією іпідакрину гідрохлорид/фенібут.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проведені на 18 білих щурах-самцях лінії Wistar масою 180-220 г, які отримані з ПП «Далі-2001», що знаходилися у стандартних умовах віварію Державного закладу «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (температура повітря:  $22 \pm 2$  °C, світло/темрява: 12/12 годин). Утримання тварин, експериментальні процедури та виведення тварин з експерименту виконувалися у відповідності до Директиви 2010/63/EU Європейського парламенту та Ради Європи від 22 вересня 2010 року по захисту тварин, які використовуються в наукових цілях [19, 20].

Експериментальну модель МІУП відтворювали шляхом повторних шлункових введень ізоніазиду та рифампіцину у дозах 50 мг/кг і 86 мг/кг маси тіла впродовж 28 днів з використанням Полісорбату (LAUROPAN T/80, Італія) і дистильованої води [21].

Тварин було розподілено на три групи ( $n = 6$  у кожній). I – інтактна, II – контроль (МІУП). Щурам III-ї групи впродовж останніх 14 днів експерименту за годину до введення туберкулостатиків інтрагастрально вводили фіксовану комбінацію іпідакрину гідрохлорид/фенібут («Когніфен®», Olainfarm, Латвія) у дозах 1/60 мг/кг. Контрольним та інтактним щурам вводили аналогічний обсяг дистильованої води.

Через 24 години після останнього введення препаратів тварин знеживлювали методом термінальної анестезії тіопентал-натрієм (60 мг/кг, інтраперитонеально). Мозок щурів вилучали, очищали від оболонок і капілярів та виділяли гіпокамп. Гомогенізацію тканини проводили при  $+4$  °C в буфері, що вміщував трис-НСІ – 25 мМ (рН 7,4), ЕДТА – 1 мМ,  $\beta$ -меркаптоетанол – 2 мМ, фенілметилсульфонілфторид – 0,2 мМ та мертиолят – 0,01 % у співвідношенні 1 : 10. Під час центрифугування отримували цитозольну фракцію білка; екстракцію виконували за допомогою тритону X-100 (2 %). Кількісний вміст ГФКБ визначали за допомогою конкурентного твердофазного імуноферментного аналізу з використанням первинних моноспецифічних поліклональних антитіл проти ГФКБ, вторинних антикролячих антитіл, мічених пероксидазою хрому (Abscam, UK) та очищених протеїнів ГФКБ в якості стандарту. Вміст ГФКБ характеризували відношенням його кількості в пробі до кількості загального білка (ЗБ) у даному екстракті (мкг ГФКБ /мг ЗБ). Кількість ЗБ у фракції визначали за методом Бредфорда [22]. Вимірювання оптичної густини здійснювали на мікропланшетному фотометрі «Anthos 2010» при довжині хвилі 492 нм.

Для морфологічного дослідження зразки CA1 поля гіпокампу фіксували впродовж 3-4 годин при  $t +2$  °C в 2,5 % розчині глютаральдегіду в 0,1 М фосфатному буфері (рН 7,3). Подальша фіксація проводилась в 1 % забуференому (рН 7,4) розчині тетраоксиду осмію ( $OsO_4$ , «SPI», США) впродовж 1 години. Зневоднювання зразків тканин проводили у спиртах зростаючої

концентрації та пропіленоксидом. Для виготовлення епоксидних блоків використовували композицію Епон-812 («SPI-Pon™ 812 Epoxy Embedding Kit», США).

**Світлооптична мікроскопія.** Аналіз напівтонких зрізів на основі методу світлової мікроскопії, які забарвлювали за допомогою 1 % водного розчину толуїдинового синього. Мікроскопічне вивчення проводили з використанням тринокулярного світлооптичного мікроскопу «Primo Star Carl Zeiss» з фотовиходом та використанням об'єктивів  $\times 10$ ,  $\times 40$ ,  $\times 100$ .

**Морфометричний аналіз.** Кількісний аналіз мікроскопічних показників гіпокампу щурів здійснювали в ручному режимі з використанням програми аналізу цифрових зображень Image J (Image J, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA) [23]. В ході аналізу було проведено визначення питомої кількості дегенеративно змінених пірамідальних нейронів (%). До останньої категорії відносили: 1) так звані «світлі» нейрони, що характеризувалися набуханням перикаріону та зниженням щільності гранулярної ендоплазматичної сітки (грЕПС) (хроматоліз); 2) «темні» нервові клітини з ознаками пікнозу, що мали гіперхромне конденсоване ядро та сому; «клітини-тіні».

**Трансмійсна електронна мікроскопія.** Виготовлення ультратонких зрізів товщиною 60-80 нм здійснювали на ультрамікромомі УМТП-6М («SELM1», Україна) з їх подальшим розміщенням на опорних сітках (Mesh Regular Grid 200). Подвійне контрастування проводили 5 % водним розчином ураніацетату впродовж 10 хв при температурі  $+37\text{ }^{\circ}\text{C}$  з наступною 15-хвилинною імпрегнацією цитратом свинцю за методом Рейнольдса. Дослідження проводили за допомогою трансмісійного електронного мікроскопа ПЕМ-100-01 («SELM1», Україна) при напрузі прискорення 70-75 кВ і первинних збільшеннях від 1500 до 20000 за стандартною схемою. Електронні мікрофотографії отримували за допомогою цифрової системи виводу зображень SEO-SCAN.

Визначення активності АлАТ та АсАТ у сироватці крові для підтвердження ушкодження печінки здійснювали за допомогою наборів реагентів для клінічної біохімії виробництва High Technology Inc. (США) на біохімічному аналізаторі BS-3000M (Sinnova, Китай) виробництва High Technology Inc. (США).

Таблиця 1

**ВІДНОСНИЙ ВМІСТ ЦИТОПЛАЗМАТИЧНОЇ ФРАКЦІЇ NSAM У ГІПОКАМПІ ЩУРІВ НА ТЛІ ВВЕДЕННЯ ІЗОНІАЗИДУ ТА РИФАМПІЦИНУ І ЗАСТОСУВАННЯ ДОСЛІДНИХ ЗАСОБІВ**

Групи тварин	ГФКБ, мкг/мг ЗБ
Інтактні щури (n = 6)	3,09 ± 0,266
Контроль (МІУП, n = 6)	3,64 ± 0,196
МІУП + Іпідакрин/Фенібут (n = 6)	2,03 ± 0,262*

Примітка: \* –  $P < 0,01$  – по відношенню до показників тварин з МІУП.

Отриманий цифровий матеріал обробляли методом варіаційної статистики за допомогою програми статистичного аналізу StatPlus, AnalystSoft Inc. Версія 6 (див. <http://www.analystsoft.com/ru/>). Математична обробка включала розрахунки середніх арифметичних значень (M), їх похибок ( $\pm m$ ), вірогідність різниці середніх арифметичних (p) розрахована за допомогою непараметричного – U-критерію Манна-Уїтні.

**РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ**

Результати проведених досліджень свідчать, що повторні інтрагастральні введення ізоніазиду та рифампіцину супроводжувалися явищами гепатоцитолізу, про що свідчило зростання на 54,4 % ( $p < 0,05$ ) рівнів індикативного фермента АлАТ у крові контрольних тварин у порівнянні з інтактними щурами. Додатковим критерієм було і збільшення на 39,4 % ( $p < 0,05$ ) відносної маси печінки.

Водночас у ході експерименту визначено, що тривалі введення ізоніазиду та рифампіцину було асоційоване зі змінами вмісту цитозольної фракції ГФКБ, отриманої з гіпокампу. Ці зміни характеризувалися тенденцією до зростання рівнів цього протеїну на 17,8 % ( $P = 0,2$ ) у порівнянні з інтактними тваринами (табл. 1).

На відміну від групи тварин з відтвореним в експерименті МІУП у дослідній групі показники вмісту ГФКБ були істотно нижчими і на 44,2 % ( $P = 0,0065$ ) поступалися значенням групи контрольних тварин (табл. 1).

Згідно з результатами морфометричного аналізу СА1 поля гіпокампу у тварин з МІУП відмічалось зростання у 8,57 рази ( $p < 0,05$ ) питомої кількості дегенеративно змінених нейронів (табл. 2).

Основними проявами нейрональної деструкції були: гіперхромні і зменшені у розмірах перикаріони, потоншені відростки та вакуолізована нейроплазма за рахунок порушення мітохондріального апарату. Поряд з цим виявлялися і збільшені світлі гіпохромні нейрони округлої форми з ознаками тигролізу. Ядерця дегенеративно змінених клітин слабо візуалізувалися. Пікнотично змінені нейрони з явищами необоротного ушкодження мали зморщені деформовані перикаріони та відростки з різко гіперхромною нейроплазмою, що ідентифікувалися як апоптотично змінені

Таблиця 2

**ПИТОМА КІЛЬКІСТЬ ДЕГЕНЕРАТИВНО ЗМІНЕНИХ НЕЙРОНІВ (%) В СА1 ПОЛІ ГІПОКАМПУ ЩУРІВ З МІУП ЗА УМОВ ВВЕДЕННЯ ФІКСОВАНОЇ КОМБІНАЦІЇ ІПІДАКРИНУ ГІДРОХЛОРИД/ФЕНІБУТ**

Інтактні тварини	Контроль, МІУП	МІУП + Іпідакрин/Фенібут
8,09 ± 0,70	69,33 ± 1,31*	39,15 ± 3,85**/**

Примітки: \* –  $p < 0,05$  у порівнянні з групою інтактних тварин; \*\* –  $p < 0,05$  у порівнянні з тваринами з МІУП.

нейрони. Разом тим глія переважно характеризувалася збільшенням у розмірі астроцитів за рахунок виразного набряку, що візуально проявлялося наявністю помітного блідого обідка цитоплазми навколо ядра цих клітин.

Водночас ультраструктурні зміни перикаріонів нейронів CA1 поля гіпокампу щурів із МІУП характеризувалися зменшенням у розмірах тіл темних нейронів за рахунок ущільнення цитоплазми та ядра (рис. 1).

Ушкодження органел цих клітин характеризувалося набряком та розширенням диктіосом комплексу Гольджі, цистерн та каналців гранулярної та гладкої ЕПС, заповнених електронно-щільним вмістом. Окрім цього спостерігалось зменшення кількості рибосом на мембранах, що свідчило про хроматоліз нервових клітин. Також відзначалася загальна редукція числа вільних рибосом у цитоплазмі. Зміни з боку мітохондрій відбувалися у вигляді деструкції крист, їх виразного набряку та просвітлення матриксу, а також явищ мітофагії. Окрім цього, відзначалися поодинокі органели з незмінною будовою (рис. 2). Також спостерігався суттєвий набряк перинеуронального ділянці (рис. 1, 2).

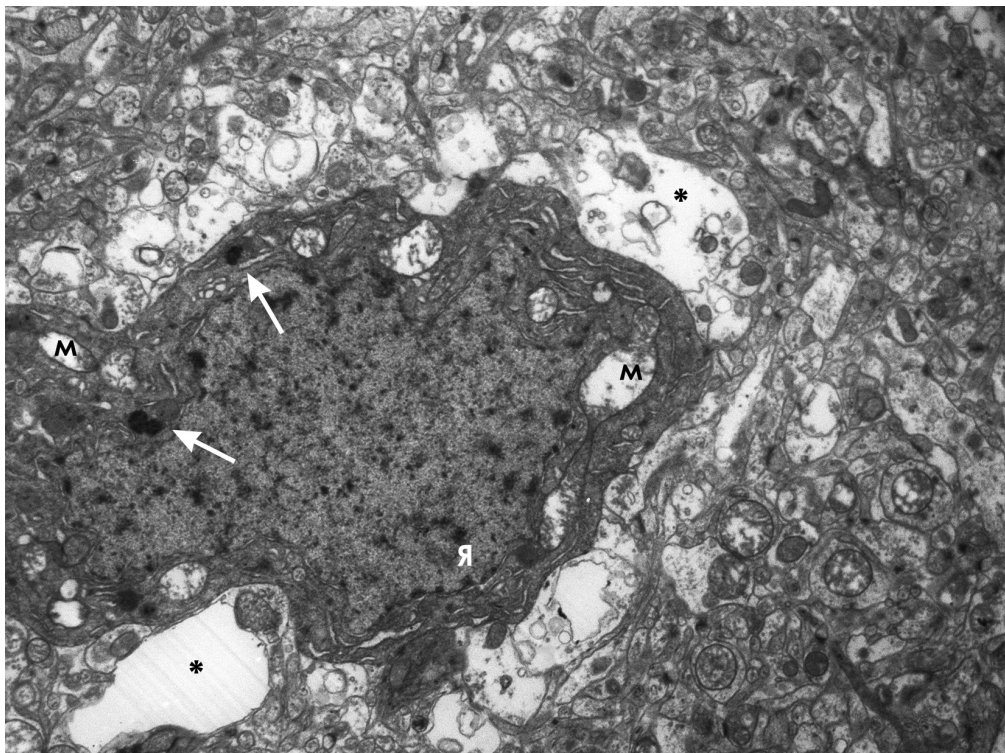
Привернула увагу активація процесів аутофагії у нервових клітинах CA1 поля гіпокампу щурів контрольної групи, яка проявлялася накопиченням аутофагосом на різних стадіях їх дозрівання. Також зростала кількість телолізосом (резидуальних тілець) у цитоплазмі пірамідальних нейронів, заповнених ліпо-

фусцином, які локалізувалися переважно у перинуклеарній зоні цих клітин (рис. 2).

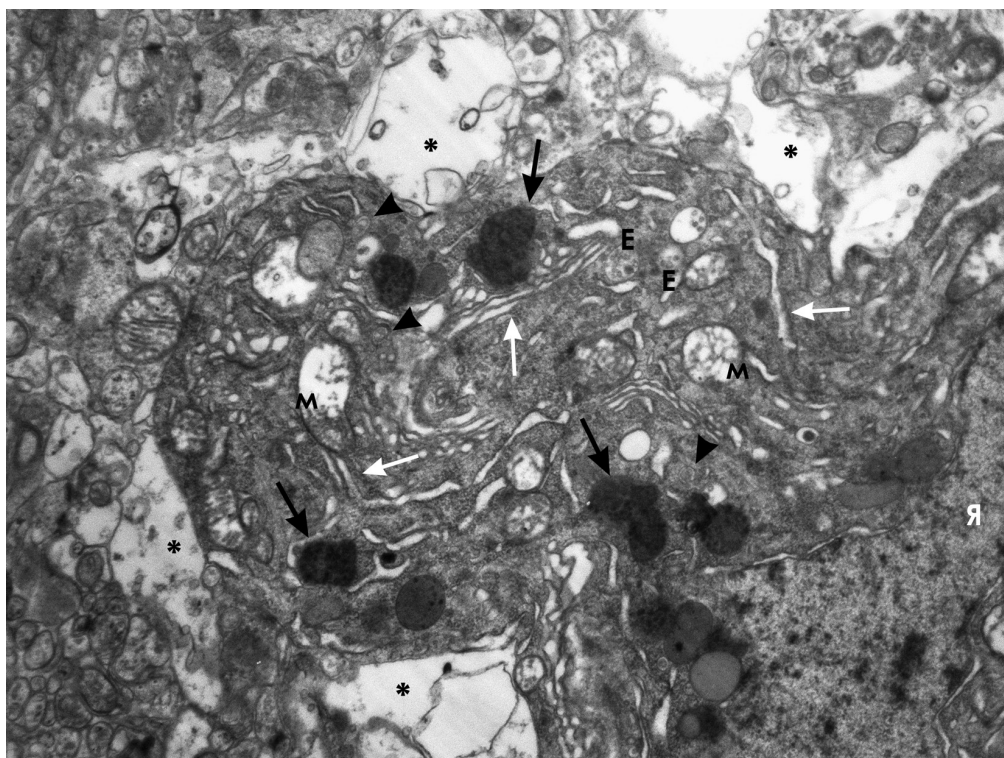
Електронно-мікроскопічне дослідження нейроглії гіпокампу щурів базувалося на підставі вивчення змін астроцитарного та олігодендрогліального компонентів.

Необхідно відмітити, що зміни нейроглії в CA1 поля гіпокампу щурів контрольної групи стосувалися переважно астроцитарної ланки і характеризувалися розвитком значного набряку цитоплазми протоплазматичних астроцитів, що мали низьку електронну щільність зі світлими ділянками, які не містили органел. У свою чергу, органели цих клітин були дисперсно розподілені по цитоплазмі і серед них спостерігалися розширені деформовані каналці комплексу Гольджі та ЕПС, рибосоми, гранули глікогену. Окрім того, значною була кількість вакуолей різного розміру. Стан мітохондрій характеризувався поліморфністю змін: з'являлися набряклі і збільшені у розмірах органели з ознаками локальної деструкції крист, також зустрічалися дрібні органели з електронно-щільним матриксом та помірними змінами внутрішньої мембрани. Кількість нейрофіламентів була редуквана (рис. 3).

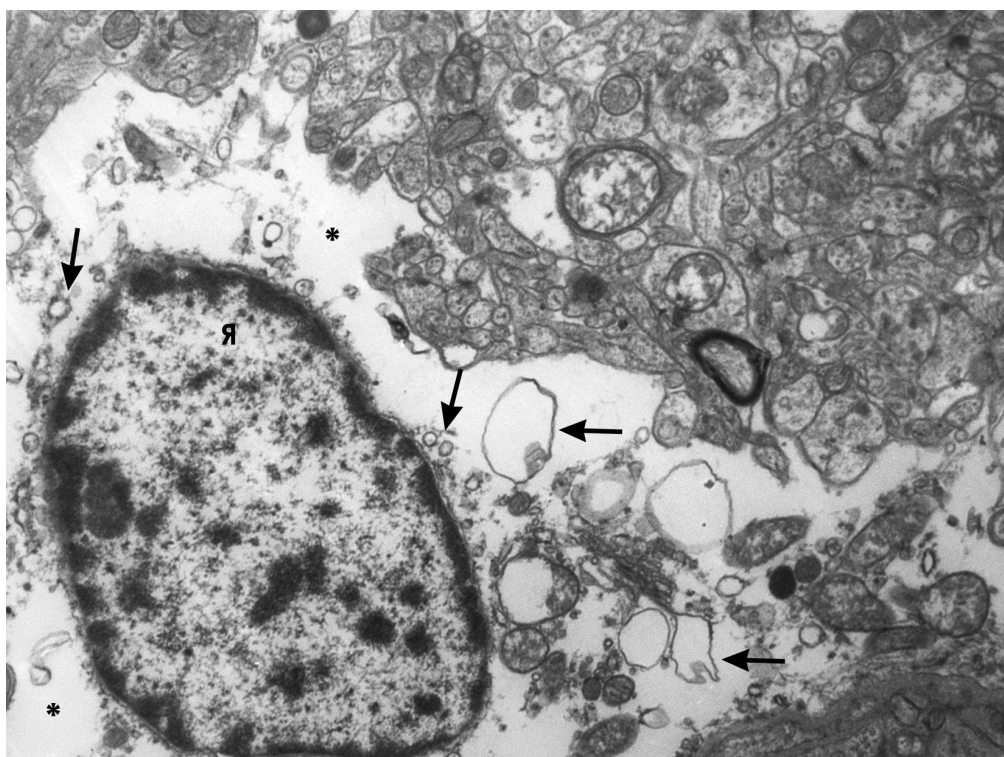
Натомість олігодендроцити виявляли більшу стійкість за умов тривалого використання ізоніазиду та рифампіцину, а зміни будови цих клітин у щурів з МІУП характеризувалися появою слабкого набряку їх цитоплазми.



**Рис. 1.** Перикаріон нейрону гіпокампу щура з МІУП. Ядро пірамідального нейрону (Я), деструкція апарату крист мітохондрій (М), скупчення ліпофусцину (стрілка), виразний перинеурональний набряк (зірочка). Електронна мікрофотографія,  $\times 2500$



**Рис. 2.** Фрагмент перикаріону темного нейрону СА1 зони гіпокампу щурів групи контролю. Ядро (Я) неправильної форми, конденсація еухроматину, осередкове скупчення гетерохроматину. Розширення та набряк каналців ЕПС та дисктіосом КГ (біла стрілка), вакуолізація мітохондрій та деструкція крист (м), аутофагосоми (голівка стрілки), ендосоми (Е), ліпофусцин (чорна стрілка). Відзначається набряк нейроніле (зірочка). Електронна мікрофотографія,  $\times 6000$



**Рис. 3.** Астроцитарний компонент нейроглії СА1 зони гіпокампу щурів контрольної групи. Виразний набряк цитоплазми астроциту (зірочка), вакуолізація та дисперсія органел (стрілка), ядро (Я). Електронна мікрофотографія,  $\times 4000$

За умов повторних інтрагастральних введень фіксованої комбінації іпідакрину та фенібуту нейрональний склад СА1 поля гіпокампу був представлений переважно великими світлими круглими клітинами. Поруч із цим частка гіперхромних нейронів та клітин із деформованими і зморщеними перикаріонами залишалась значною, а питома кількість дегенеративно змінених нейронів хоча і в 4,84 рази ( $p < 0,05$ ) була більшою, ніж у інтактних тварин, однак на 43,5 % ( $p < 0,05$ ) поступалася за значеннями показників тварин з МІУП, що свідчило про зменшення проявів нейродеструкції у СА1 полі гіпокампу щурів у цій групі тварин. Водночас зміни ультраструктури цих клітин характеризувалися наступним: на тлі пікнотично та апоптотично змінених нейронів (рис. 4) спостерігалися світлі нервові клітини з ознаками компенсаторно-приспосувальних змін (рис. 5). «Темні» нейрони характеризувалися конденсацією шорсткої ЕПС, накопиченням ліпофусцину та збереженим мітохондріальним апаратом.

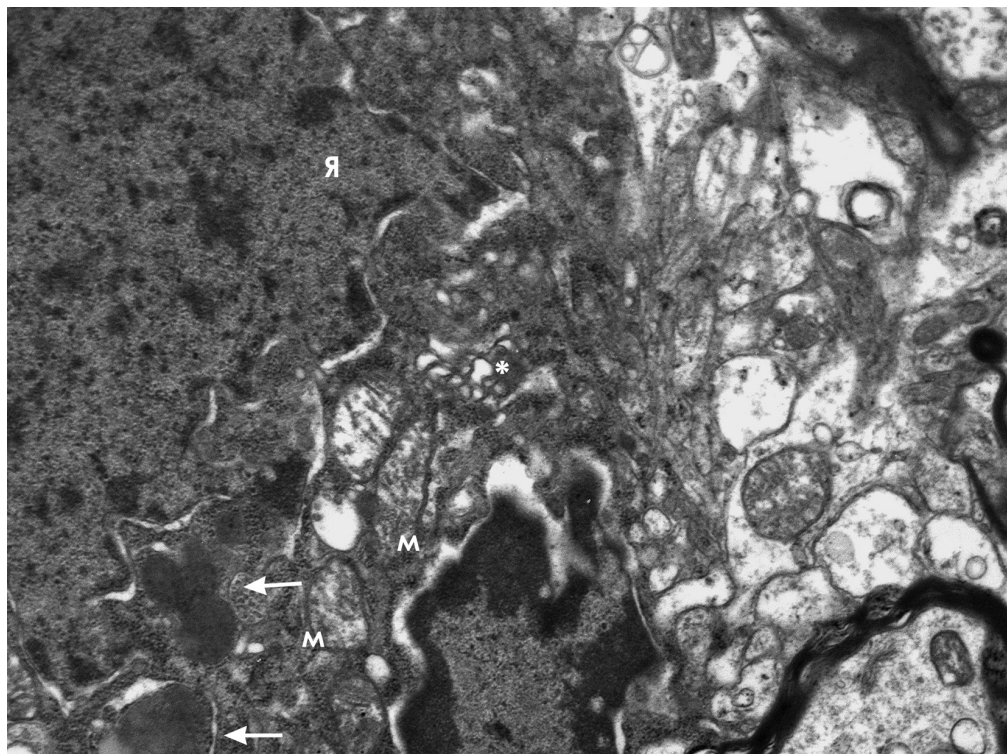
Кількість апоптотично змінених нейронів була значно меншою у порівнянні з контрольною групою, і ці клітини характеризувалися ущільненням і фрагментацією ядра та соми, а також неправильною формою (рис. 5). Натомість світлі нейрони у своєму складі містили гіперплазовану ргЕПС, велику кількість вільних рибосом у нейроплазмі, активне світле ядро, заповнене переважно еухроматином, збережений міто-

хондріальний апарат та поодинокі лізосоми. З боку комплексу Гольджі відзначався набряк цистерн. Активність процесів аутофагії була значною, проте виявлялася меншою мірою порівняно з групою контролю. Рівень накопичення ліпофусцину також був нижчим, ніж у групі тварин із МІУП за кількістю та об'ємом пігменту у перикаріоні клітини (рис. 5).

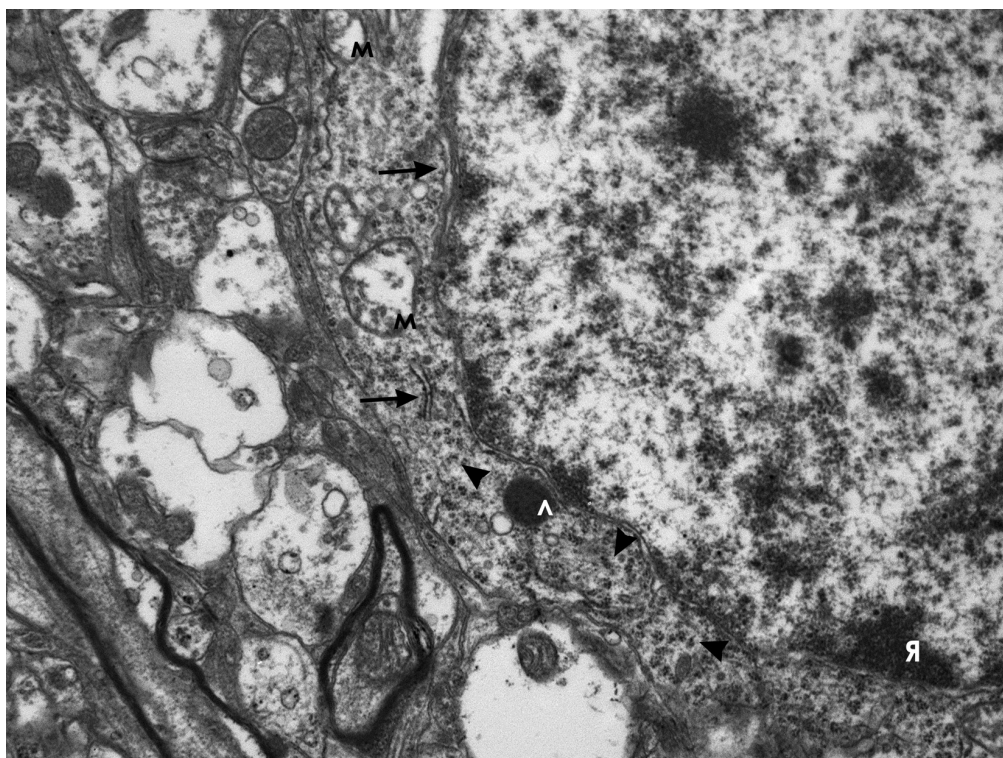
Зміни астрогліального компонента СА1 поля гіпокампу щурів з медикаментозно-індукованим ураженням печінки при курсовому введенні фіксованої комбінації іпідакрину та фенібуту мали подібну до групи контролю тенденцію, проте виразність набряку клітин була менш вираженою (рис. 6).

У цитоплазмі клітин зберігалася її значна вакуолізація та зменшення числа нейрофіламентів. Стан енергетичного апарату астроцитів характеризувався адаптативно-компенсаторними змінами мітохондрій у вигляді присутності малих за розміром функціонально-активних органел поруч із мітохондріями, що мали ознаки альтерації (набряк, вакуолізація крист, зниження електронної щільності матриксу).

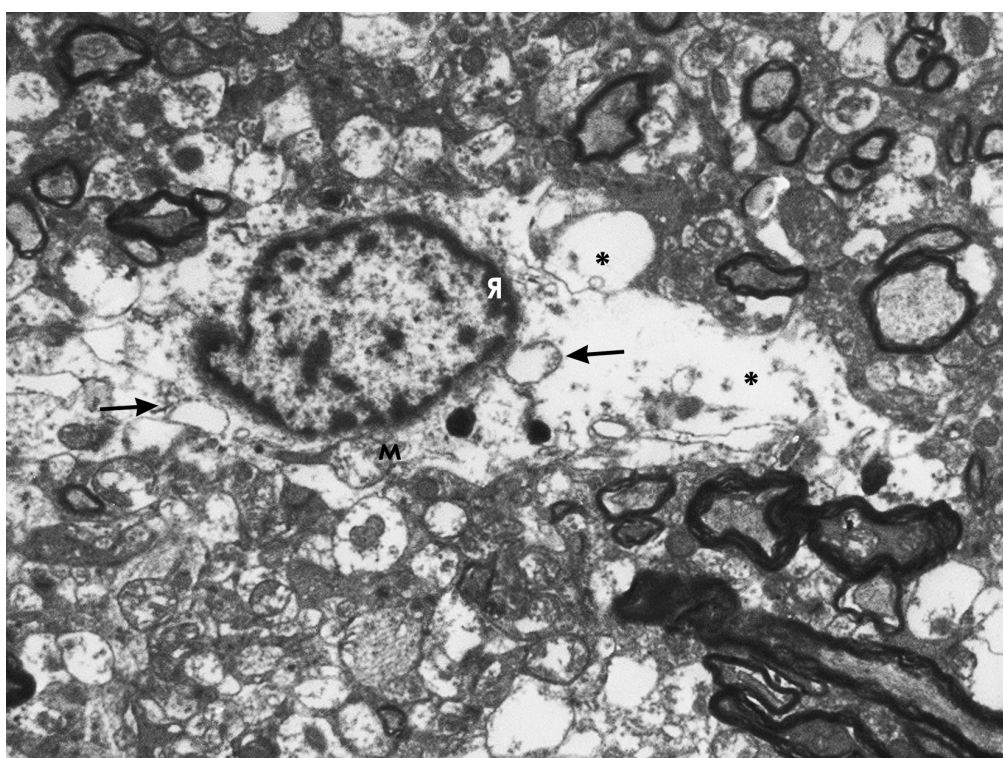
За умов використання іпідакрину та фенібуту відзначалося збереження нормальної ультраструктурної будови олігодендроцитів, що характеризувалася електронно-щільною цитоплазмою, темним щільним ядром за рахунок грудок гетерохроматину переважно поблизу ядерної мембрани, відсутністю нейрофіламентів та наявними характерними ламелярними лізосомами.



**Рис. 4.** Нервова клітина СА1 зони гіпокампу щура із МІУП за умов введення іпідакрину/фенібуту. Ділянка перикаріону нейрона з конденсованою ЕПС (зірочка), збереженими мітохондріями (М) та накопиченим ліпофусцином (стрілка). Ядро (Я) темне, ущільнене, ядерце не візуалізується. Електронна мікрофотографія,  $\times 5000$



**Рис. 5.** Функціонально активна нервова клітина пірамідального шару CA1 зони гіпокампу щура із МІУП за умов введення іпідакрину/фенібуту. Ядро (Я) світле, округле. У перикаріоні скупчення шорсткої ЕПС (стрілка), рибосом (головка стрілки), мітохондрій (М) та лізосом (Л). Електронна мікрофотографія,  $\times 5000$



**Рис. 6.** Астроцитарний компонент нейроглії CA1 зони гіпокампу щура з МІУП на тлі введення іпідакрину/фенібуту. Ядро астроциту (Я), мітохондрії (М), помірний набряк (зірочка) та вакуолізація цитоплазми (стрілка). Електронна мікрофотографія,  $\times 4000$



Отже, проведені дослідження за умов експериментального відтворення медикаментозного ураження печінки дозволили встановити певні відповідності між змінами рівнів ГФКБ у гіпокампі та результатами морфологічних досліджень цього мозкового утворення, які характеризувалися порушеннями з боку нейронального та нейрогліального компонентів. Отримані дані можуть свідчити про те, що суттєві структурні зміни нейронів, які спостерігаються на тлі тривалого введення рифампіцину та ізоніазиду, можуть бути опосередковані проявами гепатотоксичності і виникати насамперед внаслідок змін у гліальному апараті і, у першу чергу, астроцитах. Адже вплив негативних фізичних, хімічних чи метаболічних чинників сприяє інтенсивній відповіді цих клітин у вигляді інтенсифікації їх проліферації та диференціації. Причому остання характеризується підвищенням синтезу ГФКБ [24]. Цілком ймовірно, що відмічена у дослідженні чітка тенденція до зростання рівнів цього специфічного для астроцитів протеїну свідчить до збільшення активності цих клітин за даних умов експерименту. Водночас за допомогою електронної мікроскопії визначено, що поряд зі змінами комплексу Гольджі та ЕПС, наявністю значної кількості вакуолей різного розміру, поліморфністю змін мітохондрій спостерігається редукція кількості нейрофіламентів в астроцитах, яка може бути пов'язана зі змінами рівнів ГФКБ. Зростання показників цитоплазматичної фракції ГФКБ може свідчити про реорганізацію проміжних філаментів астроцитів, що зменшує цілісність їх цитоскелету. Отримані дані узгоджуються з результатами досліджень, проведених раніше на моделі хронічного гепатиту С [25]. Відповідно цих даних перебіг експериментального хронічного гепатиту призводить до ушкодження астроглії (втрати характерної зірчастої форми та набрякання, переродження в астроцити II типу), що супроводжується деполімеризацією проміжних філаментів цитоскелету астроцитів (на тлі зниження філаментної форми ГФКБ та її фрагментації на низькомолекулярні деривати поряд зі збільшенням її цитозольної форми у мозкових утвореннях і зокрема, у гіпокампі [25]. Такі зміни можуть мати ключове значення у розвитку енцефалопатії та когнітивних порушень.

Проведення експериментальної фармакотерапії фіксованою комбінацією іпідакрину та фенібуту обмежує прояви альтерації у гіпокампі за умов медикаментозно відтвореного гепатиту. Цілком ймовірно,

що поряд з уже встановленими механізмами нейропротекції дослідженого лікарського засобу особливе місце може посідати і встановлена нами редукція пошкодження астроглії, яка підтверджена як морфологічно, так і за змінами вмісту гліального фібрилярного кислого протеїну. Завдяки покращенню стану астроцитів оптимізується нейрон-гліальна взаємодія для підтримки гомеостазу у ЦНС, гальмуються процеси надмірного збудження і ексайтотоксичності, пов'язані з надмірним вивільненням глутамату, нормалізуються процеси енергопостачання нейронів та метаболізм.

Таким чином, зниження рівнів розчинної форми ГФКБ та покращення морфологічних характеристик нейронального та гліального апарату в СА1 зоні гіпокампу щурів за умов медикаментозно-індукованого ураження печінки рифампіцином та ізоніазидом може свідчити про роль астроглії у механізмах нейронального захисту фіксованої комбінації антихолінергезного засобу іпідакрину та β-фенільного похідного нейромедіатора ГАМК – фенібуту.

#### ВИСНОВКИ

1. Тривале введення гепатотоксикантів – рифампіцину та ізоніазиду призводить до розвитку токсичного гепатиту, зростання вмісту цитоплазматичної форми ГФКБ та значимих порушень нейронального та гліального апарату у гіпокампі дослідних тварин.
2. Курсове призначення фіксованої комбінації іпідакрину та фенібуту зменшує виразність проявів нейродегенерації, сприяє істотному зниженню цитоплазматичних рівнів ГФКБ та покращенню стану пірамідальних нейронів та астроглії у СА1 полі гіпокампу за даних експериментальних умов.

**Перспективи подальших досліджень:** дослідження вказує на роль астроглії у медикаментозній нейропротекції за умов негативного впливу різних чинників, що може мати велике значення у механізмах дії фіксованої комбінації іпідакрину та фенібуту, однак це потребує подальшого вивчення.

**Робота виконана** за матеріалами досліджень кафедри фармакології і клінічної фармакології ДЗ «ДМА» за темою «Фармакологічний аналіз органотеліопротекції за умов експериментальних патологічних станів» (Держреєстрація № 0118U006631).

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

#### ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДжЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Protective effects of kaempferol on isoniazid- and rifampicin-induced hepatotoxicity / T. Y. Shih, T. H. Young, H. S. Lee et al. // AAPS J. – 2013. – Vol. 15, № 3. – P. 753–762. <https://doi.org/10.1208/s12248-013-9490-6>
2. Naringenin protects against isoniazid- and rifampicin-induced apoptosis in hepatic injury / C. Wang, R. Q. Fan, Y. X. Zhang et al. // World J. Gastroenterol. – 2016. – Vol. 22 (44). – P. 9775–9783. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i44.9775>
3. Isoniazid metabolism and hepatotoxicity / P. Wang, K. Pradhan, X. B. Zhong, X. Ma // Acta Pharm. Sin. B. – 2016. – Vol. 6, № 5. – P. 384–392. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2016.07.014>
4. Potentiating effect of rifampicin on methimazole induced hepatotoxicity in mice / Z. Hakim, A. Waheed, S. Bakhtiar et al. // Pakistan J. of Pharmac. Sci. (PJPS). – 2018. – Vol. 31, № 6. – P. 2373–2377.

5. Quality of life in patients with minimal hepatic encephalopathy / L. Ridola, S. Nardelli, S. Gioia, O. Riggio // *World J. Gastroenterol.* – 2018. – Vol. 24, № 48. – P. 5446–5453. <https://doi.org/10.3748/wjg.v24.i48.5446>
6. Тюлькова, Т. Е. Влияние пиридоксина и препаратов гидрозида изоникотиновой кислоты на нервную систему при лечении туберкулеза / Т. Е. Тюлькова // *Туберкулез и болезни лёгких.* – 2018. – Т. 96, № 11. – С. 69–73. <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2018-96-11-69-73>
7. An Investigation Into Physical Frailty as a Link Between the Gut Microbiome and Cognitive Health / S. Verdi, M. A. Jackson, M. Beaumont et al. // *Front. Aging Neurosci.* – 2018. – Vol. 10. – P. 398. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2018.00398>
8. Longitudinal profiling reveals a persistent intestinal dysbiosis triggered by conventional anti-tuberculosis therapy / N. Sivarajani, M. Mamoudou, Y. Wuxing et al. // *Microbiome.* – 2017. – Vol. 7, № 5. <https://doi.org/10.1186/s40168-017-0286-2>
9. Antibiotic treatment for Tuberculosis induces a profound dysbiosis of the microbiome that persists long after therapy is completed / M. F. Wipperman, D. W. Fitzgerald, M. A. J. Juste et al. // *Sci. Rep.* – 2017. – Vol. 7. – P. 10767. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-10346-6>
10. Беленічев, І. Ф. Порівняльне оцінювання ефективності дії сучасних нейропротекторів в умовах експериментальної хронічної ішемії мозку / І. Ф. Беленічев // *Запорозький мед. журн.* – 2015. – № 2 (89). – С. 37–41.
11. Морфологическая характеристика гиппокампа при церебральном атеросклерозе / А. В. Смирнов, А. И. Краюшкин, Е. В. Горелик и др. // *Современные проблемы науки и образования.* – 2012. – № 1.
12. Assonov, D. O. Role of the hippocampus in memory functioning : modern view / D. O. Assonov, B. S. Bozhuk // *Zaporozhye Medical J.* – 2017. – № 6. – P. 833–838. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2017.6.115318>
13. Гомазков, О. А. Астроциты как посредники интеграционных процессов в мозге / О. А. Гомазков // *Успехи современной биол.* – 2018. – № 4. – С. 373–382. <https://doi.org/10.7868/s004213241804004x>
14. Гомазков, О. А. Астроциты как компоненты регуляции высших функций мозга / О. А. Гомазков // *Нейрохимия.* – 2019. – № 4. – С. 267–274. <https://doi.org/10.1134/s1027813319030075>
15. Ковальчук, Ю. П. Розподіл гліального фібрилярного кислого протеїну в різних відділах головного мозку щанок під час розвитку, старіння та дії альфа-кетоглутарату / Ю. П. Ковальчук, Г. О. Ушакова // *Медична та клінічна хімія.* – 2016. – № 1. – С. 29–35. <https://doi.org/10.11603/mch.2410-681x.2016.v0.i1.6180>
16. Чорна, В. І. Вплив малих доз іонізуючого випромінювання на маркер астрогліальної популяції клітин головного мозку (експерим. дослід.) / В. І. Чорна, О. Л. Ляна // *Укр. радіол. журн.* – 2011. – № 2. – С. 238–242.
17. Neuroprotective effects of  $\alpha$ -lipoic acid on the development of oxidative stress and astrogliosis in the brain of STZ-diabetic rats / S. Kyrychenko, I. Prishchepa, V. Lagoda et al. // *Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, Medicine.* – 2014. – Vol. 5 (2). – P. 143–147. <https://doi.org/10.15421/021427>
18. Дроздов, А. Л. Нейроспецифические белки ГФКБ и NCAM гиппокампа при формировании энграмм условно-рефлекторной памяти / А. Л. Дроздов, В. И. Черная // *Нейрохимия.* – 2006. – № 1. – С. 47–51.
19. Council Directive 2010/63/EU of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes // *Official J. of the European Communities.* – 2010. [Електронний ресурс]. – Режим доступу : <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2010:276:0033:0079:en:PDF>
20. Добреля, Н. В. Развитие европейского законодательства в сфере использования животных в научных экспериментах / Н. В. Добреля, Е. В. Стрелков, Т. А. Бухтіарова // *Фармакол. та лікарська токсикол.* – 2014. – № 2 (38). – С. 88–91.
21. Гепатопротекторный эффект экспериментальной поливитаминовой композиции за умов індукції цитохрому P-450 2E1 ізоніазидом і рифампицином / Л. Г. Бережна, В. М. Коваленко, Г. М. Шахметова та ін. // *Сучасні проблеми токсикол.* – 2005. – № 3. – С. 54–58.
22. Bradford, M. M. Rapid and sensitive methods for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding / M. M. Bradford // *Anal. Biochem.* – 1976. – Vol. 1-2. – P. 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
23. Schneider, C. A. NIH Image to ImageJ : 25 years of image analysis / C. A. Schneider, W. S. Rasband, K. W. Eliceiri // *Nature Methods.* – 2012. – Vol. 7. – P. 671–675. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>
24. Недзвецкий, В. С. Стан гліальних проміжних філаментів і здатність до навчання у щурів при експериментальному діабеті / В. С. Недзвецкий // *Фізіол. журн.* – 2004. – Т. 50, № 1. – С. 85–90.
25. Фоменко, О. З. Протеїни астроглії у мозку щурів за експериментального хронічного гепатиту та дії 2-оксоглутарату / О. З. Фоменко, Г. О. Ушакова, С. Г. Пєржиновський // *Укр. біохім. журн.* – 2011. – Т. 83, № 1. – С. 69–76.

## REFERENCES

1. Shih, T.-Y., Young, T.-H., Lee, H.-S., Hsieh, C.-B., & Hu, O. Y.-P. (2013). Protective Effects of Kaempferol on Isoniazid- and Rifampicin-Induced Hepatotoxicity. *The AAPS Journal*, 15 (3), 753–762. <https://doi.org/10.1208/s12248-013-9490-6>
2. Wang, C., Fan, R.-Q., Zhang, Y.-X., Nie, H., & Li, K. (2016). Naringenin protects against isoniazid- and rifampicin-induced apoptosis in hepatic injury. *World Journal of Gastroenterology*, 22 (44), 9775. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i44.9775>
3. Wang, P., Pradhan, K., Zhong, X., & Ma, X. (2016). Isoniazid metabolism and hepatotoxicity. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 6 (5), 384–392. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2016.07.014>
4. Hakim, Z., Waheed, A., Bakhtiar, S., Hasan, N., Hakim, B. (2018). Potentiating effect of rifampicin on methimazole induced hepatotoxicity in mice. *Pak J Pharm Sci.* 31 (6), 2373–2377.
5. Ridola, L., Nardelli, S., Gioia, S., & Riggio, O. (2018). Quality of life in patients with minimal hepatic encephalopathy. *World Journal of Gastroenterology*, 24 (48), 5446–5453. <https://doi.org/10.3748/wjg.v24.i48.5446>
6. Tyulkova, T. E. (2018). Effect of pyridoxine and isonicotinic acid hydrazide on the nervous system during tuberculosis treatment. *Tuberculosis and lung diseases*, 96 (11), 69–73. <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2018-96-11-69-73>
7. Verdi, S., Jackson, M. A., Beaumont, M., Bowyer, R. C. E., Bell, J. T., Spector, T. D., & Steves, C. J. (2018). An Investigation Into Physical Frailty as a Link Between the Gut Microbiome and Cognitive Health. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 10. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2018.00398>
8. Namasivayam, S., Maiga, M., Yuan, W., Thovarai, V., Costa, D. L., Mittereder, L. R., ... Sher, A. (2017). Longitudinal profiling reveals a persistent intestinal dysbiosis triggered by conventional anti-tuberculosis therapy. *Microbiome*, 5 (1). <https://doi.org/10.1186/s40168-017-0286-2>
9. Wipperman, M. F., Fitzgerald, D. W., Juste, M. A. J., Taur, Y., Namasivayam, S., Sher, A., ... Glickman, M. S. (2017). Antibiotic treatment for Tuberculosis induces a profound dysbiosis of the microbiome that persists long after therapy is completed. *Scientific Reports*, 7 (1). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-10346-6>
10. Bielenichev, I. F. (2015). *Zaporozhskiy medytsynskiy zhurnal*, 2(89), 37–41.
11. Smirnov, A. V., Kraiushkin, A. I., Gorelik, E. V., Gurov, D. Iu., Grigoreva, N. V., Zamaraev, V. S., Danilenko, V. I. (2012). *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniia*, 1.
12. Assonov, D. O., & Bozhuk, B. S. (2017). Role of the hippocampus in memory functioning: modern view. *Zaporozhye Medical Journal*, 6. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2017.6.115318>
13. Gomazkov, O. A. (2018). *Uspekhi Sovremennoi Biologii*, (4), 373–382. <https://doi.org/10.7868/s004213241804004x>
14. Gomazkov, O. A. (2019). *Neirokhimiia*, 36 (4), 267–274. <https://doi.org/10.1134/s1027813319030075>
15. Kovalchuk, Y. P., & Ushakova, H. O. (2016). The changes of glial fibrillary acid protein level in the different brain areas of gerbils under development, aging and alpha-keto glutarate effect. *Medical and Clinical Chemistry*, (1). <https://doi.org/10.11603/mch.2410-681x.2016.v0.i1.6180>
16. Chorna, V. I., Lianna, O. L. (2011). *Ukrainskyi radiolohichnyi zhurnal*, 2, 238–242.

17. Kyrychenko, S., Prishchepa, I., Lagoda, V., Velika, M., & Nedzvetskyi, V. (2014). Neuroprotective effects of  $\alpha$ -lipoic acid on the development of oxidative stress and astrogliosis in the brain of STZ-diabetic rats. *Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, Medicine*, 5 (2), 143–147. <https://doi.org/10.15421/021427>
18. Chorna, V. I., Drozdov, A. L. (2006). *Neirokhymyia*, 1, 47–51.
19. Council Directive 2010/63/EU of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. (2010). Official Journal of the European Communities. Available at: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2010:276:0033:0079:en:PDF>
20. Dobrelia, N. V., Strielkov, Ye. V., Bukhtiarova, T. A. (2014). *Farmakolohiia ta likarska toksykolohiia*, 2 (38), 88–91.
21. Berezhna, L. H., Kovalenko, V. M., Shaiakhmetova, H. M., Voronina, A. K., Voloshyna, O. S. (2005). *Suchasni problemy toksykolohii*, 3, 54–58.
22. Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72 (1-2), 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
23. Schneider, C. A., Rasband, W. S., & Eliceiri, K. W. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*, 9 (7), 671–675. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>
24. Nedzvetskyi, V. S. (2004). *Fiziolohichniy zhurnal*, 50(1), 85–90.
25. Fomenko, O. Z., Ushakova H. O., Piierzhynovskiy S. H. (2011). *Ukrainskyi biokhimichniy zhurnal*, 83 (1), 69–76.

**Відомості про авторів:**

Харченко Ю. В., викладач кафедри фармакології і клінічної фармакології, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України». E-mail: vincarose@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4136-3495>

Бондаренко Н. С., канд. мед. наук, доцент кафедри патологічної анатомії і судової медицини, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України». ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-3933-7535>

Сердюк А. Г., студент медичного факультету ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

Ушакова Г. О., д-р біол. наук, професор, зав. кафедри біофізики та біохімії, Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5633-2739>

Жиліук В. І., д-р мед. наук, професор, зав. кафедри фармакології і клінічної фармакології, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України». E-mail: vzhyluk@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2259-0622>

**Information about authors:**

Kharchenko Yu., lecturer of the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, State Institution "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine". E-mail: vincarose@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4136-3495>

Bondarenko N., PhD, Associate Professor of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, State Institution "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine". ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-3933-7535>

Serdiuk A. G., student State Institution "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine"

Ushakova G., PhD, Doctor of Science, Professor, Head of the Department of Biophysics and Biochemistry, Oles' Honchar Dnipro National University. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5633-2739>

Zhyliuk V., PhD, Doctor of Science, Professor, Head of the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, State Institution "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine". E-mail: vzhyluk@gmail.com.

ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2259-0622>

**Сведения об авторах:**

Харченко Ю. В., преподаватель кафедры фармакологии и клинической фармакологии, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины». E-mail: vincarose@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4136-3495>

Бондаренко Н. С., канд. мед. наук, доцент кафедры патологической анатомии и судебной медицины, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины». ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-3933-7535>

Сердюк А. Г., студент ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины»

Ушакова Г. А., д-р биол. наук, профессор, зав. кафедрой биофизики и биохимии, Днипровский национальный университет имени Олеся Гончара. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5633-2739>

Жиліук В. І., д-р мед. наук, професор, зав. кафедрой фармакологии и клинической фармакологии, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины». E-mail: vzhyluk@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2259-0622>

Надійшла до редакції 20.01.2020 р.