

вах гострого порушення мозкового кровообігу в нормі, в гострий і віддалений період захворювання був проведений морфологічний і кількісний аналіз сенсомоторного цереброкортексу. Нами також був розроблений інноваційний метод дослідження цереброкортексу - Гліальний Індекс (ГІ) (Київ), який дає можливість оцінити картину цереброкортексу в той чи інший період ГІ, а також дозволяє встановити взаємозв'язок між клітинними структурами даної ділянки нервової тканини. У даній роботі використувалася стандартизована модель експериментальної інтрацеребральної геморагії (Макаренко О.М., 2002). Запропоновано методику якісного та кількісного гліального аналізу мозкової тканини в нормі і в умовах патології за допомогою введення гліального індексу. Встановили, що гліальні індекси астроглії ростуть як в гострому, так і в відстрочених періодах аутогеморагічного інсульту. Зниження індексу перинеурональних сателітів спостерігається в гострому періоді геморагічного інсульту, їх позитивна динаміка відзначається в періоді відновлення. Максимальний приріст мікрогліального індексу було зафіксовано на 7-й день після моделювання аутогеморагічного інсульту, після чого знижується, проте все ж таки перевищує контрольні значення.

### Summary

INVESTIGATION OF NEURO- AND GLIOGLIAL TRANSFORMATIONS IN CELL SYSTEMS OF THE BRAIN IN NORMAL STATE AND UNDER MODELED CEREBROVASCULAR PATHOLOGY

Makarenko O.M., Bibikov V.M., Tereshchenko M.M., Savosko S.I.

Keywords: glial cells, autohemorrhagic stroke, nervous tissue, cerebral cortex, cerebral vascular endothelium.

Insufficiency of cerebral circulation is considered as one of the most common pathologies nowadays. In terms of mortality rate reaching 11-12% in Europe and in the United States, stroke ranks the second position coming after heart diseases and malignant neoplasms. The risk of this pathology lies in the fact that it takes first place in the structure of the causes of disability, significantly alters the quality of life. Stroke along with neurodegenerative processes is accompanied with systemic response of all elements of the nervous tissue and cerebral vascular endothelium. The study showed the interdependent change in the number of cell populations of fibrous astrocytes, perineural oligodendrocytes and microglial cells. The changes also affected ependyma of the cerebral ventricles and choroid epithelium. Thus, in order to carry out an objective assessment of the architectonics of nervous tissue in acute impairment of cerebrovascular circulation in normal state as well as in the acute period of the disease and in follow-up period we conducted the morphological and quantitative analysis of sensomotor cerebral cortex. We also developed an innovative technique to research cerebral cortex and glial cells known as cerebrocortex-glia index (CGI), Kyiv, which allowed us to estimate the picture of cerebral cortex at any period of acute stroke as well as to establish a link with cellular structures of certain area of nervous tissue. Stroke was induced by standardized model of experimental intracerebral hemorrhage (O. Makarenko, 2002). We suggested the methods of qualitative and quantitative analysis of glial cerebral tissue in normal state and in pathology by introducing the glial index. It was revealed the glial indices of astroglia grew both in acute and follow-up periods of autohemorrhagic stroke. The decrease of index of perineuronal satellites was observed in acute hemorrhagic stroke, their positive dynamics was registered during the recovery period. The maximum increase in microglial index was fixed on the 7<sup>th</sup> day after modeling of autohemorrhagic stroke, and then it decreased, but was still higher than the control value.

УДК 612.017.582.284.

**Макаренко О.М., Рудик М.П., Позур В.В., Святецька В.М., Довгий Р.С.**

## **ВПЛИВ ПРЕПАРАТУ «КОРДИЦЕПС І ЛІНЧЖІ» НА КИСЕНЬ-ЗАЛЕЖНИЙ МЕТАБОЛІЗМ ФАГОЦИТІВ РІЗНИХ ПОПУЛЯЦІЙ.**

Київський національний університет ім. Тараса Шевченка, м. Київ

*Досліджували вплив засобу «Кордіцепс і Лінчжі» на кисень-залежний метаболізм перитонеальних макрофагів мишей і мононуклеарів крові людини. Показано, що засіб стимулював показники кисень-залежного метаболізму досліджуваних фагоцитуючих клітин. Найбільше «Кордіцепс і Лінчжі» впливає на моноцити крові людини, а саме внесення засобу в концентрації 200 мкг/мл стимулювало кисень-залежний метаболізм в 50 раз у порівнянні з контролем.*

Ключові слова: «Кордіцепс і Лінчжі», мононуклеари крові, перитонеальні макрофаги, кисень-залежний метаболізм.

### **Вступ**

Інтерес медицини саме до препаратів лікувальних грибів пов'язаний з появою наукових даних про їхню унікальну імуномодулюючу дію [1]. Протягом тривалого періоду вивчення лікувальних грибів (50 років вивчали дію гриба лінчжі і 30 років – дію гриба кордіцепс) науковцями із них

були виділені окремі речовини, які володіють важливими властивостями. Гриби кордіцепс китайський (*Cordyceps sinensis*) і лінчжі (трутовик лакований, *Ganoderma lucidum*) є потужними біоенергетичними імуномодуляторами швидкої дії, володіють загальною зміцнюючою дією, сприяють пригніченню розвитку пухлини і запобі-

гають поширенню метастазів [1]. Вважається, що протипухлинна активність Кордіцепса реалізується не внаслідок прямої цитотоксичної дії на пухлинні клітини, а в результаті імуномодулюючої дії [2]. Тоді як протипухлинна активність Лінчжі реалізується внаслідок як імуномодулюючої дії, так і прямої цитотоксичної дії на пухлинні клітини [3].

Широкому спектру клітин організму властива цитотоксична дія, що реалізується за рахунок продукції активних форм кисню. Серед таких клітин особливе значення належить макрофагам, що локалізовані переважно в тканинах [4-6]. У відповідь на фагоцитоз патогенів або на контакт з розчинними патоген-асоційованими молекулами, а також прозапальними цитокінами, у макрофагів розвивається система реакцій, яка має загальну назву «кисневий вибух» і в результаті якої утворюється моновалентна похідна молекулярного кисню – супероксид-аніон. Наслідком наступних реакцій є поява інших токсичних метаболітів, таких як перекис водню, гіпохлориста кислота (HOCl), гідроксил-радикал та синглетний кисень [7,8].

Метою нашої роботи було дослідити вплив препарату «Кордіцепс і Лінчжі» на кисень-залежний метаболізм перитонеальних макрофагів мишей та мононуклеарів крові людини.

#### Матеріали та методи

Отримання мононуклеарів периферичної крові людини проводили методом центрифугування в градієнті щільності [9]. Кров донора розводили вдвічі забуференим розчином Хенкса (рН 7,2). Розведену кров нашаровували на суміш фікол-верографіну ( $\rho = 1,078$ ) і центрифугували 40 хвилин при 400g. Біле кільце в інтерфазі між плазмою та градієнтом збирали, тричі відмивали забуференим розчином Хенкса по 5 хвилин при 200g.

Для того, щоб отримати перитонеальні макрофаги з мишей, тваринам у черевну порожнину вводили по 5 мл середовища Хенкса та проводили масаж передньої стінки черевної порожнини. Потім відбирали суспензію клітин, що утво-

рилася, та відмивали клітини (1500 об/хв, 10 хв) [9]. Осад ресуспендували у 1 мл середовища Хенкса та доводили кінцеву концентрацію клітин до  $3 \times 10^6$  клітин/мл. Кількість життєздатних клітин підраховували за стандартною методикою, використовуючи суправітальне фарбування трипановим синім.

Функціональну активність клітин визначали по відновленню нітросинього тетразолію (НСТ). НСТ-тест проводили згідно методики Передерій В.Г. та ін. [10]. 100 мкл клітин перитонеального ексудату вносили в плоскодонний планшет в концентрації  $3 \times 10^5$  в лунку. В дослідних використовували препарат «Кордіцепс і Лінчжі» (виробництва компанії McAster, Україна, Сертифікати UA1.003.X7862-13 від 17.07.2013 р.; UA.1.003.X001638-13 от 15.02.2013 г.; UA.1.003.X001637-13 от 15.02.2013 г.), в рідкому вигляді. Готували водні розчини засобу в трьох концентраціях: 50 мкг/мл, 100 мкг/мл та 200 мкг/мл. В дослідні лунки вносили по 20 мкл розчину препарату. Для стимуляції кисень-залежного метаболізму використовували зимозан. Інкубували впродовж 30 хв при 37°C для забезпечення адгезії макрофагів до поверхні пластику. У проби додавали 0,01 мл НСТ у концентрації 5 мкг/мл, та інкубували 15 хв при 37°C. Після чого осаджували клітини центрифугуванням при 1500 об/хв протягом 10 хв. Супернатант відбирали. Реакцію відновлення НСТ зупиняли додаванням 0,1 мл 2М КОН + 0,1 мл 50 % р-ну диметилсульфоксиду. Оптичну густину диформазану визначали на мікроплейтфотометрі типу "Reader" при довжині хвилі 630 нм. Для визначення вірогідності відмінності показників між дослідом та контролем використовували t-критерій Ст'юдента [11].

#### Результати та їх обговорення

Додавання препарату в усіх концентраціях призводило до значного підвищення кисень-залежного метаболізму мононуклеарів периферичної крові людини у порівнянні з контролем (рис.1).

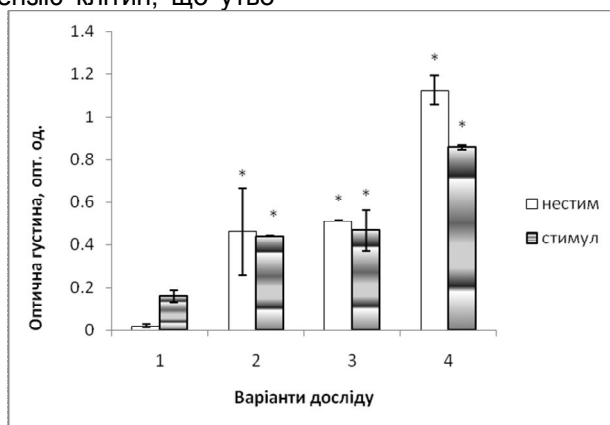


Рис. 1. Вплив препарату «Кордіцепс і Лінчжі» на кисень-залежний метаболізм мононуклеарів периферичної крові людини. 1 – контроль; 2 – препарат «Кордіцепс і Лінчжі» у концентрації 50 мкг/мл; 3 – препарат «Кордіцепс і Лінчжі» у концентрації 100 мкг/мл; 4 – препарат «Кордіцепс і Лінчжі» у концентрації 200 мкг/мл;

Примітка: \* -  $p < 0,05$  у порівнянні з показниками контрольної групи.

При додаванні препарату у концентрації 50 мкг/мл спостерігалось підвищення спонтанного кисень-залежного метаболізму у 20 разів у порівнянні з контролем. Додавання препарату у концентрації 100 мкг/мл призводило збільшення показників у 22 рази, але між собою вплив цих концентрацій достовірно не відрізнявся. Максимально ефективною для активації «кисневого вибуху» виявилась концентрація препарату 200 мкг/мл – в 50 разів у порівнянні з контролем та у 2 рази у порівнянні з іншими концентраціями препарату.

Препарат «Кордіцепс і Лінчжі» в поєднанні з класичним активатором кисень-залежного метаболізму – зимозаном чинив також активуючий

вплив на макрофаги в порівнянні зі стимульованим контролем. Додавання препарату у концентраціях 50 мкг/мл та 100 мкг/мл стимулювало дію зимозана у 2,3 рази. Однак, достовірної різниці між стимульованими та не стимульованими зразками досліджених концентрацій не було. Препарат у концентрації 200 мкг/мл посилював дію зимозану у 4,4 рази в порівнянні зі стимульованим контролем. Однак, в порівнянні з показниками не стимульованих проб цієї ж концентрації, показники були достовірно нижчі.

Реакція макрофагів мишей на додавання препарату була подібною до такої у мононуклеарів периферичної крові людини (рис.2).

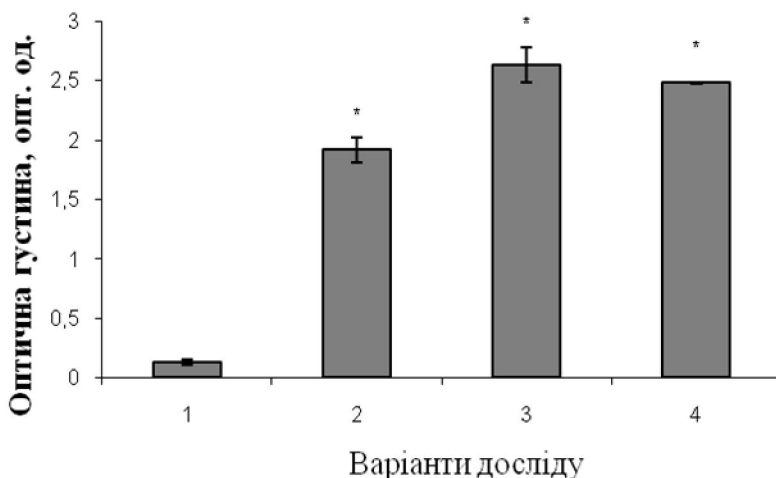


Рис. 1. Вплив препарату «Кордіцепс і Лінчжі» на кисень-залежний метаболізм перитонеальних макрофагів мишей. 1 – контроль; 2 – препарат «Кордіцепс і Лінчжі» у концентрації 50 мкг/мл; 3 – препарат «Кордіцепс і Лінчжі» у концентрації 100 мкг/мл; 4 – препарат «Кордіцепс і Лінчжі» у концентрації 200 мкг/мл;

Примітка:  $p < 0,05$ .

Введення препарату у концентрації 50 мкг/мл призвело до підвищення кисень-залежного метаболізму в 14 разів у порівнянні з контролем. Найефективнішими виявились концентрації 100 та 200 мкг/мл, при додаванні котрих спостерігалось підвищення метаболізму макрофагів у 19 та 18 разів, відповідно, у порівнянні з контролем та достовірне підвищення у порівнянні з введенням препарату у концентрації 50 мкг/мл.

### Висновок

Препарат «Кордіцепс і Лінчжі» здійснював стимулюючий вплив на кисень-залежний метаболізм перитонеальних макрофагів мишей та мононуклеарних лейкоцитів крові людини. Для моноцитів крові людини найефективнішою була доза у 200 мкг/мл, що призводила до посилення кисень-залежного метаболізму у 50 разів у порівнянні з контролем. Найефективнішими дозами, що стимулювали «кисневий вибух» перитонеальних макрофагів мишей, виявились 100 та 200 мкг/мл, що посилювали кисень-залежного метаболізму у 19 та 18 разів відповідно.

### Література

1. Перевозникова Н. И. Роль БАД на основе эффективных травяных формул (из истории тибетской медицины) / Н. И. Перевозникова, Е. М. Крепс, Л. Н. Шерстюк // Вісник Полтавської державної аграрної академії. – 2009. – №1. – С. 175 – 178.
2. Antitumor activity of an extract of Cordyceps sinensis (Berk.) Sacc. against murine tumor cell lines / [J. Yoshida, S. Takamura, N. Yamaguchi et al.] // Jpn. J. Exp. Med. – 1989. – 59(4). – P. 157–161.
3. Lin Z. B. Progress of studies on the antitumor activity and immunomodulating effect of Ganoderma / Z. B. Lin // J Peking Univ (Health Sci). – 2002. – Vol. 34. – P. 493 – 498.
4. Iles K. E. Macrophage signaling and respiratory burst / K. E. Iles, H. J. Forman // Immunol Res. – 2002. – № 26 (1-3). – P.95 – 105.
5. Вершигора А.Ю. і співавт. Імунологія – К.: Вища шк., 2005. – 599 С.
6. Macrophages acquire neutrophil granules for antimicrobial activity against intracellular pathogens / [B. H. Tan, C. Meincen, M. Bastian et al.] // J Immunol. – 2006. – № 177. – P. 1864 – 1871.
7. Moilanen E. Nitric oxide in inflammation and immune response / E. Moilanen, H. Vapaatalo // Ann Med. – 1995. – №27 (3). – P.359 – 367.
8. Forman H. J., Torres M. Signaling by the respiratory burst in macrophages / H. J. Forman, M. Torres // IUBMB Life. – 2001. – №51 (6). – P.365 – 371.
9. Иммунологические методы / Под ред. Г.Ф. Фримеля ; пер. с нем. – М. : Медицина. – 1987. – 472 с.
10. Передерій В.Г. Основи внутрішньої медицини / В.Г. Передерій, С.М. Ткач. – Київ: Нова Книга. – 2010. – 1006 с.
11. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных / О.Ю. Реброва. – Москва: МедиаСфера. – 2002. – 312 с.

### Реферат

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА «КОРДИЦЕПС И ЛИНЧЖИ» НА КИСЛОРОДЗАВИСИМЫЙ МЕТАБОЛИЗМ ФАГОЦИТОВ РАЗЛИЧНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ

Макаренко А.Н., Рудик М.П., Позур В.В., Святецкая В.Н., Довгий Р.С.

Ключевые слова: «Кордицепс и Линчжи», мононуклеары крови, перитонеальные макрофаги, кислородзависимый метаболизм.

Исследовали влияние средства «Кордицепс и Линчжи» на кислородзависимый метаболизм перитонеальных макрофагов мышей и мононуклеаров крови человека. Показано, что средство стимулировало показатели кислородзависимого метаболизма исследуемых фагоцитирующих клеток. Наибольший эффект «Кордицепс и Линчжи» оказывал на моноциты крови человека, а именно внесение средства в концентрации 200 мкг/мл стимулировало кислородзависимый метаболизм в 50 раз по сравнению с контролем.

### Summary

EFFECT OF "CORDICEPS AND LINCHZHI" ON OXYGEN-DEPENDENT METABOLISM OF PHAGOCYTES OF DIFFERENT POPULATIONS

Makarenko O.M., Rudyk M.P., Pozur V.V., Sviatetska V. N., Dovgiy R.S.

Keywords: "Cordiceps and Linchzhi", blood mononuclear, peritoneal macrophages, oxygen-dependent metabolism.

This paper presents the study aimed to investigate the effects produced by effect of "Cordiceps and Linchzhi" on oxygen-dependent metabolism of human peritoneal macrophages and blood mononuclears. It has been found out this medication stimulates the indices of oxygen-dependent metabolism of phagocytes under the observation. The most marked effect is produced by "Cordiceps and Linchzhi" on the human monocytes. The introduction of the medicine in concentration of 200 µg/ml increases the rate of oxygen-dependent metabolism in 50 times compared to the control group.

УДК 616.831-008.9 –092.9

**Френкель Ю.Д.**

## **РОЛЬ NO-СИНТАЗ У МЕХАНІЗМАХ ПОРУШЕНЬ ОКИСНЮВАЛЬНОГО МЕТАБОЛІЗМУ У ТКАНИНІ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЗА УМОВ ХРОНІЧНОЇ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ГІПОМЕЛАТОНІЕМІЇ**

Миколаївський національний університет ім. В.О. Сухомлинського, м. Миколаїв

*У експерименті на 25 білих щурах досліджено роль функціонального стану NO-синтаз (NOS) у механізмах порушень окиснювального метаболізму у тканині головного мозку при хронічній гіпомелатоніемії, яку відтворювали шляхом цілодобового освітлення тварин у дозі 1500 лк протягом 55 діб. Виявлено, що за цих умов функціонування нейрональної NOS обмежує рівень утворення супероксидного аніон-радикала дихальним ланцюгом мітохондрій і активацію пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) у тканині великих півкуль головного мозку. У той же час, функціонування індуцибельної NOS сприяє гіперпродукції супероксиду, активації ПОЛ, що супроводжується зниженням антиоксидантного потенціалу, активності супероксиддисмутази. Застосування L-аргініну за умов експерименту обмежує активацію ПОЛ, підвищує активність каталази у тканині великих півкуль головного мозку.*

Ключові слова: гіпомелатоніемія, оксид азоту, NO-синтази, оксидативний стрес, головний мозок.

*Стаття є фрагментом планової НДР Миколаївського національного університету ім. В.О. Сухомлинського „Вплив мелатоніну на функції систем організму” (№ держреєстрації 0106U002994).*

Відтворення гіпомелатоніемії шляхом цілодобового освітлення щурів у дозі 1500 люкс, за нашими попередніми даними, супроводжується прогресуючим збільшенням продукції  $\cdot O_2^-$  НАДФН-оксидазними комплексами: міросом та лейкоцитів (починаючи з 30 доби експерименту) та дихальним ланцюгом мітохондрій (на 55 добу експерименту), активацією пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) (на 55 добу експерименту), прогресуючим зниженням активності антиоксидантних (АО) ферментів: СОД і каталази (починаючи з 10 доби дослідження), глутатіонпероксидази (на 55 добу експерименту) [7].

В останні роки показана здатність мелатоніну пригнічувати активність індуцибельної NO-синтази (iNOS) [13] та збільшувати активність

нейрональної (nNOS) [11]. Саме з активністю iNOS найчастіше пов'язують ініціацію окиснювального стресу у тканині головного мозку за умов його гіпоксії, ішемії / реперфузії, запалення [3, 6].

Проте NO-залежні механізми порушення вільнорадикальних окиснювальних процесів за умов гіпомелатоніемії залишаються нез'ясованими.

### Мета роботи

Вивчення ролі функціонального стану NO-синтаз (NOS) у механізмах порушень окиснювального метаболізму у тканині головного мозку за умов хронічної експериментальної гіпомелатоніемії.