

УДК 616.831-005.1-002.1-092.9:615

**Ковтун А.М., Макаренко О.М., Бібікова В.М**

## **ВПЛИВ ЗАСОБУ МІТОХОНДРИНУ (M2) НА ГЛІАЛЬНУ СИСТЕМУ СЕНСОМОТОРНОГО ЦЕРЕБРОКОРТЕКСУ ДОСЛІДНИХ ЩУРІВ ІЗ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНО ВІДТВОРЕННИМ ГОСТРИМ ГЕМОРАГІЧНИМ ІНСУЛЬТОМ**

ДВНЗ «Переяслав – Хмельницький державний педагогічний університет ім. Григорія Сковороди»

Київський національний університет ім. Тараса Шевченка

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

*Нормальне підтримання функцій ЦНС і виживання нейронів багато в чому залежить від зберігання складної гами взаємозв'язків між ними і гліоцитами. В нейронауці сформувалося стійке уявлення про нервову тканину як нейрогліальну систему, у рамках якої постулюється можливість здійснення нервових функцій тільки за участю гліальної складової. Однак сучасна терапія цереброваскулярних патологій базується в площині нейропротекції, не враховуючи гліопротекторний аспект проблеми. В неврології розроблено і використовується велика кількість засобів фармакологічної корекції геморагічного ураження головного мозку, що володіють нейропротекторними властивостями. Доцільність їх застосування доведено багаточисельними експериментальними дослідженнями, проте залишається недостатньо вивченою система гліального гомеостазу клітинних утворень мозку на дії чинників патогенезу гострої недостатності мозкового кровообігу (ГНМК) та механізми їх регуляції під впливом лікарських засобів. Мета проведеного дослідження – визначення впливу лікарського засобу Мітохондрину (M2) на показники системи гліального гомеостазу і різних типів гліо-гліальних взаємовідносин сенсомоторного цереброкортексу головного мозку щурів при експериментальному відтворенні моделей первинного та повторного гострого геморагічного інсульту. Матеріали і методи. У порівняльному гістологічному дослідженні у п'ятих групах дослідних щурів (n=10 тварин у кожній групі) оцінювали терапевтичний ефект запропонованого засобу M2 в дозі 0,1 мг/кг в умовах гострого порушення мозкового кровообігу за геморагічним типом щодо особливостей гліального гомеостазу та гліо-гліальної системи міжклітинних взаємовідносин в сенсомоторному цереброкортексі впродовж 10 – денного спостереження. Для об'єктивної оцінки стану цитоструктурної організації сенсомоторного цереброкортексу та встановленню взаємозв'язку між клітинними елементами даної ділянки мозкової тканини при гострому геморагічному інсульті та додатковому введенні M2, був проведений кількісний і якісний гліальний аналізи. В даній роботі використовували авторські показники (індекси) дослідження клітинних утворень мозку: «гліальну формулу» (ГФ) та «гліальний індекс (кількісний)» (ГІК) (Макаренко О.М. та співавт., 2014). Результати. Отримані результати експериментального дослідження дії M2 свідчать про те, що фармакологічна дія досліджуваного лікарського засобу має неоднотипну вираженість на окремі типи гліоцитів сенсомоторного цереброкортексу при експериментальному відтворенні гострого ГІ та ГІ+ГІ. Застосування M2 привело до ефективного захисту та відновлення кількісного складу і питомої ваги популяції астроцитів як при гострому первинному, так і при повторному ГІ, сприяло нормалізації популяції мікрогліоцитів, але різниця порівняно з контрольними показниками була суттєвою та супроводжувалася частковою корекцією епендимоцитів. Однак, при гострому первинному та повторному інсульті не відзначалось позитивного впливу антигіпоксичного лікарського засобу M2 на відновлення популяції олігодендроцитів. Слід підкреслити, що застосування запропонованого засобу суттєво запобігає розвитку неврологічного дефіциту в сенсомоторній зоні цереброкортексу головного мозку. Окрім цього, істотні зміни спостерігалися у взаємозалежній гамі взаємозв'язків між різними типами гліоцитів в основних показниках гліального індексу кількісного цереброкортексу, а саме в кількісній зміні показників трьох типів міжклітинних співвідношень: кількості астроцитів до мікрогліоцитів, олігодендроцитів до мікрогліоцитів та астроцитів до олігодендроцитів в умовах моделювання гострого порушення мозкового кровообігу та застосування M2. Висновки. Введення лікарського засобу M2 в терапевтичній дозі 0,1 мг/кг протягом 10 діб на тлі експериментальної цереброваскулярної патології неоднозначно впливає на гліальний гомеостаз і гліо-гліальні взаємовідносини в сенсомоторній зоні цереброкортексу, відновлюючи кількість астроцитів, що робить цю популяцію клітин мішенню його впливу, частково мікрогліоцитів та епендимоцитів. Не спостерігається відновлення серед кількості олігодендроцитів, однак безпосередньо відзначається нейропротекторний ефект засобу при ГНМК.*

Ключові слова: геморагічний інсульт, гліальний гомеостаз, мітохондрин, гліальний індекс кількісний.

### **Вступ**

В сучасній неврології використовується значна кількість засобів фармакологічної корекції геморагічного ураження головного мозку, проте їх ефективність спостерігається часто лише в процесі виконання експериментальних робіт. Су-

часна терапія цереброваскулярних патологій базується на нейропротекторному підході, а існуюча нейронаукова парадигма розглядає проблему захисту ЦНС тільки в площині нейропротекції, не враховуючи гліопротекторний аспект проблеми [8,9]. Це погіршує ефективність лікування хворих і, особливо, перебіг реабілітаційного пе-

ріоду. У неврології виділяють цілу групу лікарських засобів, що володіють нейропротекторним властивостями: постсинаптичні антагоністи глутамату, пресинаптичні інгібітори глутамату, блокатори кальцієвих каналів, антиоксиданти, ноотропи та інші. Доцільність їх застосування доведено багаточисельними експериментальними дослідженнями, проте залишається недостатньо вивченою система гліального гомеостазу клітинних утворень мозку на дії чинників патогенезу гострої недостатності мозкового кровообігу (ГНМК) та механізми їх регуляції під впливом лікарських засобів [7]. Реакцію гліоцитів описують загальним терміном гліоз без деталізації і конкретизації особливостей реакції різних типів гліальних клітин на патологічні фактори ГНМК [1,4].

В головному мозку при розвитку мозкового інсульту спостерігається системна реакція всіх клітинних елементів нервової тканини. Заміна сучасного домінуючого нейропротекторного підходу на системноклітинний аналіз змусить розробити нову парадигму лікування захворювань ЦНС. При цьому вона буде ґрунтуватись на кількісній оцінці функціонального стану комплексів клітинних утворень головного мозку і окремих типів клітин, що допоможе об'єктивно вивчити динаміку процесів, що розвиваються в тканині мозку в умовах патології (і при геморагічному інсульті – зокрема) [7]. Виходячи із цих позицій, завданням роботи стало дослідження впливу фармакологічного засобу Мітохондрину (М2) на процеси стабілізації гліального гомеостазу та гліо-гліальних взаємовідносин в гострому періоді захворювання.

Засіб М2 представляє собою комплекс трофінотропних регуляторних олігопептидів з молекулярною масою 250-500 Да, поліпептидів з молекулярною масою до 7000 Да, та комплексу домінуючих амінокислот: глутамінової і аспарагінової кислот, гліцину, аланіну, серіну та валіну, отриманих із мітохондрій окремих тканин (мозок, печінка і підшлункова залоза) новонароджених молозивних поросят [5]. Діючими факторами цього засобу вважаються речовини, що утворюються в організмі поросят під впливом ряду послідовно виникаючих скорочень міометрію в умовах пологів, останні супроводжуються розвитком гіпоксії всіх, і особливо кисень-залежних тканин поросят. Особливість отримання засобу визначило його фармакологічну дію (нейро- та гепатопротекторну, зокрема) і значну активність навіть за умов 1-3 призначень. Проте вплив М2 в якості засобу гліопротекторного захисту мозку в гострому періоді геморагічного інсульту до цього часу залишився невивченим і вимагав проведення відповідного експериментального дослідження.

### Мета дослідження

Мета роботи полягала у дослідженні ефективності впливу лікарського засобу Мітохондрину (М2) на показники системи гліального гомеостазу і різних типів гліо-гліальних взаємовідносин

сенсомоторного цереброкортексу великих півкуль головного мозку щурів при експериментальному відтворенні моделей первинного та повторного гострого геморагічного інсульту.

### Матеріали та методи дослідження

Дослідження гліопротекторного впливу багаторазового введення М2 в гострому періоді геморагічного інсульту (ГІ) вивчали на 50 білих статевозрілих щурах-самцях лінії Вістар, масою 200-220 г. В роботі була використана стандартизована модель інтрацеребральної посттравматичної гематоми (ГІ за об'ємом і ступенем ураження мозку), із локалізацією вогнища в області внутрішньої капсули правої півкулі головного мозку дослідних щурів. Остання характеризується мінімальним ушкодженням цереброкортексу, інших відділів мозку (Макаренко А.Н. і соавт., 2002) [6]. Обмежену область крововиліву відтворювали у наркотизованих тварин (10% розчин тіопенталу натрію, внутрішньочеревно, 60 мг/кг) шляхом механічної деструкції тканини мозку в області внутрішньої капсули (capsula interna, L = 3,5-4,0, H = 6 0; AP = 0,6-1,0) в межах правої півкулі (іпсілатеральна по відношенню до вогнища інсульту). В зазначену область за допомогою стереотаксичного приладу (СТМ-3, Росія) вводили девіантно відхилений від осі канюлі мандрен-ніж, виконували 4-6 обертальних рухів з наступним введенням в зону деструкції 0,12-0,2 мл аутокрові піддослідної тварини. Після оперативного втручання рану наглухо зашивали поліамідною ниткою 10/0 ("Ethicon" Шотландія), а покривні тканини в області шва обробляли 5% спиртовим розчином йоду. Дослідних тварин повертали в клітки для спостереження впродовж періоду після відтворення первинного гострого геморагічного інсульту. Через 10 днів після операції тваринам інтраперитоніально вводився фармакологічний засіб мітохондрин (М2) у дозі 0,1 мг/кг впродовж 10 днів. Через 10 днів після відтворення первинного інсульту дослідних тварин повторно наркотизували 10% розчином тіопенталу натрію (внутрішньочеревно 60 мг/кг) з метою експериментального відтворення повторної інтрацеребральної гематоми за вище наведеною методикою. Через 10 днів після моделювання повторного інсульту тваринам інтраперитоніально вводився лікарський засіб мітохондрин у дозі 0,1 мг/кг впродовж 10 днів. Всі оперативні втручання на тваринах проводилися із дотриманням правил асептики і антисептики. Всі дослідні тварини були розподілені на 5 груп по 10 щурів в кожній наступним чином: I – інтактні; II – із первинним гострим геморагічним інсультом (ГІ); III – із геморагічним інсультом та застосуванням мітохондрину (ГІ+М2); IV – із повторним гострим геморагічним інсультом (ГІ+ГІ); V – із повторним інсультом та застосуванням мітохондрину (ГІ+ГІ + М2). Через 10 днів після закінчення експерименту щурів декапітували в умовах поверхневого ефірного наркозу з метою

отримання ділянок сенсомоторної кори великих півкуль головного мозку тварин для гістологічних досліджень. Мозкову тканину фіксували в 10% нейтральному розчині формаліну (рН 7,4), приготуваному на фосфатному буфері. Фрагмент фіксованого головного мозку щурів зневоднювали у батареї етилового спирту зростаючої концентрації і заливали в парафін за загальноприйнятими методиками. Після цього отримували фронтальні зрізи завтовшки 6-7 мкм на санному мікротомі МС-2 (Росія), які профарбовували розчинами гематоксиліну і еозину, або тіоніну.

Зрізи, забарвлені гематоксиліном і еозином, або розчином тіоніну вивчали у світлооптичному мікроскопі Micromed XS-5520 (Китай) [загальне збільшення 160x (об'єктив - 10x, окуляр - 16x)], стандартна площа зрізу складала 689000 мкм<sup>2</sup>, досліджували 10 і більше полів зору. Вивчали загальний склад і кількість різних типів гліоцитів (астроцитів, олігодендроцитів, мікрогліоцитів та епендиміоцитів), а також пірамідних нейронів 3 і 5 шарів сенсомоторної зони обох півкуль головного мозку тварин. Типи гліальних клітин визначали і підраховували із використанням наступних диференціальних морфологічних критеріїв: структури форми ядер і клітинних тіл, інтенсивності їх забарвлення та характеру ядерно-цитоплазматичних співвідношень. За величиною ядра, гліоцити можна розташувати в наступний ряд: олігодендроцити>астроцити>мікрогліоцити; а за розмірами самих клітинних тіл – наступним чином: астроцити>олігодендроцити>мікрогліоцити. Ці клітини за інтенсивністю профарбування гематоксилін-еозином розташовуються так: мікрогліоцити>олігодендроцити>астроцити.

Фотографування клітинних утворень мозку проводили за допомогою цифрової камери TourCam SCMOS03000KPA 3.0. (Китай), отримані мікрофотографії піддавали обробці у графічному редакторі Adobe Photoshop CS6. Для кількісного і якісного аналізу складу гліоцитів сенсомоторного цереброкортексу головного мозку використовували системно-клітинні показники: 1) гліальну формулу (ГФ) (кількісний (відсотковий) вміст окремих гліоцитів по відношенню до загальної кількості гліоцитів і нейронів); 2) гліальний індекс кількісний (ГІК) (співвідношення суми одного типу гліоцитів до іншого: астроцитів до мікрогліоцитів (А/М), олігодендрогліоцитів до мікрогліоцитів (О/М), і, нарешті, астроцитів до олігодендрогліоцитів (А/О)) (Макаренко О.М. та співавт., 2014) [7]. Статистичну обробку отриманих даних здійснювали методами описової та варіаційної статистики, при цьому використовували програму обробки даних SPSS Statistics 17.0. Для опису загальних кількісних закономірностей у досліджуваних групах використовували основні статистичні показники (міру центральної тенденції із вираховуванням середнього арифметичного та міру мінливості – із вираховування стандартного відхилення). Отримані дані у експериментальних тварин порівнювались з даними

контрольних. Вірогідність різниці між даними порівнювальних груп оцінювали по U-критерію Манна-Уїтні (при  $p < 0,05$ ).

### **Результати досліджень та їх обговорення**

Системний аналіз реакції окремих типів гліоцитів головного мозку свавців за умов моделювання гострого аутогеморагічного інсульту та застосування лікарського засобу Мітохондрину демонструє розвиток кількісно-якісних змін. На тлі розвитку неврологічного (нейронального) дефіциту, спричиненого загибелю нейронів цереброкортексу в умовах гострого інсульту суттєву роль в генезі порушень відіграє кількісні зміни окремих пулів гліальних клітин, що суттєво пов'язано із реалізацією нейропротекторної дії М2. Результати проведених порівняльних гістологічних досліджень переконливо свідчать про розвиток певного чітко вираженого спектру патологічних змін, що проявляються в істотних кількісних змінах клітинного складу сенсомоторного цереброкортексу при моделюванні ГНМК та певний корективний вплив М2 при терапевтичному його застосуванні.

Кількісні зміни були доповнені і якісними змінами в умовах ГНМК та застосування М2. Завдяки застосуванню запропонованих нами способів дослідження гліального гомеостазу цереброкортексу шляхом оцінки гліальної формули (ГФ) і гліального індексу кількісного (ГІК), вдалось не тільки кількісно деталізувати, але і якісно описати характер цитопатологічних процесів і змін окремих типів гліоцитів, підвищити об'єктивність і достовірність характеру мозкових уражень, що розвиваються при моделюванні гострої цереброваскулярної патології.

Встановлено, що у дослідних щурів із первинним гострим геморагічним інсультом (ГІ) (II), в іпсілатеральній зоні ураження півкулі спостерігалась зміна кількості астроцитів, олігодендроцитів, мікрогліоцитів, і епендиміоцитів, тобто різного порушення цитоструктурної організації сенсомоторної зони цереброкортексу. Так, кількість астроцитів не достовірно зменшувалась ( $143,50 \pm 62,73$  (12,90%)) порівняно з відповідним показником контралатеральної півкулі ( $218 \pm 143,26$  (18,45%)), і достовірно зменшувалась щодо відповідних показників цереброкортексу півкуль інтактних щурів ( $297,00 \pm 6,16$  (17,85%) і  $298,67 \pm 29,11$  (17,88%)). Кількість олігодендроцитів достовірно зменшувалась в цереброкортексі інсультної півкулі ( $393,50 \pm 112,52$  (35,38%)) порівняно із відповідним показником контралатеральної півкулі ( $546,30 \pm 125,86$  (46,20%)), достовірно зменшувались порівняно із показниками цереброкортексу інтактних щурів ( $884,50 \pm 7,91$  (53,12%) і  $876,00 \pm 31,64$  (52,42%) відповідно). Достовірно збільшувалась кількість мікрогліоцитів в іпсілатеральній ГІ півкулі ( $575,30 \pm 108,27$  (51,72%)) порівняно із відповідним показником контралатеральної півкулі ( $417,90 \pm 62,38$  (35,35%)), і показниками цереброкортексу обох півкуль інтактних щурів ( $483,33 \pm 9,99$  (29,03%) і  $496,50 \pm 22,66$  (29,70%)).

Кількість епендимоцитів інсультної півкулі збільшувалися не достовірно ( $87,10 \pm 20,10$ ) порівняно із показником контралатеральної півкулі ( $77,20 \pm 12,20$ ), але не достовірно знижувалась порівняно із показниками цереброкортексу обох півкуль головного мозку інтактних щурів ( $106,83 \pm 3,97$  і  $106,17 \pm 4,16$ ). Слід підкреслити, що кількість пірамідних нейронів сенсомоторного цереброкортексу достовірно зменшувалась в іпсілатеральній ГІ півкулі ( $13,50 \pm 6,58$ ), якщо порівняти із відповідними показниками контралатеральної півкулі ( $28,20 \pm 12,12$ ), і показниками цереброкортексу обох півкуль мозку інтактних щурів ( $22,33 \pm 2,58$  і  $22,83 \pm 3,18$ ) (Табл. 1; Рис. 1; Рис. 2).

У щурів III групи із гострим ГІ та застосуванням Мітохондрину (в дозі  $0,1$  мг/кг (ГІ+М2)), на 10 добу досліді відзначалось статистично достовірне зростання кількості астроцитів в інсультній півкулі ( $255,80 \pm 36,21$  (30,35%)) порівняно з показниками відповідної контралатеральної півкулі ( $172,60 \pm 33,62$  (16,67%)), порівняно із іпсілатеральною півкулею мозку дослідних щурів із ГІ ( $143,50 \pm 62,73$  (12,90%)) та порівняно із обома півкулями мозку інтактних щурів ( $297,00 \pm 6,16$  (17,85%) і  $297,00 \pm 6,16$  (17,85%)). Кількість олігодендроцитів достовірно зменшувалась в іпсілатеральній півкулі ( $212,70 \pm 18,03$  (25,25%)) порівняно із показниками відповідної контралатеральної півкулі щурів III групи ( $396,60 \pm 118,39$  (38,28%)), дослідної іпсілатеральної півкулі мозку щурів із ГІ ( $393,50 \pm 112,52$  (35,38%)) і особливо в порівнянні із обома півкулями мозку інтактних щурів ( $884,50 \pm 7,91$  (53,12%) і  $876,00 \pm 31,64$  (52,42%)). Кількість і питома вага мікрогліоцитів в іпсілатеральній вогнищу ГІ півкулі у III групи тварин складала ( $374,10 \pm 34,40$  (44,40%)), тобто статистично достовірно зменшувалась відповідно до показника контралатеральної півкулі ( $466,80 \pm 28,25$  (45,05%)), і набагато нижчою порівняно із інсультною півкулею мозку дослідних щурів із ГІ ( $575,30 \pm 108,27$  (51,72%)), та достові-

рно нижчою щодо обох півкуль мозку інтактних щурів ( $483,33 \pm 9,99$  (29,03%) і  $496,50 \pm 22,66$  (29,70%)). Кількість епендимоцитів інсультної півкулі III групи складала  $129,80 \pm 41,01$  клітин в порівнянні із відповідним показником контралатеральної півкулі ( $151,30 \pm 40,84$ ), проте перевищувала показник іпсілатеральної півкулі мозку дослідних щурів із ГІ ( $87,10 \pm 20,10$ ) та достовірно перевищувала цей показник цереброкортексу великих півкуль мозку інтактних щурів ( $106,83 \pm 3,97$  і  $106,17 \pm 4,16$ ). Одночасно, кількість пірамідних нейронів III і V шарів сенсомоторного цереброкортексу достовірно зменшувалась в іпсілатеральній півкулі III дослідної групи до  $27,70 \pm 15,10$  в порівнянні з відповідними показниками контралатеральної ( $53,50 \pm 12,19$ ), проте суттєво збільшувалась порівняно з іпсілатеральною півкулею мозку щурів із ГІ без лікування ( $13,50 \pm 6,58$ ), і частково збільшувалась в порівнянні з показниками цереброкортексу обох півкуль мозку інтактних щурів ( $22,33 \pm 2,58$  і  $22,83 \pm 3,18$ ) (Табл. 1; Рис. 1; Рис. 2; Рис. 3).

Отже, використання з терапевтичною метою фармакологічного засобу М2 при експериментальному відтворенні у тварин первинного гострого ГІ сприяло захисту та ефективній корекції кількісного складу різних популяцій гліоцитів сенсомоторного цереброкортексу великих півкуль головного мозку та їх цитофункціональному відновленню. Так, спостерігалось відновлення кількості астроцитів до нижньої кількісної межі норми, а також кількості клітин епендимоцитів. Однак, динаміка відновлення не стосувалась популяції олігодендроцитів та частково стосувалась мікрогліоцитів. Одночасно з тим, застосування досліджуваного засобу суттєво запобігало розвитку нейронального дефіциту, про що свідчать кількісні показники пірамідних нейронів III і V шарів сенсомоторної зони цереброкортексу головного мозку.

Таблиця 1.

Зміни кількісного складу гліоцитів і пірамідних нейронів сенсомоторного цереброкортексу іпсі- і контралатеральної півкуль головного мозку дослідних щурів після моделювання первинного гострого геморагічного інсульту (ГІ) без та із застосуванням мітохондрину (М2) [площа поля зору  $0,689$  мм<sup>2</sup> ( $X \pm SX$ )].

Нервові клітини цереброкортексу	Група тварин					
	Контроль (I) (інтактні тварини)		Дослідна (II) (ГІ)		Дослідна (III) (ГІ+М2)	
	contralateral	ipsilateral	contralateral	ipsilateral	contralateral	ipsilateral
Астроцити	$297,00 \pm 6,16$ 17,85%	$298,67 \pm 29,11$ 17,88%	$218 \pm 143,26$ 18,45%	$143,50 \pm 62,73$ 12,90% а	$172,60 \pm 33,62$ 16,67% а	$255,80 \pm 36,21$ 30,35% а, b
Олігодендроцити	$884,50 \pm 7,91$ 53,12%	$876,00 \pm 31,64$ 52,42%	$546,30 \pm 125,86$ 46,20% а	$393,50 \pm 112,52$ 35,38% а, b	$396,60 \pm 118,39$ 38,28% а	$212,70 \pm 18,03$ 25,25% а, b
Мікрогліоцити	$483,33 \pm 9,99$ 29,03%	$496,50 \pm 22,66$ 29,70%	$417,90 \pm 62,38$ 35,35%	$575,30 \pm 108,27$ 51,72% а, b	$466,80 \pm 28,25$ 45,05% а	$374,10 \pm 34,40$ 44,40% а, b
Епендимоцити	$106,83 \pm 3,97$	$106,17 \pm 4,16$	$77,20 \pm 12,20$ а	$87,10 \pm 20,10$ а	$151,30 \pm 40,84$ а	$129,80 \pm 41,01$
Пірамідні нейрони	$22,33 \pm 2,58$	$22,83 \pm 3,18$	$28,20 \pm 12,12$	$13,50 \pm 6,58$ а, b	$53,50 \pm 12,19$ а	$27,70 \pm 15,10$ b

Умовні позначення: **а** - достовірна відмінність від даних контрольної групи тварин (при  $p < 0,05$  U - критерія Манна-Уїтні); **б** - достовірна відмінність від даних відповідної контралатеральної півкулі тварин з ГІ та ГІ+М2 (при  $p < 0,05$  U - критерія Манна-Уїтні).

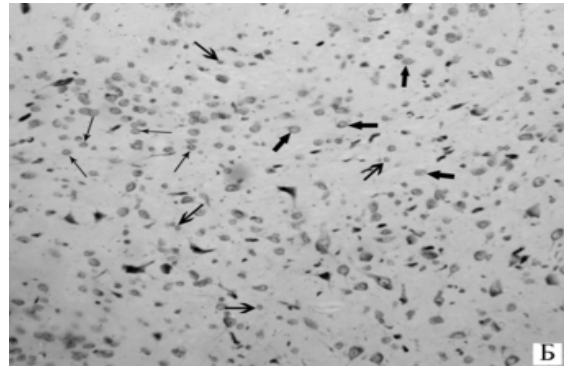
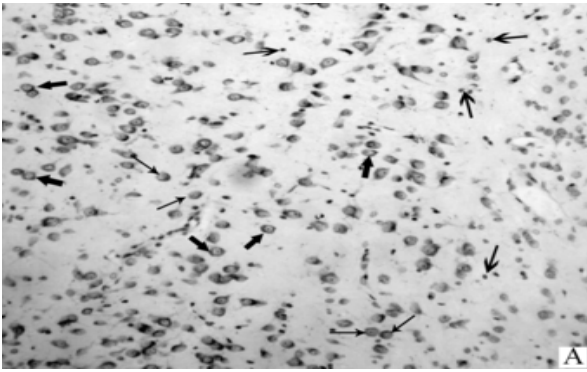





Рис. 1. Гістоструктура сенсомоторного цереброкортексу білих щурів в нормі. Умовні позначення: А - іпсілатеральна півкуля; Б - контралатеральна півкуля. Стрілками позначені гліюцити:  олігодендроцити;  астроцити;  мікрогліюцити. (Забарвлення за Ніслем. Ок.  $\times 16$ , об.  $\times 10$ ).

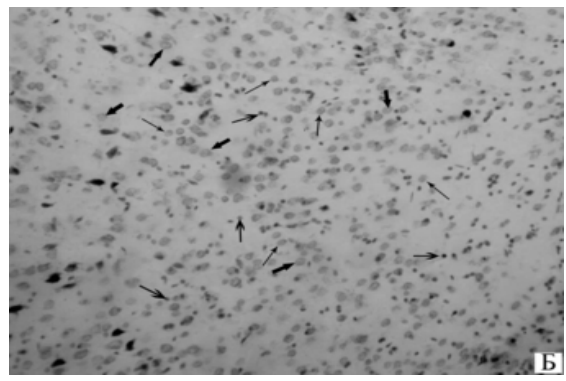
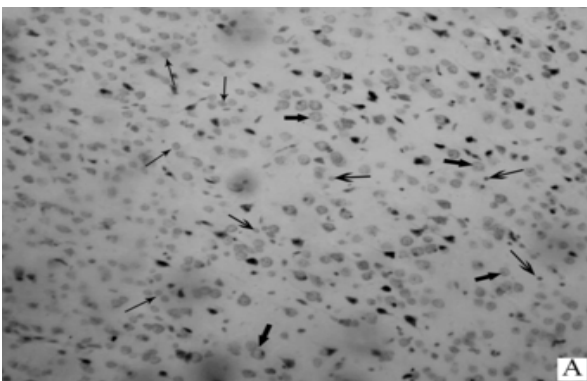





Рис. 2. Порушення гістоструктури сенсомоторного цереброкортексу дослідних тварин із первинним гострим геморагічним інсультом (Г). Умовні позначення: А – іпсілатеральна вогнищу Г півкуля, значна кількість деформованих гіперхромних нервових клітин; Б - контралатеральна півкуля. Стрілками позначені гліюцити:  олігодендроцити;  астроцити;  мікрогліюцити. (Забарвлення гематоксилін-еозином. Ок.  $\times 16$ , об.  $\times 10$ ).

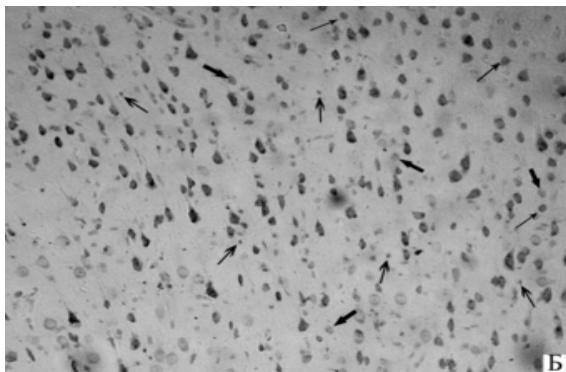
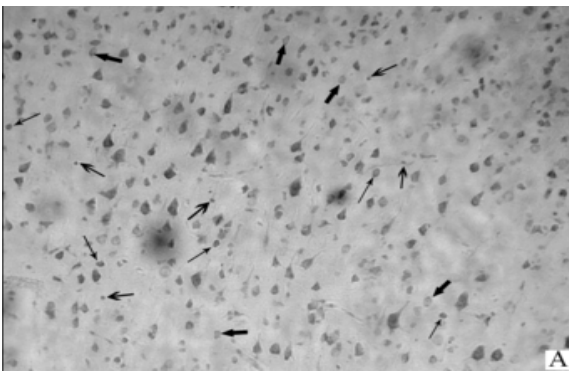





Рис. 3. Порушення гістоструктури сенсомоторного цереброкортексу дослідних тварин з первинним Г та застосуванням мітохондрину (М2). Умовні позначення: А – іпсілатеральна півкуля, практично відсутні деформовані гіперхромні клітини; Б - контралатеральна півкуля. Стрілками позначені гліюцити:  олігодендроцити;  астроцити;  мікрогліюцити. (Забарвлення гематоксилін-еозином. Ок.  $\times 16$ , об.  $\times 10$ ).

Отримані результати і встановлені закономірності слід було перевірити при відтворенні у тварин повторного інсульту, який в клінічних умовах характеризується набагато більш важким перебігом і недостатньою ефективністю медикаментозного лікування. Протягом заключного

періоду експериментального вивчення було встановлено, що при первинному і повторному гострому геморагічному інсульті (Г+Г) у дослідних щурів (IV група), в сенсомоторному цереброкортексі іпсілатеральної вогнищу геморагії півкулі також спостерігалася істотна зміна кількис-

ного складу і питомої ваги досліджуваних нами популяцій нервових клітин. Було встановлено, що кількісний (і процентний) вміст астроцитів в сенсомоторному цереброректесі іпсілатеральної вогнищам ГІ+ГІ півкулі достовірно суттєво знижувався ( $171,00 \pm 117,63$  (8,47%)) порівняно із відповідними показниками контралатеральної півкулі ( $478,30 \pm 162,13$  (30,83%)), і показниками цереброректесу обох півкуль мозку інтактних щурів ( $297,00 \pm 6,16$  (17,85%) і  $298,67 \pm 29,11$  (17,88%)). Кількість олігодендроцитів в сенсомоторному цереброректесі інсультної півкулі достовірно збільшувалась ( $864,20 \pm 372,21$  (42,76%)) порівняно із показником контралатеральної півкулі ( $538,40 \pm 211,85$  (34,70%)), проте не достовірно знижувалась порівняно із показниками обох півкуль мозку інтактних щурів ( $884,50 \pm 7,91$  (53,12%) і  $876,00 \pm 31,64$  (52,42%)). При аналізі змін гліальної формули кількість мікрогліоцитів дослідної півкулі достовірно і суттєво збільшувалась ( $985,50 \pm 206,15$  (48,77%)) щодо відповідного показника контралатеральної півкулі ( $534,70 \pm 166,54$  (34,47%)), і особливо по відношенню до кількості цих клітин в обох півкулях мозку інтактних щурів ( $483,33 \pm 9,99$  (29,03%) і  $496,50 \pm 22,66$  (29,70%)). Кількість епендимоцитів в цереброректесі інсультної півкулі, мала тенденцію до збільшення ( $155,40 \pm 36,12$ ) порівняно із відповідним показником контралатеральної півкулі ( $136,30 \pm 68,26$ ), але достовірно зростала в порівнянні із показниками цереброректесу обох півкуль мозку інтактних щурів ( $106,83 \pm 3,97$  і  $106,17 \pm 4,16$ ). Аналогічно цьому кількість пірамідних нейронів достовірно зменшувалась у іпсілатеральній ГІ+ГІ півкулі ( $33,10 \pm 20,60$ ) порівняно із відповідним показником контралатеральної півкулі ( $57,40 \pm 21,71$ ), і не достовірно збільшеною порівняно із показниками цереброректесу обох півкуль мозку інтактних щурів ( $22,33 \pm 2,58$  і  $22,83 \pm 3,18$ ) (Табл. 2; Рис. 4).

У щурів V дослідної групи із повторним геморагічним інсультом та застосуванням мітохондрину ( $0,1$  мг/кг, ГІ+ГІ + M2), на 10 добу досліду було виявлено тенденцію до збільшення кількості астроцитів в т.зв. «інсультній» півкулі ( $259,50 \pm 53,31$  (24,27%)) під дією засобу порівняно із показником контралатеральної півкулі ( $266,00 \pm 48,72$  (20,38%)), але вона була вищою порівняно із контралатеральною півкулею мозку щурів (ГІ+ГІ) ( $171,00 \pm 117,63$  (8,47%)), та показниками цереброректесу обох півкуль мозку інтактних щурів ( $297,00 \pm 6,16$  (17,85%) і  $297,00 \pm 6,16$  (17,85%)). Кількість олігодендроцитів в іпсілатеральній півкулі ( $353,80 \pm 67,53$  (33,10%)) не достовірно зменшена порівняно із показниками контралатеральної півкулі тварин V

групи ( $447,40 \pm 144,27$  (34,26%)), дослідної іпсілатеральної півкулі мозку щурів IV групи (ГІ+ГІ) ( $864,20 \pm 372,21$  (42,76%)) та статистично достовірно нижчою порівняно із показниками інтактних щурів ( $884,50 \pm 7,91$  (53,12%) і  $876,00 \pm 31,64$  (52,42%)). Одночасно було встановлено достовірно зменшення кількості, а відтак і питомої ваги мікрогліоцитів в цереброректесі інсультної півкулі до  $455,90 \pm 105,74$  клітин (42,63%) порівняно із відповідним показником контралатеральної півкулі ( $592,30 \pm 19,39$  (45,36%)), а також порівняно із дослідною іпсілатеральною півкулею мозку щурів IV групи ( $985,50 \pm 206,15$  (48,77%)), і водночас, не достовірно збільшення порівняно з цереброректесом обох півкуль мозку інтактних щурів ( $483,33 \pm 9,99$  (29,03%) і  $496,50 \pm 22,66$  (29,70%)). Показник кількості епендимоцитів інсультної півкулі мав тенденцію до зростання ( $150,60 \pm 43,53$ ) порівняно із відповідним показником контралатеральної півкулі ( $113,20 \pm 40,15$ ), іпсілатеральної півкулі мозку щурів із ГІ+ГІ ( $87,10 \pm 20,10$ ) в той же час достовірно зростав порівняно із показниками цереброректесу обох півкуль мозку інтактних щурів ( $106,83 \pm 3,97$  і  $106,17 \pm 4,16$ ). Особливу цінність мають результати дослідження кількості пірамідних нейронів сенсомоторного цереброректесу. Цей показник достовірно зменшувався в іпсілатеральній півкулі ( $15,20 \pm 4,63$ ) порівняно із відповідними показниками контралатеральної півкулі ( $59,20 \pm 33,07$ ), а також іпсілатеральної півкулі мозку дослідних щурів із (ГІ+ГІ) ( $33,10 \pm 20,60$ ), він також достовірно зменшувався в порівнянні із показниками цереброректесу обох півкуль мозку інтактних щурів ( $22,33 \pm 2,58$  і  $22,83 \pm 3,18$ ) (Табл. 2; Рис. 1; Рис. 4; Рис. 5).

Отримані результати експериментального дослідження дії M2 переконливо свідчать про те, що фармакологічна дія досліджуваного лікарського засобу має велику вираженість на окремі типи гліоцитів сенсомоторного цереброректесу при експериментальному відтворенні повторного гострого ГІ. У дослідних тварин, спостерігається відновлення кількісного складу і питомої ваги популяції астроцитів, що робить цю популяцію клітин мішенню його впливу, сприяє нормалізації популяції мікрогліоцитів та частково коригує кількість епендимоцитів. Як і при первинному гострому ГІ, при моделюванні повторного ГІ та застосуванні трофінотропного засобу M2 не спостерігається позитивного впливу на відновлення популяції олігодендроцитів, проте засіб зменшує характер неврологічного дефіциту, нормалізуючи кількість пірамідних нейронів III і V шарів сенсомоторного цереброректесу.

Таблиця 2.

Зміни кількісного складу гліоцитів і пірамідних нейронів сенсомоторного цереброкортексту іпси- і контралатеральної півкулі головного мозку дослідних щурів після моделювання повторного гострого геморагічного інсульту (ГІ+ГІ) без та із застосуванням мітохондрину (М2) [площа поля зору 0,689 мм2 (X±SX)].

Нервові клітини цереброкортексту	Група тварин					
	Контроль (I) (інтактні тварини)		Дослідна (IV) (ГІ+ГІ)		Дослідна (V) (ГІ+ГІ + М2)	
	contralateral	ipsilateral	contralateral	ipsilateral	contralateral	ipsilateral
Астроцити	297,00±6,16 17,85%	298,67±29,11 17,88%	478,30±162,13 30,83% a	171,00±117,63 8,47% a,b	266,00±48,72 20,38%	259,50±53,31 24,27%
Олігодендроцити	884,50±7,91 53,12%	876,00±31,64 52,42%	538,40±211,85 34,70% a	864,20±372,21 42,76% b	447,40±144,27 34,26% a	353,80±67,53 33,10% a
Мікрогліоцити	483,33±9,99 29,03%	496,50±22,66 29,70%	534,70±166,54 34,47%	985,50±206,15 48,77% a,b	592,30±19,39 45,36% a	455,90±105,74 42,63% b
Епендимоцити	106,83±3,97	106,17±4,16	136,30±68,26	155,40±36,12 a	113,20±40,15	150,60±43,53 a
Пірамідні нейрони	22,33±2,58	22,83±3,18	57,40±21,71 a	33,10±20,60 b	59,20±33,07 a	15,20±4,63 a,b

Умовні позначення: **a** - достовірна відмінність від даних контрольної групи тварин (при  $p < 0,05$  U - критерія Манна-Уїтні); **b** - достовірна відмінність від даних відповідної контралатеральної півкулі тварин з ГІ+ГІ та ГІ+ГІ + М2 (при  $p < 0,05$  U - критерія Манна-Уїтні).

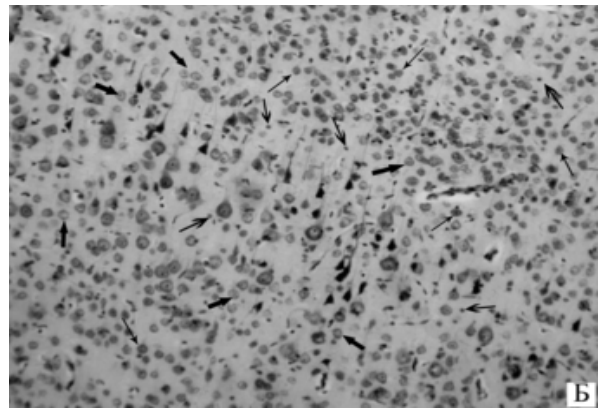
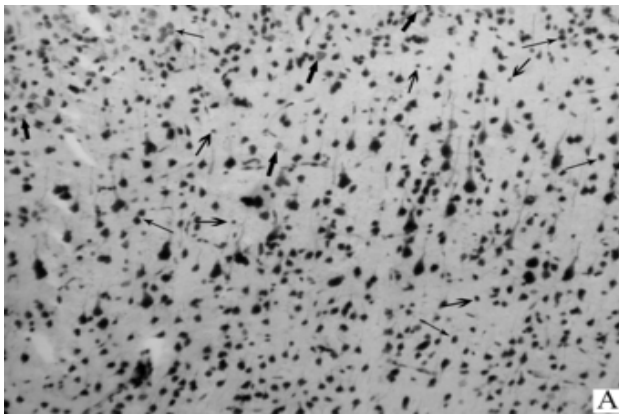


Рис. 4. Порушення гістоструктури сенсомоторного цереброкортексту дослідних тварин із повторним гострим геморагічним інсультом (ГІ+ГІ). Умовні позначення: А - іпсілатеральна вогнищу ГІ+ГІ півкуля, значна кількість гіперхромних і загиблих клітин; Б - контралатеральна півкуля. Стрілками позначені гліоцити: — олігодендроцити; — астроцити; — мікрогліоцити. (Забарвлення гематоксилін-еозином. Ок.  $\times 16$ , об.  $\times 10$ ).

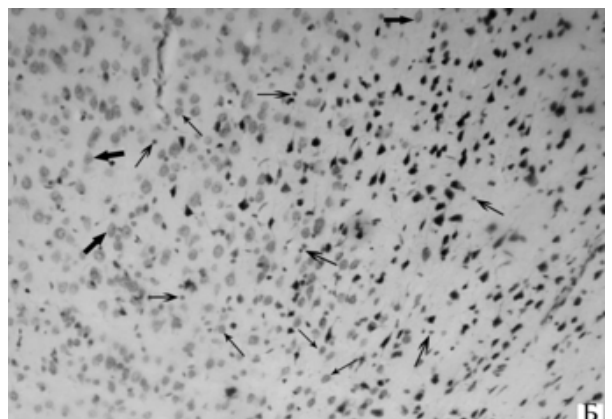
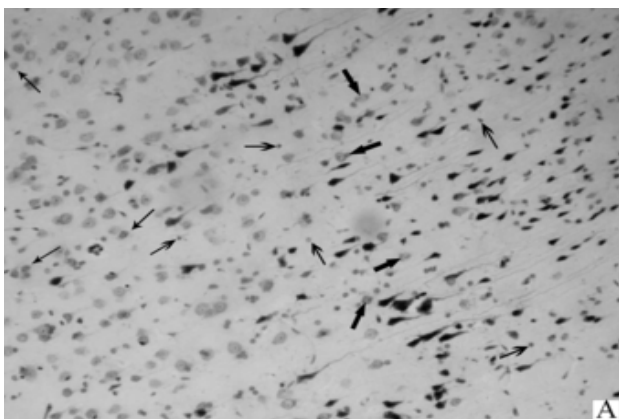


Рис. 5. Порушення гістоструктури сенсомоторного цереброкортексту дослідних тварин із повторним гострим геморагічним інсультом (ГІ+ГІ) та застосуванням мітохондрину (ГІ+ГІ + М2). Умовні позначення: А – іпсілатеральна ГІ+ГІ півкуля, гіперхромні пікнотично змінні клітини; Б - контралатеральна півкуля. Стрілками позначені гліоцити: — олігодендроцити; — астроцити; — мікрогліоцити. (Забарвлення гематоксилін-еозином. Ок.  $\times 16$ , об.  $\times 10$ ).

Таким чином, на тлі розвитку ГНМК, гліальна система клітинного утворення мозку реагує кількісною зміною макро- і мікрогліоцитів у дослідних тварин і на тлі застосування М2. В той же час раніше висловлене припущення про те, що одночасно відбувається різке порушення гліо-гліальних взаємовідносин потребувало проведення уточнюючого дослідження. При цьому було встановлено порушення в системі взаємовідносин між різними типами гліоцитів. При цьому нами була використана методика дослідження гліального індексу (кількісного) (ГІК) цереброкортексту із вивченням показників наступних міжклітинних відношень: кількості астроцитів до мікрогліоцитів, олігодендроцитів до мікрогліоцитів, і, нарешті, астроцитів до олігодендроцитів у тварин із експериментальним гострим порушенням мозкового кровообігу.

При первинному гострому ГІ спостерігалось порушення міжклітинного співвідношення у зниженні показника астроцитів до мікрогліоцитів (ГІК1), сенсомоторного цереброкортексту інсультної півкулі (0,261±0,135 (26,1%)) порівняно із відповідним показником цереброкортексту контралатеральної півкулі (0,539±0,387 (53,9%)) та обох півкуль мозку інтактних щурів (0,614±0,012 (61,4%) і 0,604±0,055 (60,4%)). При цьому відзначалося суттєве зниження кількості олігодендроцитів до мікрогліоцитів (ГІК2) в цереброкортексті інсультної півкулі, що склало (0,682±0,143 (68,2%)) порівняно не лише із відповідним показником сенсомоторного цереброкортексту контралатеральної півкулі (1,304±0,227 (130,4%)) а і обох півкуль мозку інтактних щурів (1,830±0,044 (183%) і 1,765±0,049 (175,6%)). В той же час спостерігались незначні зміни у співвідношенні суми астроцитів до олігодендроцитів (ГІК3) інсультної півкулі (0,400±0,192 (40%)) порівняно з ві-

дповідним показником контралатеральної півкулі (0,471±0,413 (47,1%)) і цереброкортексту обох півкуль мозку інтактних щурів (0,335±0,006 (33,5%) і 0,343±0,040 (34,3%)) (Табл. 3).

У дослідних тварин із первинним гострим ГІ за умов введення антигіпоксичного лікарського засобу М2 прослідковувався його вплив на характер міжклітинних кількісних співвідношень. Це проявлялось зростанням співвідношення астроцитів до мікрогліоцитів (ГІК1) в цереброкортексті інсультної півкулі (0,693±0,143 (69,3%)) порівняно із відповідним показником цереброкортексту контралатеральної півкулі (0,369±0,060 (36,9%)), і дослідною іпсилатеральною півкулею мозку щурів із ГІ (0,261±0,135 (26,1%)) і частковим зростанням порівняно із показниками обох півкуль мозку інтактних щурів (0,614±0,012 (61,4%) і 0,604±0,055 (60,4%)). При цьому відзначалося зниження співвідношення олігодендроцитів до мікрогліоцитів (ГІК2) в цереброкортексті інсультної півкулі (0,573±0,083 (57,3%)) порівняно із показником цереброкортексту контралатеральної півкулі (0,855±0,266 (85,5%)), і не значне зниження порівняно із іпсилатеральною півкулею мозку щурів із ГІ (0,682±0,143 (68,2%)) та досить значне порівняно із показниками півкуль мозку інтактних щурів (1,830±0,044 (183%) і 1,765±0,049 (175,6%)). Нарешті спостерігалось значне зростання співвідношення суми астроцитів до олігодендроцитів (ГІК3) в інсультній півкулі (1,212±0,219 (121,2%)) порівняно із відповідним показником контралатеральної півкулі (0,516±0,316 (51,6%)), порівняно із іпсилатеральною півкулею мозку щурів із ГІ (0,400±0,192 (40%)) та обох півкуль мозку інтактних щурів (0,335±0,006 (33,5%) і 0,343±0,040 (34,3%)) (Табл. 3).

Таблиця 3.

*Зміни міжклітинних співвідношень гліоцитів в сенсомоторному цереброкортексті іпсі- і контралатеральної півкулі головного мозку дослідних щурів після моделювання первинного гострого (ГІ) на тлі застосування мітохондрину (М2) [площа поля зору 0,689 мм2(X±SX)].*

ГІК	Група тварин					
	Контроль (I) (інтактні тварини)		Дослідна (II) (ГІ)		Дослідна (III) (ГІ+М2)	
	contralateral	ipsilateral	contralateral	ipsilateral	contralateral	ipsilateral
ГІК1 (А/М)	0,614±0,012 61,4%	0,604±0,055 60,4%	0,539±0,387 53,9%	0,261±0,135 26,1%	0,369±0,060 36,9%	0,693±0,143 69,3%
ГІК2 (О/М)	1,830±0,044 183%	1,765±0,049 175,6%	1,304±0,227 130,4%	0,682±0,143 68,2%	0,855±0,266 85,5%	0,573±0,083 57,3%
ГІК3 (А/О)	0,335±0,006 33,5%	0,343±0,040 34,3%	0,471±0,413 47,1%	0,400±0,192 40%	0,516±0,316 51,6%	1,212±0,219 121,2%

Умовні позначення: ГІК - гліальний індекс кількісний; А - сума астроцитів;

М - сума мікрогліоцитів; О - сума олігодендроцитів в ділянці сенсомоторного цереброкортексту.

Отримані нами результати свідчать про суттєві зміни, що спостерігаються у взаємозалежній системі гліо-гліальних взаємовідносин при вивченні основних показників гліального індексу (кількісного) цереброкортексту. Виявлено позитивний вплив М2 в умовах моделювання ГНМК на відновлення показників ГІК1 (сумми астроцитів до мікрогліоцитів) до даних норми, одночасно з тим спостерігається суттєве зниження ГІК2 (сумми

олігодендроцитів до мікрогліоцитів) та значне зростання ГІК3 (загальної сумми астроцитів до олігодендроцитів) порівняно з контрольними значеннями.

При відтворенні у тварин повторного гострого ГІ, спостерігалось різке зниження співвідношення суми астроцитів до мікрогліоцитів (ГІК1) в цереброкортексті інсультної півкулі (0,194±0,158 (19,4%)) порівняно із відповідним показником



контралатеральної півкулі ( $0,956 \pm 0,353$  (95,6%)) і обох півкуль інтактних щурів ( $0,614 \pm 0,012$  (61,4%) і  $0,604 \pm 0,055$  (60,4%)). Встановлено незначне зниження співвідношення суми олігодендроцитів до мікрогліоцитів (ГК2) в цереброкортексі іпсілатеральної півкулі ( $0,901 \pm 0,389$  (90,1%)) в порівнянні із показником контралатеральної ( $1,102 \pm 0,517$  (110,2%)) і обох півкуль мозку інтактних щурів ( $1,830 \pm 0,044$  (183%) і  $1,765 \pm 0,049$  (175,6%)). Одночасно спостерігається значне зниження співвідношення загальної суми астроцитів до олігодендроцитів (ГК3) в сенсомоторному цереброкортексі інсультної півкулі ( $0,259 \pm 0,231$  (25,9%)) порівняно із показником контралатеральної півкулі ( $1,198 \pm 0,954$  (119,8%)) і часткове зниження порівняно із обома півкулями мозку інтактних тварин ( $0,335 \pm 0,006$  (33,5%) і  $0,343 \pm 0,040$  (34,3%)) (Табл. 4).

При використанні органелогенного фармакологічного засобу М2 спостерігалась направлена корекція міжклітинного співвідношення у тварин із моделлю повторного гострого ГІ. Спостерігалось зростання співвідношення сумми астроцитів до мікрогліоцитів (ГК1), в цереброкортексі іпсілатеральної до вогнища ГІ півкулі до  $0,608 \pm 0,217$  (60,8%) порівняно з показником цереброкортексу контралатеральної ( $0,449 \pm 0,085$  (44,9%)), а також із показником іпсілатеральної півкулі мозку щурів із ГІ+ГІ ( $0,194 \pm 0,158$  (19,4%))

(Табл. 4). Одночасно зростало співвідношення суми олігодендроцитів до мікрогліоцитів (ГК2) в цереброкортексі інсультної півкулі ( $0,835 \pm 0,313$  (83,5%)) порівняно із відповідним показником цереброкортексу контралатеральної півкулі ( $0,753 \pm 0,233$  (75,3%)), часткове зниження порівняно із іпсілатеральною півкулею мозку щурів із ГІ ( $0,901 \pm 0,389$  (90,1%)) та значне зниження порівняно з обома півкулями мозку інтактних щурів ( $1,830 \pm 0,044$  (183%) і  $1,765 \pm 0,049$  (175,6%)). Відповідно до цього спостерігалось зростання співвідношення суми астроцитів до олігодендроцитів (ГК3) в інсультній півкулі ( $0,735 \pm 0,091$  (73,5%)) порівняно із відповідним показником контралатеральної півкулі ( $0,694 \pm 0,377$  (69,4%)), порівняно з іпсілатеральною півкулею мозку щурів із ГІ ( $0,259 \pm 0,231$  (25,9%)) та обома півкулями мозку інтактних щурів ( $0,335 \pm 0,006$  (33,5%) і  $0,343 \pm 0,040$  (34,3%)) (Табл. 4).

Таким чином, подібно до первинного гострого інсульту, при повторному інсульті також виявлено позитивний вплив М2 на відновлення показників ГК1 (сумми астроцитів до мікрогліоцитів) які практично наближаються до контрольних значень, суттєве зниження відмічається серед показників ГК2 (суми олігодендроцитів до мікрогліоцитів), та досить значне зростання серед ГК3 (загальної сумми астроцитів до олігодендроцитів), однак істотно менше аніж, при первинному гострому ГІ.

Таблиця 4.

*Зміни міжклітинних співвідношень гліоцитів в сенсомоторному цереброкортексі іпсі- і контралатеральної півкулі головного мозку дослідних щурів після моделювання повторного гострого геморагічного інсульту (ГІ+ГІ) та застосування мітохондрину (М2) [площа поля зору  $0,689 \text{ мм}^2(X \pm SX)$ ].*

ГК	Група тварин					
	Контроль (I) (інтактні тварини)		Дослідна (IV) (ГІ+ГІ)		Дослідна (V) (ГІ+ГІ + М2)	
	Contra lateral	Ipsi lateral	Contra lateral	Ipsi lateral	Contra lateral	Ipsi lateral
ГК1 (А/М)	$0,614 \pm 0,012$ 61,4%	$0,604 \pm 0,055$ 60,4%	$0,956 \pm 0,353$ 95,6%	$0,194 \pm 0,158$ 19,4%	$0,449 \pm 0,085$ 44,9%	$0,608 \pm 0,217$ 60,8%
ГК2 (О/М)	$1,830 \pm 0,044$ 183%	$1,765 \pm 0,049$ 175,6%	$1,102 \pm 0,517$ 110,2%	$0,901 \pm 0,389$ 90,1%	$0,753 \pm 0,233$ 75,3%	$0,835 \pm 0,313$ 83,5%
ГК3 (А/О)	$0,335 \pm 0,006$ 33,5%	$0,343 \pm 0,040$ 34,3%	$1,198 \pm 0,954$ 119,8%	$0,259 \pm 0,231$ 25,9%	$0,694 \pm 0,377$ 69,4%	$0,735 \pm 0,091$ 73,5%

Умовні позначення: ГК - гліальний індекс кількісний; А - сума астроцитів; М - сума мікрогліоцитів; О - сума олігодендроцитів в ділянці сенсомоторного цереброкортексу.

### Висновки

Результати виконаного порівняльного аналізу якісних і кількісних змін гліального гомеостазу і гліо-гліальних взаємовідносин в цитоструктурній організації сенсомоторного цереброкортексу тварин на тлі ГНМК дозволяє зробити наступні висновки. Засіб М2 в умовах гострого ГІ та ГІ+ГІ здійснює неоднотипний вплив на кількісний склад і питому вагу різних популяцій гліоцитів сенсомоторного цереброкортексу дослідних тварин, і це стосується кількості астроцитів, олігодендроцитів та мікрогліоцитів та їх співвідношення. При виконанні роботи було визначено найбільш і найменш резистентні типи гліальних клітин до чинників гострого порушення мозково-

го кровообігу. Результати досліджень, виконаних із використанням ГФ і ГК, засвідчили, що в умовах гострого ГІ одразу об'єктивно відбивають реакцію окремих клітин мозку на дію цих екстремальних умов, деталізують і дозволяють кількісно описати процеси, що відбуваються з окремими типами гліоцитів. Так встановлено, що досить чутливими клітинними елементами виявились олігодендроцити, в той час як значну резистентність в умовах гострого ГІ проявили астроцити. Найбільш високу реактивність до дії чинників, що лежать в основі патогенезу ГНМК, і кількісне зростання продемонструвала популяція мікрогліоцитів сенсомоторного цереброкортексу іпсілатеральної до ГІ півкулі. При застосуванні

досліджуваного тропінотропного засобу М2 спостерігалось відновлення кількості астроцитів не лише при гострому ГІ, але і при ГІ+ГІ до нижньої кількісної межі норми. Однак ця динаміка відновлення не стосувалась популяції олігодендроцитів та частково стосувалась мікрогліоцитів. Значену динаміку можна було відслідковувати також в системі епендимоцитів, що вистилають поверхню цереброкортексу сенсомоторної зони цереброкортексу дослідних щурів. Окрім цього, застосування досліджуваного засобу суттєво запобігає розвитку нейрональному (неврологічному) дефіциту, сприяючи виживанню нейронів, що свідчить про безпосередній нейропротекторний ефект засобу при ГНМК.

Суттєві зміни спостерігалися також у взаємозалежній системі гліо-гліальних взаємовідносин при вивченні основних показників гліального індексу (кількісного) цереброкортексу. В першу чергу виявлено позитивний вплив М2 на відновлення показників ГІК1 (суми астроцитів до мікрогліоцитів), але одночасно з тим спостерігалось суттєве зниження ГІК2 (суми олігодендроцитів до мікрогліоцитів) та значне зростання ГІК3 (загальної суми астроцитів до олігодендроцитів) в умовах моделювання гострої недостатності мозкового кровообігу, тобто відсутність протекторного впливу на олігоглію при застосуванні органелогенного тропінотропного засобу «Мітохондрин-2».

### Література

1. Абдурасулова И.Н. Роль иммунных и глиальных клеток в процессах нейродегенерации / И.Н. Абдурасулова, В.М. Клименко // Мед. акад. журн. – 2011. – Т. 11., № 1. – С. 12-29.
2. Астапова В.М. Атлас «Нервная система человека. Строение и нарушения» / В.М. Астапова, Ю.В. Микадзе. – [4-е издание, перераб. и доп.]. – М., 2004. – ПЕР СЭ. – 80 с.
3. Васильев Ю.Г. Гомеостаз и пластичность мозга / Ю.Г. Васильев, Д.С. Берестов. – Ижевск : Ижевская ГСХА, 2011. – 216 с.
4. Думбай В.Н. Структура и функции глии / В.Н. Думбай. – Ростов/Дон. : Изд-во Южного федерального университета, 2007. – 30 с.
5. Патент РФ №2405.558; 10.12.2010; бюл.№23 Лекарственный препарат для лечения гипоксических и токсических митохондриальных нарушений и способ его получения / Макаренко А.Н., Кульчиков А.Е., Морозов С.Г. [и др.].
6. Макаренко А.Н. Метод моделирования локального кровоизлияния в различных структурах головного мозга у экспериментальных животных / А.Н. Макаренко, Н.С. Косицин, Н.В. Пасикова [и др.] // Журнал высшей нервной деятельности. – 2002. – Т. 52 (6). – С. 765-768.
7. Макаренко А.Н. Изучение нейрону- и глиоглиальных преобразований в клеточных системах головного мозга в норме и при моделировании цереброваскулярной патологии / А.Н. Макаренко, В.Н. Бибикина, Н.Н. Терещенко [и др.] // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2014. – Т. 14., Вип. 1 (45). – С. 100-106.
8. Семьянов А.В. Нейрон-глиальное взаимодействие в мозге / А.В. Семьянов, В.Б. Казанцев. – Нижний Новгород : Изд-во Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского, 2007. – 107 с.
9. Степаненко Л.В. Дослідження протекторної дії мітокоректину на розвиток процесів нейродегенерації у тварин у віддаленому періоді відтвореного повторного інсульту / Л.В. Степаненко // Клінічна психіатрія. – 2013. – Т. 72, № 1. – С. 86-91.
10. Сухорукова Е.Г. Структурная организация астроцитов неокортекса крысы и человека, содержащих глиальный фибриллярный кислый белок: автореф. дис. на соискание уч. степени канд. мед. наук : спец. 03.03.04 "Клеточная биология, цитология, гистология" / Е.Г. Сухорукова. – СПб., 2011. – 22 с.
11. Luskin M.B. Neurons, Astrocytes, and Oligodendrocytes of the Rat Cerebral Cortex Originate from Separate Progenitor Cells: An Ultrastructural Analysis of Clonally Related Cells / M.B. Luskin, J.G. Parnavelas, J.A. Barfield // J. Neurosci. — 1993. — Vol. 13, N 4. — P. 1730–1750.
12. Mindaugas J. New potential pharmaceutical targets in ependymal cells: research and evaluation / J. Mindaugas. — University of Geneva, Kaunas University of Medicine, 2010. — P. 62.
13. Skipor J. The choroid plexus in cerebrospinal fluid system: Undervalued pathway of neuroendocrine signaling into the brain / J. Skipor, J.-C. Thiery // Acta Neurobiol Exp. — 2008. — Vol. 68. — P. 414–428.

### References

1. Abdurasulova I.N. Rol' immunnikh i glial'nykh kletok v protsessakh neurodegeneratsii / I.N. Abdurasulova, V.M. Klimenko // Med. akad. zhurn. — 2011. — T. 11., №1. — S. 12-29.
2. Astapova V.M. Atlas «Nervnaya sistema cheloveka. Stroeniye i narusheniya» / V.M. Astapova, YU.V. Mikadze. — [4-ye izdaniye, pererab. i dop.]. — M., 2004. — PER SE. — 80 s.
3. Vasil'yev YU.G. Gomeostaz i plastichnost' mezza / YU.G. Vasil'yev, D.S. Berestov. — Izhevsk : Izhevskaya GSKHA, 2011. — 216 s.
4. Dumbay V.N. Struktura i funktsii glii / V.N. Dumbay. — Rostov/Don. : Izd-vo Yuzhnogo federal'nogo universiteta, 2007. — 30 s.
5. Patent RF №2405.558; 10.12.2010; byul.№23 Lekarstvennyy preparat dlya lecheniya gipoksicheskikh i toksicheskikh mitokhondrial'nykh narusheniy i sposob yego polucheniya / Makarenko A.N., Kul'chikov A.Ye., Morozov S.G. [i dr.].
6. Makarenko A.N. Metod modelirovaniya lokal'nogo krovoizliyaniya v razlichnykh strukturakh golovnoogo mozga u eksperimental'nykh zhivotnykh / A.N. Makarenko, N.S. Kositsin, N.V. Pasikova [i dr.] // Zhurnal vysshey nervnoy deyatel'nosti. — 2002. — T. 52 (6). — S. 765-768.
7. Makarenko A.N. Izucheniye neyrono- i glioglial'nykh preobrazovaniy v kletochnykh sistemakh golovnoogo mozga v norme i pri modelirovaniy tserebrovaskulyarnoy patologii / A.N. Makarenko, V.N. Bibikova, N.N. Tereshchenko [i dr.] // Aktual'ni problemi suchasnoy meditsini: Visnik Ukraїns'koї medichnoy stomatologichnoy akademii'. — 2014. — T. 14., Vip. 1 (45). — S. 100-106.
8. Sem'yarov A.V. Neyron-glial'noye vzaimodeystviye v mozge / A.V. Sem'yarov, V.B. Kazantsev. — Nizhniy Novgorod : Izd-vo Nizhegorodskogo gosudarstvennogo universiteta im. N.I. Lobachevskogo, 2007. — 107 s.
9. Stepanenko L.V. Doslidzhennya protektrornoї diyi mitokorektynu na rozvytok protsesiv neyrodeheneratsiyi u tvaryn u viddalenomu periodi vidtvorenogo povtorno ho insul'tu / L.V. Stepanenko // Klinichna psykhiatriya. — 2013. — T. 72, № 1. — S. 86-91.
10. Sukhorukova Ye.G. Strukturnaya organizatsiya astrotsitov neokorteksa krysy i cheloveka, soderzhashchikh glial'nyy fibrillyarnyy kislyy belok: avtoref. dis. na soiskaniye uch. stepeni kand. med. nauk : spets. 03.03.04 "Kletochnaya biologiya, tsitologiya, tsitologiya" / Ye.G. Sukhorukova. — SPb., 2011. — 22 s.
11. Luskin M.B. Neurons, Astrocytes, and Oligodendrocytes of the Rat Cerebral Cortex Originate from Separate Progenitor Cells: An Ultrastructural Analysis of Clonally Related Cells / M.B. Luskin, J.G. Parnavelas, J.A. Barfield // J. Neurosci. — 1993. — Vol. 13, N 4. — P. 1730–1750.
12. Mindaugas J. New potential pharmaceutical targets in ependymal cells: research and evaluation / J. Mindaugas. — University of Geneva, Kaunas University of Medicine, 2010. — P. 62.
13. Skipor J. The choroid plexus in cerebrospinal fluid system: Undervalued pathway of neuroendocrine signaling into the brain / J. Skipor, J.-C. Thiery // Acta Neurobiol Exp. — 2008. — Vol. 68. — P. 414–428.

### Реферат

ВЛИЯНИЕ СРЕДСТВА МИТОХОНДРИН (M2) НА ГЛИАЛЬНУЮ СИСТЕМУ СЕНСОМОТОРНОГО ЦЕРЕБРОКОРТЕКСА ОПЫТНЫХ КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО ВОСПРОИЗВЕДЕННЫМ ОСТРЫМ ГЕМОРАГИЧЕСКИМ ИНСУЛЬТОМ  
Ковтун А.Н., Макаренко А.Н., Бибикина В.Н.

Ключевые слова: геморрагический инсульт, глиальный гомеостаз, митохондрин, глиальный индекс количественный.

Нормальное поддержание функций ЦНС и выживание нейронов во многом зависят от сохранения сложной гаммы взаимосвязей между ними и глиями. В нейронауке сформировалось стойкое представление о нервной ткани как нейроглиальной системе, в рамках которой постулируется возможность осуществления нервных функций только при участии глиальной составляющей. Однако,

современная терапия цереброваскулярных патологий базируется в плоскости нейропротекции, не учитывая глиопротекторный аспект проблемы. В неврологии разработано и используется большое количество средств фармакологической коррекции геморрагического поражения головного мозга, что обладает нейропротекторными свойствами. Целесообразность их применения доказана многочисленными экспериментальными исследованиями, однако остается недостаточно изученной система глиального гомеостаза клеточных образований мозга на действия факторов патогенеза острой недостаточности мозгового кровообращения (ГНМК) и механизмы их регуляции под воздействием лекарственных средств. Цель проведенного исследования - определение влияния лекарственного средства Митохондрин (М2) на показатели системы глиального гомеостаза и различных типов глио-глиальных взаимоотношений сенсомоторного цереброкортеса головного мозга крыс при экспериментальном воспроизведении моделей первичного и повторного острого геморрагического инсульта. Материалы и методы. В сравнительном гистологическом исследовании в пяти группах опытных крыс (n=10 животных в каждой группе) оценивали терапевтический эффект предложенного средства М2 в дозе 0,1 мг/кг в условиях острого нарушения мозгового кровообращения по геморрагическому типу относительно особенностей глиального гомеостаза и глио-глиальной системы межклеточных взаимоотношений в сенсомоторном цереброкортесе на протяжении 10 - дневного наблюдения. Для объективной оценки состояния цитоструктурной организации сенсомоторного цереброкортеса и установления взаимосвязи между клеточными элементами данного участка мозговой ткани при остром геморрагическом инсульте и дополнительном введении М2 были проведены количественный и качественный глиальный анализы. В данной работе использовали авторские показатели (индексы) исследования клеточных образований мозга: "глиальную формулу" (ГФ) и "глиальный индекс количественный" (ГИК) (Макаренко О. М. и соавт., 2014). Результаты. Полученные результаты экспериментального исследования действия М2 свидетельствуют о том, что фармакологическое действие исследуемого лекарственного средства имеет неоднотипную выраженность на отдельные типы глиоцитов сенсомоторного цереброкортеса при экспериментальном воспроизведении острого ГИ и ГИ+ГИ. Применение М2 привело к эффективной защите и возобновлению количественного состава и удельного веса популяции астроцитов как при остром первичном, так и при повторном ГИ, способствовало нормализации популяции микроглиоцитов, но разница сравнима с контрольными показателями была существенной, и сопровождалась частичной коррекцией епендимоцитов. Однако, при остром первичном и повторном инсульте не отмечалось позитивного влияния антигипоксического лекарственного средства М2 на возобновление популяции олигодендроцитов. Следует подчеркнуть, что применение предложенного средства существенно предотвращает развитие неврологического дефицита в сенсомоторной зоне цереброкортеса головного мозга при остром ГИ. Кроме этого, существенные изменения наблюдались во взаимозависимой гамме взаимосвязей между разными типами глиоцитов в основных показателях глиального индекса количественного цереброкортеса, а именно в количественном изменении показателей трех типов межклеточных соотношений : количества астроцитов к микроглиоцитам, олигодендроцитов к микроглиоцитам и астроцитов к олигодендроцитам в условиях моделирования острого нарушения мозгового кровообращения и применения М2. Выводы. Введение лекарственного средства М2 в терапевтической дозе 0,1 мг/кг в течение 10 суток на фоне экспериментальной цереброваскулярной патологии неоднозначно влияет на глиальный гомеостаз и глио-глиальные взаимоотношения в сенсомоторной зоне цереброкортеса, возобновляя количество астроцитов, которое делает эту популяцию клеток мишенью его влияния, частично микроглиоцитов и епендимоцитов. Не наблюдается возобновления среди количества олигодендроцитов, однако непосредственно отмечается нейропротекторный эффект средства при ГНМК.

### Summary

INFLUENCE OF MITOCHONDRIN (M2) ON GLIAL SYSTEM OF SENSORIMOTOR CEREBRAL CORTEX IN RATS WITH MODELLED ACUTE HEMORRHAGIC STROKE

Kovtun A.N., Makarenko A.N., Bibikova V.N.

Key words: hemorrhagic stroke, glial homeostasis, mitochondrin, glial index quantitative.

The purpose of the study is to reveal the effect produced by "Mitochondrin" (M2) on the indices of glial homeostasis and various types of glial-glio interrelations of sensorimotor cerebrocortex in rats subjected to modelled primary and secondary acute hemorrhagic stroke. Materials and methods. The comparative histological study of five groups of experimental rats (10 animals per group) was to evaluate the therapeutic effect of M2 in a dose of 0.1 mg / kg in acute hemorrhagic stroke relative to glial regarding homeostasis and gio-glia system of intercellular interaction in sensorimotor cerebrocortex for the 10-day observation. Results. The results of experimental investigation on the effect of M2 suggest that the pharmacological effect of the medicinal agent has uneven intensity on certain types of glial cells of sensorimotor cerebrocortex under modelled hemorrhagic stroke. Application of M2 led to effective protection and restoration of quantitative composition and the proportion of astrocytes in acute primary and secondary hemorrhagic stroke, promoted the normalization of microgliaocytes, but the difference comparable with the control indices was significant, and was accompanied by partial correction of ependymocytes. However, in acute primary and recurrent stroke we observed no positive influence of antihypoxic agent of M2 on the

renewal of oligodendrocytes. Conclusions. Administration of M2 agent in a therapeutic dose of 0.1 mg / kg for 10 days in modelled cerebrovascular pathology produced an effect on glial homeostasis and glio-glial relationships in sensorimotor area of the cerebrocortex in different ways, renewing the number of astrocytes that makes the population of cells targeted by its effect, and partially by microglia and ependymocytes. No renewal in the number of oligodendrocytes has been observed, there has been direct neuroprotective effect produced by the agent in hemorrhagic stroke.

УДК 616.843: 544.14

**Кузнецова Т.Ю., Соловійова Н.В., Міщенко А.В.**

## **МОДЕЛЮВАННЯ ВПЛИВУ ВОДНОГО СЕРЕДОВИЩА НА МЕХАНІЗМ ВЗАЄМОДІЇ МОЛЕКУЛИ ГЛУТАТІОНУ ІЗ ВІЛЬНИМИ РАДИКАЛАМИ КИСНЮ**

Полтавський національний технічний університет ім. Ю. Кондратюка  
ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

*Для зменшення негативного впливу вільних радикалів на біологічні об'єкти живого організму останнім часом у практичній медицині широко застосовуються ендогенні антиоксиданти у зв'язку з їх участю в системі захисту організму людини від агресивної дії вільних радикалів. Відсутність систематичних досліджень, особливо на молекулярному рівні, антирадикальної активності різних антиоксидантів при їх взаємодії з вільними радикалами в біологічних системах зумовлює не тільки наявність суперечливих оцінок в інтерпретації експериментально одержаних закономірностей, але й створює труднощі у розвитку загальних уявлень відносно механізму взаємодії антиоксидантів із вільними радикалами та цілеспрямованого підходу до керування цими процесами, які мають практичне застосування у медицині. Це актуалізує вивчення антирадикальної активності різних антиоксидантів. Одним із важливіших факторів впливу на взаємодію глутатіону із вільними радикалами кисню є те, що ця взаємодія відбувається у водному середовищі. Тому для наближення результатів квантовохімічного моделювання до реальних умов взаємодії молекули глутатіону з гідроксил-радикалом і супероксид-аніон-радикалом в організмі людини, представляється актуальним вивчення впливу водного середовища, методами квантової хімії в поєднанні з експериментальними медичними клінічними дослідженнями, що дає можливість не тільки отримати обґрунтування позитивного ефекту використання антиоксиданту, але й встановити його потенційну значущість як лікарського засобу. На основі аналізу результатів квантовохімічного моделювання взаємодії молекули глутатіону з радикалами кисню встановлено, що вона відбувається за кислотно-основним механізмом, причому глутатіон по відношенню до гідроксил-радикалу виступає як основа, а по відношенню до супероксид-аніон-радикалу – як кислота.*

Ключові слова: антиоксидант, гідроксил-радикал, супероксид-аніон-радикал, глутатіон.

### **Вступ**

Для зменшення негативного впливу вільних радикалів кисню на живий організм останнім часом у практичній медицині широко застосовуються ендогенні антиоксиданти у зв'язку з їх участю в системі захисту організму людини від агресивної дії вільних радикалів, наприклад, [1-3]. Відсутність систематичних досліджень, особливо на молекулярному рівні, антирадикальної активності різних антиоксидантів при їх взаємодії з вільними радикалами в біологічних системах зумовлює не тільки наявність суперечливих оцінок в інтерпретації результатів експериментальних закономірностей [4-7], але й створює труднощі у розвитку загальних уявлень відносно механізму взаємодії антиоксидантів із вільними радикалами та цілеспрямованого підходу до керування цими процесами, які мають практичне застосування у медицині, наприклад, [8, 9]. Це актуалізує вивчення антирадикальної активності різних антиоксидантів.

Взаємодія антиоксидантів із вільними радикалами обумовлена впливом великої кількості різноманітних взаємопов'язаних процесів, стабілізація яких, навіть в умовах експерименту, є

досить проблематичною. Одним із важливіших факторів впливу на взаємодію глутатіону із вільними радикалами кисню є те, що ця взаємодія відбувається у водному середовищі. Тому, для наближення результатів попереднього [10, 11] квантовохімічного моделювання до реальних умов взаємодії молекули глутатіону (GSH) з гідроксил-радикалом ( $\cdot\text{OH}$ ) і супероксид-аніон-радикалом ( $\cdot\text{OO}^-$ ) в організмі людини, представляється актуальним вивчення ефективності дії ендогенного антиоксиданта шляхом моделювання механізму його взаємодії із вільними радикалами, із урахуванням впливу водного середовища, методами квантової хімії в поєднанні з експериментальними медичними клінічними дослідженнями, що дає можливість не тільки отримати обґрунтування позитивного ефекту використання антиоксиданту, але й встановити його потенційну значущість як лікарського засобу.

Метою роботи було дослідження впливу водного середовища на антирадикальні властивості ендогенного антиоксиданту глутатіону ( $\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_6\text{S}$ ) шляхом моделювання механізму його взаємодії із вільними радикалами ( $\cdot\text{OH}$  і  $\cdot\text{OO}^-$ ).