

УДК 616.831–005.1–092.9–085.21

**Макаренко О.М., Ковтун А.М., Васильєва І.Г.**

## **ФАРМАКОТЕРАПЕВТИЧНА ЕФЕКТИВНІСТЬ МІТОХОНДРИНУ (М2) ТА ЦЕРЕБРАЛУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ГОСТРОМУ ГЕМОРАГІЧНОМУ ІНСУЛЬТІ**

\*Київський національний університет ім. Тараса Шевченка

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

*Стаття присвячена фармакотерапевтичній ефективності мітохондрину та церебралу при експериментальному гострому геморагічному інсульті. Дослідження ефективності лікарських засобів, за багаторазового введення в гострому періоді геморагічного інсульту (ГІ), вивчали на 40 білих статевозрілих щурах-самцях лінії Вістар. Отримані результати і їх поглиблений аналіз свідчать про те, що фармакологічна дія досліджуваних лікарських засобів має неоднотипну вираженість на окремі типи гліоцитів сенсомоторного цереброкортексу при експериментальному гострому геморагічному інсульті.*

Ключові слова: мітохондрин, церебрал, гострий геморагічний інсульт.

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 медикаментозна терапія геморагічного ураження головного мозку базується головним чином в площині нейропротекції, залишаючи в стороні гліопротекторний аспект проблеми. У зв'язку з цим уточнення ролі гліальних елементів мозку в процесі розвитку гострого порушення мозкового кровообігу (ГПМК) за геморагічним типом та його регуляції під впливом лікарських засобів актуально для вдосконалення підходів лікування захворювань ЦНС.

Засіб Мітохондрин (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. Діючими факторами цього засобу вважаються речовини, що утворюються в тканинах тварин, народжених під впливом ряду послідовно виникаючих гіпоксично-пологових атак, що супроводжуються розвитком гіпоксії тканин [3].

Церебрал отримують із кори головного мозку самок свиней, що успішно перенесли відтворений геморагічний інсульт (ГІ). За хімічним складом препарат являє собою комплекс амінокислот (АК) та пептидів. Домінуючими АК в Церебралі відповідно, як і в Мітохондрині є глутамінова та аспарагінова, але переважають гліцинова, серінова, аланінова, що свідчить про зміни в складі мозку тварин після перенесеного інсульту. В складі Церебралу встановлено наявність пептидів довжиною 3-12 АК [5]. **З** метою вивчення коригуючого впливу запропонованих лікарських засобів (Мі-

тохондрин, Церебрал) на стан системи гліального гомеостазу сенсо-моторного цереброкортексу щурів при експериментальному відтворенні гострого аутогеморагічного інсульту нами вперше було проведено експериментальне дослідження.

### **Матеріали і методи**

Дослідження фармакотерапевтичної ефективності лікарських засобів, за багаторазового введення в гострому періоді геморагічного інсульту (ГІ), вивчали на 40 білих статевозрілих щурах-самцях лінії Вістар (середня маса 203,1±7,5г). Модель експериментального гострого геморагічного інсульту полягала у відтворенні локальної посттравматичної гематоми в ділянці внутрішньої капсули (capsula internadextra, L=3,5-4,0; H=6,0; AP=0,6-1,0) правої півкулі головного мозку щурів, шляхом її механічного руйнування (Макаренко О.М. та співавт., 2002) [4]. Прооперовані тварини були розділені на три підгрупи, двом із яких впродовж 10 днів поспіль після відтворення гострого ГІ вводили лікарські засоби: Мітохондрин – інтраперитоніально в дозі 0,1 мг/кг/добу, Церебрал – інтраназально, по 2-3 краплі в обидві ніздрі в дозі 0,15 мг/кг/добу. Через 10 днів після моделювання локального гострого ГІ (в ділянці С.І. dextra) для гістологічних досліджень у дослідних щурів проведено забір ділянок сенсомоторної кори великого мозку «інсультної» півкулі на рівні ділянки введення канюлі. На фронтальних гістозрізах виявляли та встановлювали кількісний склад астроцитів, олігодендроцитів, мікрогліоцитів та епендимоцитів, що вистилають поверхню цереброкортексу. Для об'єктивної оцінки стану цитоструктурної організації сенсо-моторного цереброкортексу головного мозку був проведений кількісний і якісний гліальний аналіз із використанням системно-клітинних авторських показників (індексів): 1) гліальної формули (ГФ) (кількісний (відсотко-

вий) вміст окремих гліальних клітин по відношенню до загальної кількості гліоцитів і нейронів ( $GF = A + O + M$  де, А - кількість астроцитів, О - кількість олігодендроцитів, М - кількість мікрогліоцитів, GF – сумарна кількість гліоцитів)); 2) гліального індексу кількісного (ГІК) (співвідношення суми одного типу гліоцитів до іншого: астроцитів до мікрогліоцитів ( $ГІК1=A/M$ ), олігодендроцитів до мікрогліоцитів ( $ГІК2=O/M$ ), і нарешті астроцитів до загальної кількості олігодендроцитів ( $ГІК3=A/O$ ))(Макаренко О.М. та співавт., 2014). Отримані дані представлені у вигляді  $X \pm SX$ . Результати оброблялися статистично за U-критерієм Манна-Уїтні. Статистично значущими вважали дані при  $P < 0,05$ .

### Результати та їх обговорення

Отримані результати і їх поглиблений аналіз свідчать про те, що фармакологічна дія досліджуваних лікарських засобів має неоднотипну вираженість на окремі типи гліоцитів сенсомоторного цереброкортексу при експериментальному гострому геморагічному інсульті. В нормі у щурів спостерігалася наступна кількість популяцій гліоцитів: астроцитів ( $298,67 \pm 29,11$  (17,88%)); олігодендроцитів ( $876,00 \pm 31,64$  (52,42%)); мікрогліоцитів ( $496,50 \pm 22,66$  (29,70%)); епендимоцитів ( $106,17 \pm 4,16$ ). У т.зв. "інсультній" півкулі щурів з експериментальним гострим ГІ, спостерігалася статистично достовірне зниження кількості астроцитів ( $143,50 \pm 62,73$  (12,9%)) та олігодендроцитів ( $393,50 \pm 112,52$  (35,3%)) порівняно із контрольними значеннями. Одночасно з тим, достовірне зростання кількості мікрогліоцитів ( $575,90 \pm 108,63$  (51,7%)) та зниження кількісного складу епендимоцитів ( $87,10 \pm 20,10$ ). Так, використання з терапевтичною метою фармакологічного засобу М2 при відтворенні у тварин гострого геморагічного інсульту (ГІ+М2) достовірно сприяло ефективному захисту та цитофункціональному відновленню кількісного складу і питомої ваги популяції астроцитів ( $255,80 \pm 36,21$  (30,35%)) порівняно із даними норми та тварин із гострим ГІ, що робить цю популяцію клітин мішенню його впливу, часткової нормалізації популяції мікрогліоцитів ( $374,10 \pm 34,40$  (44,40%)), але різниця порівняно з контрольними показниками була суттєвою, та частковою, достовірною до показника дослідних тварин із ГІ корекцією епендимоцитів ( $129,80 \pm 41,01$ ). Однак, достовірно не відзначалось позитивного впливу антигіпоксичного лікарського засобу М2 на відновлення популяції олігодендроцитів ( $212,70 \pm 18,03$  (25,25%)) порівняно з контрольним показником та показни-

ком тварин із ГІ (Табл. 1; Рис. 1).

Окрім встановлених істотних кількісних змін, були встановлені і якісні зміни, що спостерігалися у взаємозалежній системі гліо-гліальних взаємовідносин між різними типами гліоцитів при вивченні основних показників гліального індексу (кількісного) (ГІК) цереброкортексу: кількості астроцитів до мікрогліоцитів (ГІК1), олігодендроцитів до мікрогліоцитів (ГІК2), і, нарешті, астроцитів до олігодендроцитів (ГІК3). Значення гліальних індексів інтактних тварин наступні: ГІК1 =  $0,604 \pm 0,055$ ; ГІК2 =  $1,765 \pm 0,049$ ; ГІК3 =  $0,343 \pm 0,040$ . У "інсультній" півкулі щурів з експериментальним гострим ГІ, спостерігалися такі значення гліальних індексів: ГІК1 =  $0,261 \pm 0,135$ ; ГІК2 =  $0,682 \pm 0,143$ ; ГІК3 =  $0,400 \pm 0,192$ . Виявлено позитивний вплив М2 в умовах гострого геморагічного ураження мозку на відновлення показника ГІК1 ( $0,693 \pm 0,143$ ) до даних норми, одночасно з тим спостерігалось суттєве зниження ГІК2 ( $0,573 \pm 0,083$ ), та значне зростання ГІК3 ( $1,212 \pm 0,219$ ) порівняно з контрольними значеннями (Табл. 2; Рис. 1).

При порівняльному гістологічному дослідженні протекторної дії Церебралу на тлі розвитку гострого ГІ встановлено, що пропонований трофінотропний засіб статистично достовірно не впливає на відновлення кількості астроцитів ( $143 \pm 54,43$  (9,25%)) порівняно із контрольними значеннями, в той час, як направлена корекція на популяцію останньої спостерігалась за умов застосування Мітохондрину. Подібно до фармакологічної дії М2 позитивна достовірна до контрольного показника динаміка відновлення не стосувалась популяції олігодендроцитів ( $485,40 \pm 191,40$  (31,38%)), та мікрогліоцитів ( $918,60 \pm 192,53$  (59,37%)), яка ще зберігала високу реактивну здатність у відповідь на розвиток інсульту порівняно із контролем, та показником тварин із ГІ. Разом з тим, на відміну від дослідної групи тварин із ГІ+М2, при використанні Церебралу не спостерігалось статистично достовірного коригуючого впливу на клітини епендимоцитів ( $73,7 \pm 21,08$ ) порівняно із контрольними показниками, та показниками цереброкортексу тварин із ГІ (Табл. 1; Рис. 1).

На відміну від застосування М2, у дослідних тварин із моделлю гострого ГІ та застосуванням Церебралу (ГІ+Ц) відмічається суттєве зниження серед показника ГІК1 ( $0,155 \pm 0,049$ ) порівняно з середніми даними інтактних тварин, проте як і при дії М2, спостерігається істотне зниження ГІК2 ( $0,528 \pm 0,180$ ), та наближення значення показника ГІК3 ( $0,312 \pm 0,082$ ) до контрольних значень (Табл. 2; Рис. 1).

Таблиця 1.

Зміни кількісного складу гліоцитів (гліальної формули (ГФ)) сенсо-моторного цереброкортексту головного мозку дослідних щурів після експериментального відтворення гострого геморагічного інсульту (ГІ) на тлі застосування Мітохондрину (+М2) та Церебралу (+Ц) [площа поля зору 0,689 мм<sup>2</sup> (10 полів зору) (X±SX)].

Гліальні клітини Цереброкортексту	Група тварин			
	Контроль (I) (інтактні тварини)	Дослідна (II) (ГІ)	Дослідна (III) (ГІ+М2)	Дослідна (IV) (ГІ+Ц)
Астроцити	298,67±29,11 <b>17,88%</b> 1	143,50±62,73* <b>12,90%</b> ↓	255,80±36,21* # <b>30,35%</b> ↑↑	143±54,43* <b>9,25%</b> ↓
Олігодендроцити	876,00±31,64 <b>52,42%</b> 1	393,50±112,52* <b>35,38%</b> ↓↓	212,70±18,03* # <b>25,25%</b> ↓↓	485,40±191,40* <b>31,38%</b> ↓↓
Мікрогліоцити	496,50±22,66 <b>29,70%</b> 1	575,30±108,27* <b>51,72%</b> ↑↑	374,10±34,40* # <b>44,40%</b> ↑↑	918,60±192,53* # <b>59,37%</b> ↑↑
Епендимоцити	106,17±4,16 1	87,10±20,10* ↓	129,80±41,01# ↑	73,7±21,08*# ↓↓

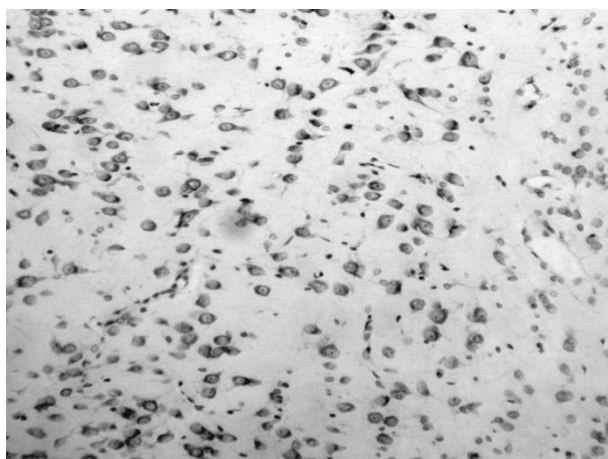
Умовні позначення: \* - достовірно до контрольного показника (при  $p < 0,05$  U - критерія Манна-Уїтні); # - достовірно до показника тварин з геморагічним інсультом (ГІ) (при  $p < 0,05$  U - критерія Манна-Уїтні)

Таблиця 2.

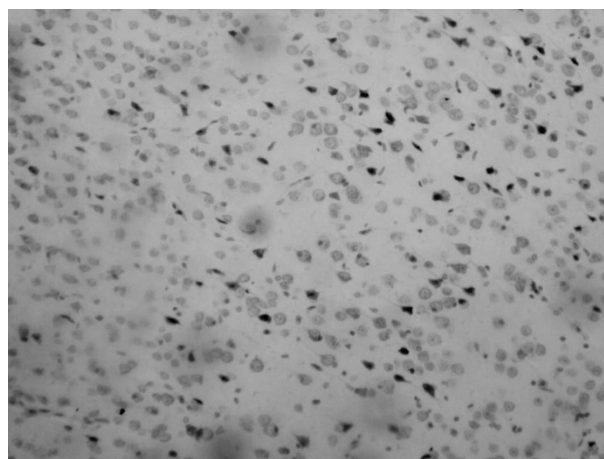
Динаміка змін міжклітинних співвідношень серед гліоцитів в сенсо-моторному цереброкортексті головного мозку дослідних щурів після експериментального відтворення гострого геморагічного інсульту (ГІ) на тлі застосування Мітохондрину (+М2) та Церебралу (+Ц) [площа поля зору 0,689 мм<sup>2</sup> (10 полів зору) (X±SX)].

ГІК	Група тварин			
	Контроль (I) (інтактні тварини)	Дослідна (II) (ГІ)	Дослідна (III) (ГІ+М2)	Дослідна (IV) (ГІ+Ц)
ГІК1 (А/М)	0,604±0,055 <b>60,4%</b> 1	0,261±0,135 <b>26,1%</b> ↓↓	0,693±0,143 <b>69,3%</b> ↑	0,155±0,049 <b>15,5%</b> ↓↓↓
ГІК2 (О/М)	1,765±0,049 <b>175,6%</b> 1	0,682±0,143 <b>68,2%</b> ↓↓↓	0,573±0,083 <b>57,3%</b> ↓↓↓	0,528±0,180 <b>52,8%</b> ↓↓↓
ГІК3 (А/О)	0,343±0,040 <b>34,3%</b> 1	0,400±0,192 <b>40%</b> ↑	1,212±0,219 <b>121,2%</b> ↑↑↑	0,312±0,082 <b>31,2%</b> =

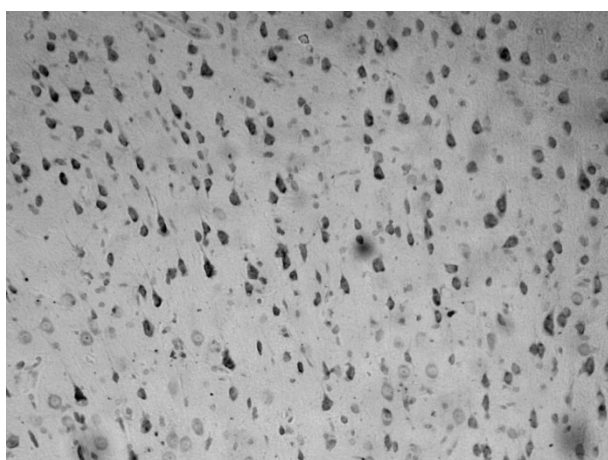
Умовні позначення: ГІК - гліальний індекс кількісний; А - сума астроцитів; М - сума мікрогліоцитів; О - сума олігодендроцитів в ділянці сенсо-моторного цереброкортексту.



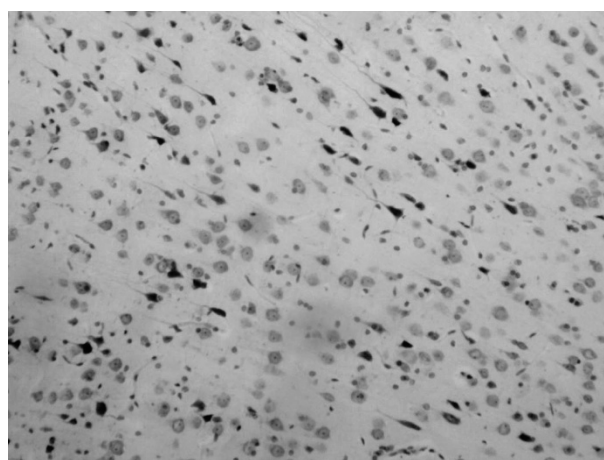
А



Б



В



Г

Рис. 1. Гістоструктура сенсо-моторного цереброкортексу дослідних тварин. Умовні позначення: А – контроль (інтактні тварини); Б – геморагічний інсульт (ГІ); В – геморагічний інсульт із Мітохондрином (ГІ+М2); Г – геморагічний інсульт із Церебралом (ГІ+Л); (Забарелення гематоксилін-еозином. Ок.  $\times 16$ , об.  $\times 10$ ).

### Висновки

Аналіз отриманих даних дає підстави для висновку, що лікарські засоби володіють гліопротекторною дією, проте в різній мірі виражають свою фармакотерапевтичну ефективність направлену на підтримання нормального функціонального стану при ГПМК за геморагічним типом. Тривале застосування Мітохондрину в терапевтичних дозах показало більш високу ефективність впливу на відповідні гліальні клітини-мішені у порівнянні із Церебралом. Застосування М2 сприяло нормалізації порушень гліального гомеостазу, що проявлялося у відновленні кількості астроцитів та епендимоцитів до нижньої кількісної межі норми. Однак динаміка відновлення не стосувалась популяції олігодендроцитів та частково стосувалась мікрогліоцитів. Зазначена позитивна динаміка відновлення не відслідковувалась при використанні Церебралу. Окрім цього, виявлено частковий позитивний вплив запропонованих засобів на корекцію гліо-гліальних взаємовідносин в сенсо-моторному цереброкортексі щурів у гостро-

му періоді ГІ. Фармакологічна дія М2 сприяла відновленню суми астроцитів до мікрогліоцитів на відміну від застосування Церебралу, одночасно з тим при використанні обох засобів спостерігалось суттєве зниження сумми олігодендроцитів до мікрогліоцитів та значне зростання сумми астроцитів до олігодендроцитів при застосуванні М2 та їх відновлення до контрольних значень при застосуванні Церебралу.

### Література

1. Васильев Ю.Г. Гомеостаз и пластичность мозга / Ю.Г. Васильев, Д.С. Берестов – Ижевск : Ижевская ГСХА, 2011. – 216 с.
2. Думбай В.Н. Структура и функции глии / В.Н. Думбай. – Ростов/Дон.: Издательство Южного федерального университета, 2007. – 30 с.
3. Макаренко А.Н., Кульчинов А.Е., Морозов С.Г. и др. Лекарственный препарат для лечения гипоксических и токсических митохондриальных нарушений и способ его получения. Патент РФ №2405.558; 10.12.2010; бюл.№23.
4. Макаренко А.Н. Метод моделирования локального кровоизлияния в различных структурах головного мозга у экспериментальных животных / А.Н. Макаренко, Н.С. Косицин, Н.В. Пасикова, М.М. Свинов // Журнал высшей нервной деятельности. – 2002. – Т. 52 (6). – С. 765-768.
5. Makarenko A.N., Vasil'eva I.G. Neuroactivating mechanism of action of the new trophicotropic drug cerebral // Eksp. Klin. Farmakol. – 2004. – Vol. 67, № 4. – P. 12-15.

### References

1. Vasil'ev Ju.G. Gomeostaz i plastichnost' mozga / Ju.G. Vasil'ev, D.S. Berestov – Izhevsk : Izhevskaja GSHA, 2011. – 216 s.
2. Dumbaj V.N. Struktura i funkcii glii / V.N. Dumbaj. – Rostov/Don.: Izdatel'stvoJuzhnogo federal'nogo universiteta, 2007. – 30 s.
3. Makarenko A.N., Kul'chikov A.E., Morozov S.G. i dr. Lekarstvennyj preparat dlja lechenija gipoksicheskikh i toksicheskikh mitohondrial'nyh narushenij i sposob ego poluchenija. Patent RF №2405.558; 10.12.2010; bjul.№23.
4. Makarenko A.N. Metod modelirovanija lokal'nogo krovoizlijanija v razlichnyh strukturah golovnogogo mozga u jeksperimental'nyh zhivotnyh / A.N. Makarenko, N.S. Kosicin, N.V. Pasikova, M.M. Svinov // Zhurnal vysshej nervnoj dejatel'nosti. – 2002. – T. 52 (6). – S. 765-768.
5. Makarenko A.N., Vasil'eva I.G. Neuroactivating mechanism of action of the new trophintropic drug cerebral // Eksp. Klin. Farmakol. – 2004. – Vol. 67, № 4. – R. 12-15.

### Реферат

ФАРМАКОТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ МИТОХОНДРИНА (M2) И ЦЕРЕБРАЛА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОСТРОМ ГЕМОРРАГИЧЕСКОМ ИНСУЛЬТЕ.

Макаренко А.Н., Ковтун А.М., Васильева И.

Ключевые слова: митохондрия, церебрал, острый геморрагический инсульт.

Статья посвящена фармакотерапевтической эффективности митохондрина и церебрала при экспериментальном остром геморрагическом инсульте. Исследование эффективности лекарственных средств, в условиях многократного введения в остром периоде геморрагического инсульта (ГИ) изучали на 40 белых половозрелых крысах-самцах линии Вистар. Полученные результаты и их углубленный анализ свидетельствуют о том, что фармакологическое действие лекарственных средств имеет неоднотипную выраженность на отдельные типы глиоцитов сенсомоторного цереброкортекса при экспериментальном остром геморрагическом инсульте.

### Summary

THERAPEUTIC EFFICIENCY OF MITOHONDRIAN (M2) AND TSEREBRAL IN EXPERIMENTAL ACUTE HEMORRHAGIC STROKE

Makarenko A.N., Kovtun A.M., Vasilieva I.

Key words: mitohondryn, tserebral, acute hemorrhagic stroke.

The study described was aimed to evaluate pharmacological efficacy of mitohondryn and tserebral in experimental acute hemorrhagic stroke. The drugs were repeatedly administrated to 40 mature white Wistar male rats exposed to acute hemorrhagic stroke (HS). The results and their in-depth analysis suggest that the pharmacological action of the medicines demonstrates varying intensity on certain types of glyocytes in sensori-motor cerebrocortex in modelled acute hemorrhagic stroke.

УДК 618.11/.14-053.1-091.8

**Марковський В. Д., Купріянова Л. С.**

## ГІСТОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ БУДОВИ ЖІНОЧИХ СТАТЕВИХ ОРГАНІВ ПЛОДІВ З ОЗНАКАМИ ЗАТРИМКИ ВНУТРІШНЬОУТРОБНОГО РОЗВИТКУ

Харківський національний медичний університет МОЗ України<sup>1</sup>

Харківський національний університет внутрішніх справ МВС України

*В ході проведеного гістологічного дослідження встановлено, що в яєчниках плодів із ознаками ЗВРП в фолікулярному компоненті органу переважають примордіальні фолікули, що гинуть; статеві клітини переважно з явищами дегенерації; в інтерстиціальному компоненті має місце масивне розростання сполучної тканини. У матці і маткових трубах плодів групи порівняння відзначаються односпрямовані зміни у вигляді масивного розростання сполучної тканини в основних компонентах органу, а також порушення формування слизової оболонки стінки органу. У жіночих статевих органах плодів з ЗВРП порівняно з такими в групі контрольних спостережень мають місце ознаки хронічного запалення. Порушення закладки і формування основних структурних компонентів жіночих статевих органів плодів із ознаками ЗВРП в подальшому можуть призвести до розвитку функціональної недостатності цих органів, що сприятиме формуванню синдрому передчасного виснаження яєчників, а також первинного безпліддя.*

Ключові слова: плід, яєчник, матка, маткові труби, синдром затримки внутрішньоутробного розвитку плоду.

*Дослідження є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи кафедри патологічної анатомії Харківського національного медичного університету МОЗ України «Патологічна анатомія окремих систем плода та новонародженого від матерів з ускладненою вагітністю» (номер державної реєстрації 0105U002760), яка входить в координаційний план пріоритетних напрямків, затверджений Міністерством охорони здоров'я України.*

### Вступ

На сучасному етапі становлення і розвитку медицини пріоритетною галуззю охорони здоров'я є охорона материнства і дитинства, куди входять: підвищення рівня народжуваності, поліпшення якості репродуктивного здоров'я, відповідність рівня

неонатальної допомоги сучасному [1]. Незважаючи на численні дослідження в даному напрямку, показник народження дітей з ознаками затримки внутрішньоутробного розвитку (ЗВРП) плоду як і раніше залишається високим [2]. У зв'язку з чим все частіше піднімається питання про вдосконалення охорони репродуктивної системи в більш ранні періоди