

**ВПЛИВ КОРЕКТОРА БІЛКОВОГО ОБМІНУ  
ЕКСТРАКТУ З ТРАВИ ЛЮЦЕРНИ ПОСІВНОЇ НА  
ГІСТОСТРУКТУРУ ТА ФУНКЦІЇ ОРГАНІВ ІМУННОЇ  
СИСТЕМИ ЩУРІВ В УМОВАХ  
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ІМУНОДЕФІЦИТУ**

**Р.Ф.Єрьюменко**

*Національний фармацевтичний університет (Харків)*

**Вступ**

Об'єктом наших досліджень є коректор білкового обміну екстракт з трави люцерни посівної (ЕТЛП), який містить білки, 17 амінокислот, у тому числі 8 незамінних, 8 ферментів, що розчіплюють білки та сприяють їх засвоєнню, зокрема - бетаїн; дубильні речовини, сапоніни, кумарини, фітоестрогени, вітаміни А, Д, В1, В12, С, Е, К; мікро- та макроелементи; хлорофіл; ізофлавоноїди генистеїн, дайдзеїн, куместрол; флавоноїди апігенін, лютеолін, кверцетин, рутин та інші [6]. Такий склад біологічно активних речовин ЕТЛП забезпечує його здатність індукувати синтез білка в організмі здорових тварин та на фоні гіпопротеїнемії [2,3], мембраностабілізуючі та цитопротекторні властивості [4].

Зважаючи на вищенаведене та на життєвоважливу роль білкового обміну в забезпеченні нормального функціонування імунної системи [9-11] доцільно було дослідити вплив нового препарату в порівнянні з використанням в Україні імуностимулятора рослинного походження "Ехінацея-ратіофарм" на функціональний стан таких органів імунної системи, як тимус, селезінку та печінку в умовах циклофосфанового імунодефіциту у щурів [1]. Адже відомо, що тимус належить до центральних залоз імунного захисту, в якому відбувається диференціація Т-лімфоцитів; в селезінці, яка є паренхіматозним органом, відбувається розмноження і антигензалежна диференціація лімфоцитів та утворення антитіл [9], а в печінці відбувається синтез специфічних білків глобулінів, в тому числі  $\gamma$ -глобулінів: фракції імуно-

лобулінів IgA, IgG, IgE, IgM, що виконують функцію антитіл, основних ефекторів гуморального імунітету [9-11].

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Робота виконана у рамках науково-дослідної програми Національного фармацевтичного університету "Фармакологічні дослідження біологічно активних речовин і лікарських засобів синтетичного та природного походження, їх застосування у медичній практиці" (№ держреєстрації 0103U000478).

**Мета роботи** - гістологічне дослідження впливу коректора білкового обміну ЕТЛП в порівнянні з широко використовуваним в медицині імуностимулюючим препаратом рослинного походження - таблетками "Ехінацея-ратіофарм" (ФФ TEVA, Ізраїль) на морфоструктуру та функції імунокомпетентних органів тимусу, селезінки та печінки щурів в умовах циклофосфанового імунодефіциту.

**Матеріали та методи дослідження**

Для проведення гістоморфологічного дослідження імунокомпетентних органів тимусу, селезінки та печінки тварин в умовах циклофосфанового імунодефіциту використовували 32 білих статевозрілих безпородних щура, яких були рандомізовано таким чином:

Умови досліджу	Доза, мг/кг	Кількість тварин
<b>Інтактний контроль (ІК)</b>	-	8
<b>Контрольна патологія (КП) - Циклофосфан</b>	10 мг/кг	8
<b>ЕТЛП</b>	25 мг/кг	8
<b>«Ехінацея-ратіофарм»</b>	36 мг/кг	8

Тварин утримували на стандартному харчовому раціоні віварію ЦНДЛ НФаУ, відповідно до встановлених норм [1,5]. Дослідження проведені з дотриманням гуманного поводження з тваринами у відповідності до правил "Європейської конвенції з захисту хребетних тварин, яких використовують в експерименті та інших наукових цілях" (м. Стразбург, 1986) [1].

Як референс-препарат обрано таблетки "Ехінацея-ратіофарм" (ФФ TEVA, Ізраїль), які є дозволені в Україні засобом рослинного походження та застосовується у клініці як імуномодулятор та імуностимулятор. Доза препарату "Ехінацея-ратіофарм" - 36

мг/кг - визначена в процесі перерахунку з добової дози для людини на добову дозу для щура за методом Риболовлева Ю.Р. [8].

Після рандомізації тваринам внутрішньошлунково вводили ЕТЛП в дозах 25 мг/кг й препарат порівняння "Ехінацея-ратіофарм" в дозі 36 мг/кг протягом двох тижнів. Далі, з метою відтворення імунодефіциту тваринам дослідних груп на тлі введення препаратів і групи КП протягом тижня вводили внутрішньом'язово циклофосфан в дозі 10 мг/кг. Групі ІК в цей період внутрішньошлунково вводили еквівалентну кількість розчинника. По закінченні тварин виводили з експерименту за допомогою наркотизації етаміналом натрію. Витягали тимус, селезінку та печінку і брали зразки тканини для виготовлення зрізів для мікроскопії. Зразки органів щурів всіх груп готували для подальшого світлооптичного дослідження за прийнятими у морфології методами (гістологічні дослідження проводилися на базі ЦНДЛ НФаУ к.б.н. Лар'яновською Ю.Б.). Мікротомовані зрізи товщиною 3-4 мкм фарбували гематоксиліном та еозином [7]. На зрізах печінки проводили ШИК-реакцію для виявлення глікогену, а також робили зрізи зразків печінки на мікротомі, що заморожує, з подальшим фарбуванням суданом IV для виявлення ліпідів [7]. Перегляд мікропрепаратів проводили під мікроскопом Mikros 400, мікрофотографування мікроскопічних зображень здійснювали цифровим фотоапаратом Nicon Cool Pix 4500. Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 2,4GHz за допомогою програми Nicon View 5. Результати надані в рисунках 1-10.

#### Отримані результати та їх обговорення

Аналіз результатів дослідження (рис. 1-10) свідчить про те, що превентивно-лікувальне введення щурам з циклофосфаном імунодефіцитом ЕТЛП у дозі 25 мг/кг та референс-препарату "Ехінацея-ратіофарм" в дозі 36 мг/кг за рахунок імуностимулюючої дії приводить до відновлення гістоструктури та функціональної активності основних органів імунної системи - тимусу, селезінки та печінки.

В процесі оглядової мікроскопії встановлено, що тимус тварин групи ІК мав нормальну будову (рис.1-а). В порівнянні з ним тимус щурів групи КП під впливом імунодепресанта цик-

лофосфану зазнав руйнівних змін (рис. 1б-г), які оцінюються як 4-5 фаза акцидентальної трансформації і свідчать про пригнічення лімфопоезу та секреторної функції тимічного ретикулоепітелію, що призводить до втрати функціональної активності як тимусу, так і імунної системи взагалі. Так, під впливом циклофосфану в групі тварин КП (рис. 1б-г) спостерігали, що часточки залози значно зменшені у розмірі, частково заміщені жировою тканиною, у деяких тварин більшість часточок мала вигляд тяжів, міжчасточкові перегородки сполучнотканинної капсули потовщені, місцями в них видна жирова тканина (рис. 1-б). Внаслідок втрати лімфоцитів в органі у кірковій і мозковій речовині відсутній розподіл тканини на шари, виразно зменшено щільність розташування лімфоцитів, визначаються ділянки повного спустошення субкортикальної зони кори (рис. 1-в). Під впливом циклофосфану зростала чисельність тимічних тілець, які кистозоподібно розширені, містили у просвіті білковий секрет та ядерний детрит. Помічені **новодикі тяжі епітеліоретикулярних клітин**, які незамасковані лімфоцитами. Ядра клітин овальні, світлі (рис. 1-г).

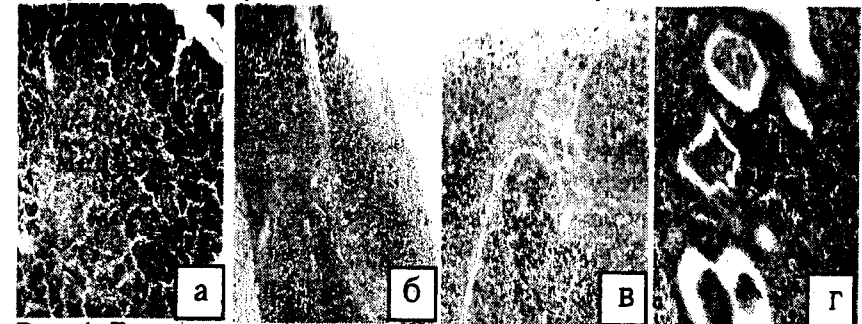


Рис. 1. Тимус щурів: а - групи ІК (нормальний розподіл часточки на кірковий та мозковий шар, достатня щільність розташування лімфоцитів); б, в, г - групи КП (б - зменшення об'єму залозистої тканини, відсутність поділу на кору та медулу, розширення міжчасточкових сполучнотканинних прошарків та капсули; в - виразне зменшення щільності розташування лімфоцитів; г - кистозоподібні тимічні тільця. Гематоксилін-еозин. а-в х100, г х200.

Превентивно-лікувальне введення ЕТЛП в дозі 25 мг/кг значно до рівня 3-4 фази акцидентальної трансформації покра-

щувало в порівнянні з групою КП гістоструктуру та функціональний стан тимусу (рис. 2 а-в). В порівнянні з тваринами групи КП у щурів під впливом ЕТЛП збільшується об'єм залозистої тканини у часточках, хоча розмір часточок зменшений, відбувається потовщення сполучнотканинних перегородок та капсули, збільшення жирової тканини (рис. 2-а). Реактивні зміни коливалися від розрідження лімфоцитів у корі до інверсії (переворот шарів - мозкова речовина багатша на лімфоцити ніж кіркова) (рис. 2-б). Стан нерозбірливості шарів відносно рідкий, відсутні кистозоподібні тимічні тільця (рис. 2-в).

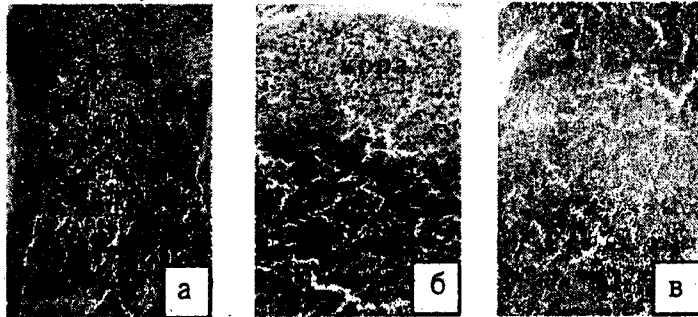


Рис. 2. Тимус щурів під впливом ЕТЛП в дозі 25 мг/кг на тлі циклофосфанового імунодефіциту: а - доволі помірне зменшення щільності розташування лімфоцитів у корі; б - інверсія шарів; в - відсутність розподілу залозистої тканини на шари. Гематоксилін-еозин.  $\times 100$ .

Превентивно-лікувальне введення щурам в умовах циклофосфанового імунодефіциту препарату "Ехінацея-ратіофарм" в дозі 36 мг/кг викликало позитивні відносно групи КП зміни в гістоструктурі тимусу на рівні близько 4 фази акцидентальної трансформації (рис. 3а-в), за вираженістю яких препарат порівняння поступається ЕТЛП. Так, розмір часточок зменшено, капсула та перегородки потовщені, відмічено різне за виразністю заміщення залозистої тканини жировою. Відзначали деяке коливання реактивних фазових змін у стані залози. Спостерігали зменшення щільності розташування лімфоцитів (рис. 3-а), інверсію шарів (рис. 3-б), нерозбірливість шарів, появу великих тимічних тілець, які містили ядерний детрит або білковий секрет та кистозоподібні тимічні тільця (рис. 3-в).

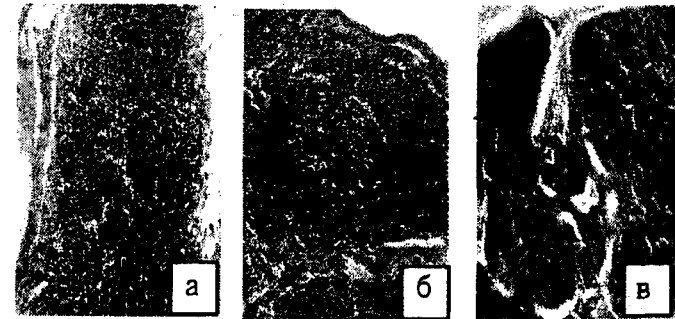


Рис. 3. Тимус під впливом препарату "Ехінацея-ратіофарм" в дозі 36 мг/кг на тлі циклофосфанового імунодефіциту: а - зменшення щільності розташування лімфоцитів кори та медули, нерозбірливість шарів; б - інверсія шарів; в - кистозоподібні тимічні тільця. Гематоксилін-еозин.  $\times 100$ .

В процесі мікроскопічного дослідження зрізів селезінки дослідних щурів встановлено, що гістоструктура та функціональна активність селезінки щурів групи ІК відповідає фізіологічній нормі (рис. 4-а). В групі тварин КП імунодепресант циклофосфан викликає негативні зміни гістоструктури та функціональної активності селезінки: гіпоплазію білої пульпи, значне зниження кількості та розміру лімфатичних вузликів (рис. 4-б). Останні погано розрізнялися, в них відзначається виразне розрідження періартеріальних зон, повна відсутність маргінальних зон, внаслідок чого межа між білою та червоною пульпою стиралася, гермінативні центри вузликів погано помітні, у червоній пульпі помітно зменшена кількість ядерних форм клітин, серед них практично відсутні мегакаріюцити, зменшена кількість макрофагів (рис. 4-б).

ЕТЛП в дозі 25 мг/кг в умовах циклофосфанового імунодефіциту відновлював у тварин гістоструктуру та функціональну активність селезінки (рис. 5 а-в) за рахунок зменшення гіпоплазії білої пульпи, зростання кількості та розміру сформованих лімфатичних вузликів майже до інтактного рівня, збільшення маргінальної В-зони у вузликах та муфтах, значного розширення гермінативних центрів, формування чіткої межі між білою та червоною пульпою, зростання щільності лімфоцитів у періартеріальних Т-зонах, що відбилося візуалізацією скупчення лімфоцитів (рис. 5 в), з яких у подальшому можуть формуватися нові вузлики. (рис. 5 а-в).

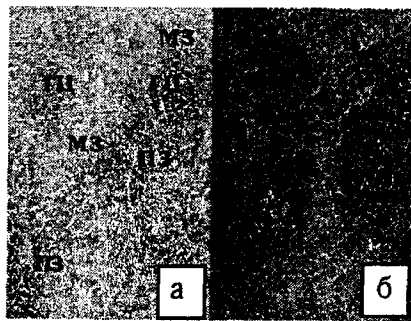


Рис. 4. Селезінка шурів: а - групи ІК (нормальний стан білої пульпи, виразність маргінальної зони (мз), щільність розташування лімфоцитів у периартеріальній зоні (пз) лімфатичного вузлика та лімфатичної муфти достатні, гермінативний центр (гц) не активований); б - групи КП (лімфатичні вузлики значно зменшені за розміром, в них відсутня маргінальна зона, периартеріальна зона розріджена). Гематоксилін-еозин.  $\times 100$ .

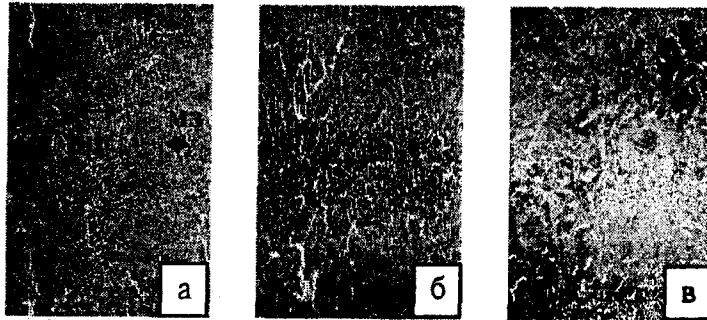


Рис. 5. Селезінка під впливом ЕТЛП в дозі 25 мг/кг на тлі циклофосфанового імунодефіциту: а - стан маргінальної (мз), периартеріальної (пз) та гермінативного центру (гц) наближено до норми; б - у лімфатичному вузлику звужена маргінальна зона (мз); в - скупчення лімфоцитів у червоній пульпі. Гематоксилін-еозин.  $\times 100$ .

Препарат порівняння "Ехінацея-ратіофарм" в дозі 36 мг/кг за рівнем відновлення гістоструктури та функціональної активності селезінки в умовах циклофосфанового імунодефіциту дещо поступався новому препарату ЕТЛП в дозі 25 мг/кг (рис. 6 а-в). Також відзначається зменшення ознак гіпоплазії білої пульпи, але у периартеріальній Т-зоні підвищена щільність розташування лімфоцитів, але лише деякі гермінативні центри активовані (рис. 6-а), у лімфатичних вузликах видна різна за шириною (у різних тварин) маргінальна В-зона (рис. 6-б), у червоній пульпі лише у деяких тварин спостерігаються передумови формування нових вузликів - скупчення лімфоцитів (рис. 6-в).

За результатами оглядової мікроскопії печінки шурів групи ІК установлено, що її гістоструктура та функціональна активність знаходиться в межах фізіологічної норми (рис. 7).

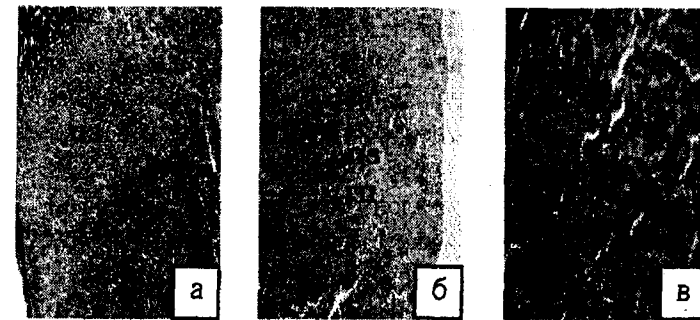


Рис. 6. Селезінка шура під впливом препарату "Ехінацея-ратіофарм" в дозі 36 мг/кг на тлі циклофосфанового імунодефіциту: а - достатній розмір маргінальної зони (мз), щільна периартеріальна зона (пз); б - маргінальна зона (мз) звужена; в - скупчення лімфоцитів у червоній пульпі. Гематоксилін-еозин.  $\times 100$ .

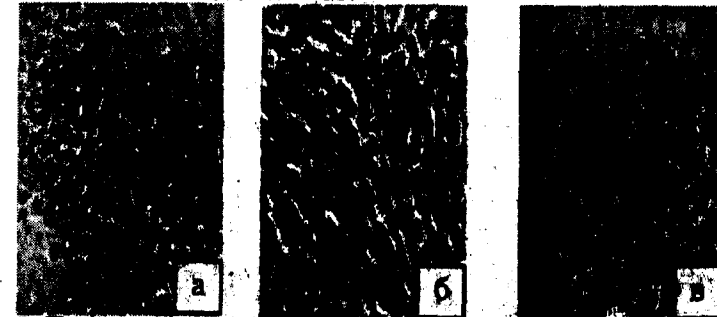


Рис. 7. Печінка шурів групи ІК: а - нормальний стан гепатоцитів; б - нормальний вміст глікогену (ШЖ-реакція); в - відсутність жирових включень у цитоплазмі гепатоцитів (заморожений аріа, судан). Гематоксилін-еозин. а  $\times 100$ , б, в  $\times 200$ .

Введення імунодепресанта та цитостатика циклофосфану тваринам групи КП призводило до пошкодження гістоструктури та пригнічення функціональної активності печінки, яке проявилось пошкодженням мембран гепатоцитів та їх структури, білковою та жировою дистрофією та тощо (рис. 8 а-е). Так, спостерігали розсіяний уніцелюлярний (одноклітинний) некроз гепатоцитів. Більшість клітин знаходилася у стані білкової дистрофії (рис. 8-а). Цитоплазма клітин "оптично пуста", залишки гіпоєозинофільної зернистої цитоплазми часто розташовані біля ядра, контури мембран виразні, самі клітини збільшені за розміром. Часто відзначається тьмяна та виразна

мг/кг - визначена в процесі перерахунку з добової дози для людини на добову дозу для щура за методом Риболовлева Ю.Р. [8].

Після рандомізації тваринам внутрішньошлунково вводили ЕТЛП в дозах 25 мг/кг й препарат порівняння "Ехінацея-ратіофарм" в дозі 36 мг/кг протягом двох тижнів. Далі, з метою відтворення імунодефіциту тваринам дослідних груп на тлі введення препаратів і групи КП протягом тижня вводили внутрішньом'язово циклофосфан в дозі 10 мг/кг. Групі ІК в цей період внутрішньошлунково вводили еквівалентну кількість розчинника. По закінченні тварин виводили з експерименту за допомогою наркотизації етаміналом натрію. Витягали тимус, селезінку та печінку і брали зразки тканини для виготовлення зрізів для мікроскопії. Зразки органів щурів всіх груп готували для подальшого світлооптичного дослідження за прийнятими у морфології методами (гістологічні дослідження проводилися на базі ЦНДЛ НФаУ к.б.н. Лар'яновською Ю.Б.). Мікротомовані зрізи товщиною 3-4 мкм фарбували гематоксилином та еозином [7]. На зрізах печінки проводили ШИК-реакцію для виявлення глікогену, а також робили зрізи зразків печінки на мікротомі, що заморожує, з подальшим фарбуванням суданом IV для виявлення ліпідів [7]. Перегляд мікропрепаратів проводили під мікроскопом Mikros 400, мікрофотографування мікроскопічних зображень здійснювали цифровим фотоапаратом Nikon Cool Pix 4500. Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 2,4GHz за допомогою програми Nikon View 5. Результати надані в рисунках 1-10.

#### Отримані результати та їх обговорення

Аналіз результатів дослідження (рис. 1-10) свідчить про те, що превентивно-лікувальне введення щурам з циклофосфановим імунодефіцитом ЕТЛП у дозі 25 мг/кг та референс-препарату "Ехінацея-ратіофарм" в дозі 36 мг/кг за рахунок імуностимулюючої дії приводить до відновлення гістоструктури та функціональної активності основних органів імунної системи - тимусу, селезінки та печінки.

В процесі оглядової мікроскопії встановлено, що тимус тварин групи ІК мав нормальну будову (рис.1-а). В порівнянні з ним тимус щурів групи КП під впливом імунодепресанта цик-

лофосфану зазнав руйнівних змін (рис. 1б-г), які оцінюються як 4-5 фаза акцидентальної трансформації і свідчать про пригнічення лімфопоєзу та секреторної функції тимічного ретикулоепітелію, що призводить до втрати функціональної активності як тимусу, так і імунної системи взагалі. Так, під впливом циклофосфану в групі тварин КП (рис. 1б-г) спостерігали, що часточки залози значно зменшені у розмірі, частково заміщені жировою тканиною, у деяких тварин більшість часточок мала вигляд тяжів, міжчасточкові перегородки сполучнотканинної капсули потовщені, місцями в них видна жирова тканина (рис. 1-б). Внаслідок втрати лімфоцитів в органі у кірковій і мозковій речовині відсутній розподіл тканини на шари, виразно зменшено щільність розташування лімфоцитів, визначаються ділянки повного спустошення субкортикальної зони кори (рис. 1-в). Під впливом циклофосфану зростала чисельність тимічних тілець, які кистозоподібно розширені, містилися у просвіті білковий секрет та ядерний детрит. Помічені невеликі тяжі епітеліоретикулярних клітин, які незамасковані лімфоцитами. Ядра клітин овальні, світлі (рис. 1-г).

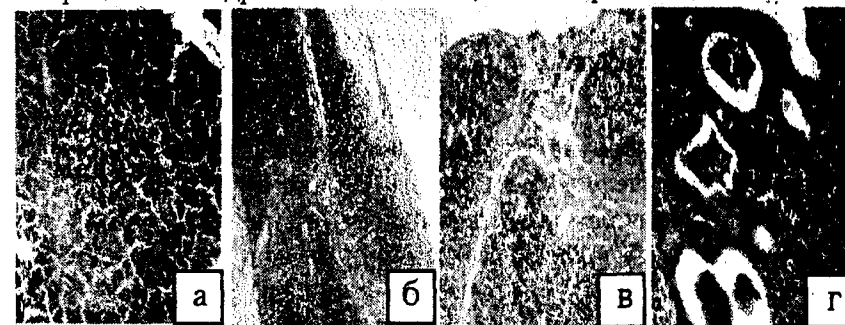


Рис. 1. Тимус щурів: а - групи ІК (нормальний розподіл часточки на кірковий та мозковий шар, достатня щільність розташування лімфоцитів); б, в, г - групи КП (б - зменшення об'єму залозистої тканини, відсутність поділу на кору та медулу, розширення міжчасточкових сполучнотканинних прошарків та капсули; в - виразне зменшення щільності розташування лімфоцитів; г - кистозоподібні тимічні тільця. Гематоксилін-еозин. а-в х100, г х200.

Превентивно-лікувальне введення ЕТЛП в дозі 25 мг/кг значно до рівня 3-4 фази акцидентальної трансформації покра-

мономорфність ядер, збільшена кількість без'ядерних клітин (рис. 8-а). У поодиноких гепатоцитах відмічені ядра надзвичайної форми з ізрізаною ядерною мембраною (рис. 8-б). У всіх відділах часточок зменшена кількість двоядерних гепатоцитів, місцями виявлені дрібні ділянки цитолізу. Поряд з білковою дистрофією спостерігали дрібновезикулярну та пілоподібну жирову дистрофію (рис. 8-в). Відзначали зниження вмісту глікогену гепатоцитах (рис. 8-г). У деяких тварин навколо некротизованих гепатоцитів та навколо кровоносних судин (і у триадах включно) спостерігали поодинокі дрібні лімфоцитарно-макрофагальні інфільтрати (рис. 8-д). У просвіті кровоносних судин не рідко крайове розташування клітин крові (рис. 8-е). Місцями видні дуже дрібні осередки екстрамедулярного кровотворення, зоряні ретикулоендотеліоцити (клітини Купфера) часто виразно гіпертрофовані (рис. 8 д-е).

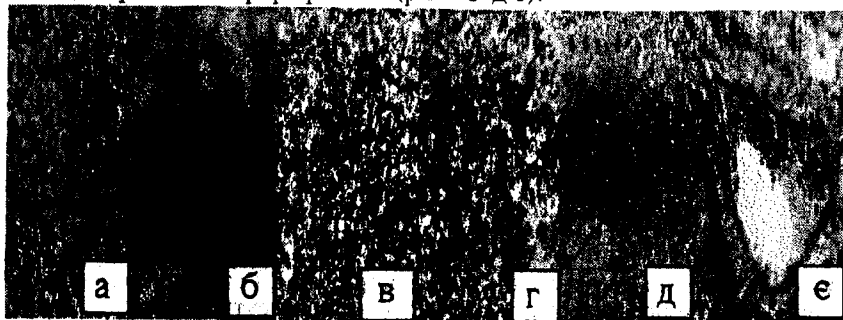


Рис. 8. Печінка щурів групи КП: а - білкова дистрофія клітин, виражена тьмяністю та мономорфністю ядер гепатоцитів; б - ізрізаність ядерної мембрани гепатоцита (б, імерсія); в - пілоподібна жирова дистрофія гепатоцитів (заморожений зріз, судан); г - зменшення вмісту глікогену у цитоплазмі клітин (ШПК-реакція); д - дрібна лімфоцитарно-макрофагальна інфільтрація навколо некротизованих гепатоцитів; е - крайове розташування клітин крові у просвіті кровоносної судини. Збільшення а-г х200, д-е - х250, гематоксилін-еозин.

Новий препарат ЕТЛП в дозі 25 мг/кг при превентивно-лікувальному введенні щурам з імунодефіцитом за рахунок корекції білкового обміну, мембраностабілізуючих та цитопротекторних властивостей сприяв відновленню гістоструктури та функціональної активності печінки (рис. 9 а-е). Так, спостерігали у більшості тварин зниження ознак білкової дистрофії (рис. 9 а,б). Ядра гепатоцитів характеризувалися

збільшенням в порівнянні з групою КП анізонуклеозу, чіткою структурою, навіть і при ознаках дистрофії (рис. 9-в). Інколи спостерігали дрібні інфільтрати лімфоцитів та макрофагів (рис. 9-г). Відзначали відносно групи КП значне зменшення кількості пілоподібних ліпідів (рис. 9-д), збільшення кількості двоядерних гепатоцитів, вмісту глікогену в цитоплазмі (рис. 9-е).

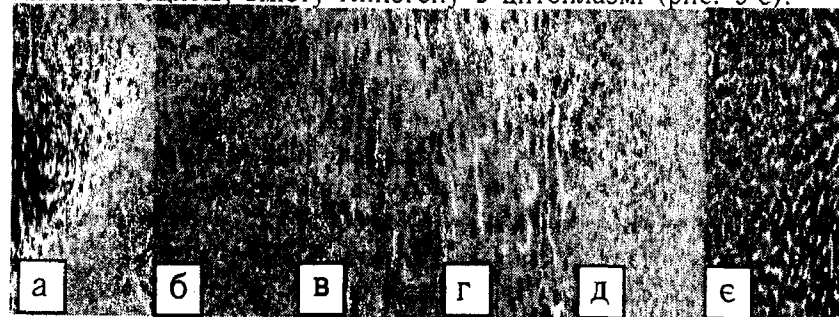


Рис. 9. Печінка щурів під впливом ЕТЛП в дозі 25 мг/кг на тлі циклофосфанового імунодефіциту: а,б - зменшення ознак білкової дистрофії; в - помітний анізонуклеоз, більш чітка структура ядер гепатоцитів; г - дрібний клітинний інфільтрат; д - пілоподібне відкладення ліпідів у цитоплазмі деяких гепатоцитів (заморожений зріз, судан); е - достатній вміст глікогену у цитоплазмі клітин (ШПК-реакція). а-г - гематоксилін-еозин. х250; д,е х200.

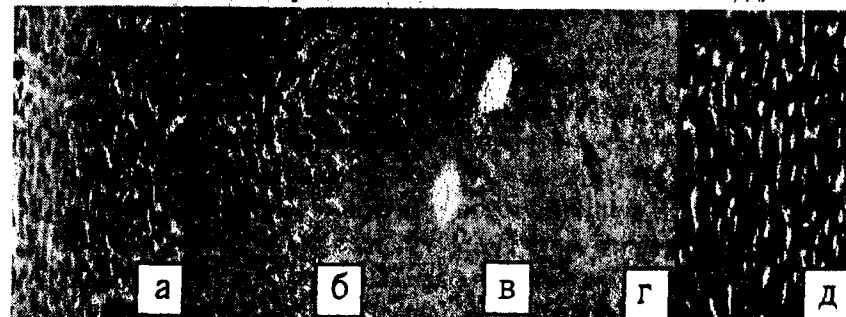


Рис. 10. Печінка щурів під впливом препарату "Ехінацея-ратіофарм" в дозі 36 мг/кг на тлі циклофосфанового імунодефіциту: а,б - зменшення ознак білкової дистрофії; в - відсутність ліпідів; г - пілоподібне відкладення ліпідів у цитоплазмі клітин (заморожений зріз, судан); д - достатній вміст глікогену у цитоплазмі клітин (ШПК-реакція). А,б- Гематоксилін-еозин. х200.

Аналогічний ЕТЛП позитивний вплив на печінку щурів з циклофосфановим імунодефіцитом чинив і препарат порівняння "Ехінацея-ратіофарм" при превентивно-лікувальному введенні в дозі 36 мг/кг (рис. 10 а-д). Референс-препарат сприяв зни-



женню білкової дистрофії (рис. 10 а-б), та ознак жирової дистрофії, бо ліпідні включення носили пілоподібний характер (рис. 10-в), відновленню чіткості структури ядер гепатоцитів, збільшенню вмісту глікогену (рис. 10-д).

### Висновки

1. Встановлено, що циклофосфан за рахунок цитостатичної дії та пригнічення синтезу білка чинить імунодепресивний вплив на організм тварин, що віддзеркалюється в пошкодженні гістоструктури та функціональної активності органів імунної системи, викликаючи атрофічні зміни за типом 4-5 фази акцидентальної трансформації в тимусі, виражену гіпоплазію білої пульпи селезінки, в печінці - пошкодження гістоструктури гепатоцитів та білкову дистрофію, яка може відбитися пригніченням синтезу імуноглобулінів.

2. Превентивно-лікувальне введення ЕТЛП в дозі 25 мг/кг та препарату порівняння "Ехінацея-ратіофарм" в дозі 36 мг/кг щурам на тлі циклофосфанового імунодефіциту приводить до відновлення діяльності центрального органу імуногенезу - тимусу, що свідчить про їх імуностимулюючу дію. За вираженістю відновлювальної у відношенні гістоструктури та функцій тимусу дії ЕТЛП має перевагу над референс-препаратом "Ехінацея-ратіофарм".

3. Встановлено відновлювальний вплив превентивно-лікувального введення ЕТЛП в дозі 25 мг/кг та препарату порівняння "Ехінацея-ратіофарм" в дозі 36 мг/кг щурам з циклофосфановим імунодефіцитом на гістоструктуру паренхіматозного органу імуногенезу - селезінку. При чому, препарат порівняння "Ехінацея-ратіофарм" за рівнем відновлення гістоструктури та функціональної активності селезінки в умовах циклофосфанового імунодефіциту дещо поступався ЕТЛП.

4. Превентивно-лікувальне введення щурам на тлі циклофосфанового імунодефіциту ЕТЛП в дозі 25 мг/кг та препарату порівняння "Ехінацея-ратіофарм" в дозі 36 мг/кг на одному рівні сприяло відновленню гістоструктури та функціональної активності печінки. Слід відмітити їх здатність підвищувати рівень білка в печінці, що може відновити синтез та функції імуноглобулінів, що позитивно відіб'ється на діяльності імунної системи.

5. Проведені дослідження дозволяють зробити висновок про те, що механізмом імуностимулюючої та органопротекторної дії ЕТЛП є здатність відновлювати рівень білка в організмі, відповідно

чинити мембраностабілізуювальні та цитопротекторні властивості. Таку здатність нового препарату обумовлює склад БАР, що міститься в ЕТЛП, а саме: білки, 17 амінокислот, у тому числі 8 незамінних, 8 ферментів, дубильні речовини, сапоніни, кумарини, фітоестрогени, вітаміни, мікро- та макроелементи ізофлавоноїди та флавоноїди, органічні кислоти та тощо.

6. Зважаючи на вищевикладене коректор білкового обміну ЕТЛП є перспективним для подальшого вивчення з метою створення лікарського засобу для профілактики та лікування гіпопротеїнемічних станів, що супроводжуються імунодепресією.

### Література

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рек. / за ред. чл.-кор. АМН України О.В. Стефанова. - Київ: Авіцена, 2001. - 528 с.

2. Єрьоменко Р.Ф. Вивчення впливу екстрактів з трави люцерни посівної та сої щитиністої на білковий обмін в організмі здорових щурів / Р.Ф.Єрьоменко // Запорозький медичний журнал. - 2011. - Т.13, № 4. - С. 20-22.

3. Єрьоменко Р.Ф. Визначення впливу екстракту з трави люцерни посівної на білковий обмін в системі крові в умовах доксорубіцинової гіпопротеїнемії / Р.Ф.Єрьоменко // Медична хімія. - 2012. - Т.14, № 1. - С. 100-103.

4. Єрьоменко, Р. Ф. Дослідження впливу екстракту з трави люцерни посівної на стан мембранних білків та мембран в умовах гемолізу еритроцитів / Р. Ф. Єрьоменко // Український біофармацевтичний журнал. - 2011. - № 6. - С. 22-26.

5. Западнюк М.П. Лабораторные животные. Использование в эксперименте / М.П.Западнюк, В.И. Западнюк, Е.А. Захария. - Киев: Высшая школа, 1983.- 382 с.

6. Ковальов С.В. Дослідження фенольного комплексу із трави люцерни посівної / С.В.Ковальов, А.М.Ковальова, Р.Ф.Єрьоменко, Л.М.Малоштан, В.М. Ковальов // Фармацевтичний часопис. - 2008. - № 2 (6). - С. 27 - 30.

7. Меркулов Г. А. Курс патологистологической техники / Г. А.Меркулов. - М.: Медицина, Ленингр. Отд-ние, 1969. - 424 с.

8. Рыболовлев Ю.Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности / Ю.Р. Рыболовлев, Р.С. Рыболовлев // Доклады АН СССР. - 1979. - Т. 241, № 6. - С. 1513-1516.

9. Хаитов Р.М. Иммунология / Р.М. Хаитов, Г.Л.Игнатьева, И.Г.Сидорович. - М.: Медицина, 2000. - 432 с.

10. Briggs C. Alfalfa / C. Briggs // Canadian Pharm J. - 1994. - V.84, № 5. - P.115-120.

11. Cooper M.A. The biology of human natural killer-cell subsets / M.A. Cooper, T.A. Fehniger, M.A. Caligiuri // Trends Immunol. - 2001. - Vol.22. - P.633-640.

#### Резюме

**Ермоменко Р.Ф.** Вплив коректора білкового обміну екстракту з трави люцерни посівної на гістоструктуру та функції органів імунної системи щурів в умовах експериментального імунodefіциту.

Результати дослідження свідчать про те, що в умовах експериментального циклофосфанового імунodefіциту ЕТЛП в дозі 25 мг/кг при превентивно-лікувальному введенні за рахунок корекції білкового обміну, стабілізації мембран, цитопротекторної та органопротекторної дії, які обумовлюють БАР, що входять до його складу, чинить імуностимулюючу дію та відновлює гістоструктуру та функціональний стан основних органів імунної системи тимусу, селезінки та печінки.

**Ключові слова:** імунітет, імунодепресія, тимус, селезінка, печінка, гістоструктура, коректор білкового обміну екстракт люцерни.

#### Резюме

**Еременко Р.Ф.** Влияние корректора белкового обмена экстракта травы люцерны посевной на гистоструктуру и функции органов иммунной системы крыс в условиях экспериментального иммунодефицита.

Результаты исследования свидетельствуют о том, что в условиях экспериментального циклофосфанового иммунодефицита ЭТЛП в дозе 25 мг/кг при превентивно-лечебном введении за счет коррекции белкового обмена, стабилизации мембран, цитопротекторной и органопротекторной активности, обусловленными БАВ, входящие в его состав, оказывает иммуностимулирующее действие и восстанавливает гистоструктуру и функциональное состояние основных органов иммунной системы тимуса, селезенки и печени.

**Ключевые слова:** иммунитет, иммунодепрессия, тимус, селезенка, печень, гистоструктура, корректор белкового обмена, экстракт люцерны.

#### Summary

**Yeromenko R.F.** Influence of protein metabolism corrector of extract *Medicago sativa* sowing grass on histostructure and functions of the immune system of rats in experimental immunodeficiency.

The results of the study indicate that in experimental cyclophosphamide immunodeficiency EMSG in dose of 25 mg per kg in preventive and therapeutic administration due to the correction of protein metabolism, membrane stabilization, cytoprotective and organoprotective activity, caused by BAS, included in it (within its composition), has immunostimulatory effects and restores histostructure and functional state of the principal organs of the immune system of the thymus, spleen and liver.

**Key words:** immunity, immunosuppression, thymus, spleen, liver, histostructure, corrector of protein metabolism, the extract *Medicago sativa* sowing grass.

**Рецензент:** д.біол.н., проф. Б.П.Романюк

## ДИФЕРЕНЦІЙНИЙ ПОТЕНЦІАЛ ОТРИМАНИХ ЗА ДОПОМОГОЮ СИСТЕМИ ТРАНСПОЗОНІВ ІНДУКОВАНИХ ПЛЮРІПОТЕНТНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН МИШІ

**С.В.Малишева, Н.М.Білько, Д.І.Білько, Т.Сарич**

Центр молекулярних і клітинних досліджень Національного університету "Киево-Могилянська академія"  
Інститут нейрофізіології Кельнського університету  
(Кельн, Німеччина)

#### Вступ

Ембріональні стовбурові клітини є плюріпотентними - здатні формувати усі клітинні типи організму. Їх терапевтичний ефект вивчений і доведений [6]. Однак широкого клінічного застосування вони так і не набули через імунологічні та етичні аспекти їх отримання. У 2007 році вдалося отримати клітини, що нагадували за ключовими характеристиками ЕСК [13]. Такі отримати завдяки репрограмуванню диференційованих соматичних клітин шляхом індукції плюріпотентності ключовими факторами. Отримані у такий спосіб клітини названо індуктованими плюріпотентними стовбуровими клітинами (іПСК). І з того часу іПСК стали генерувати у різний спосіб - із використанням як вірусних [1, 5, 14] і невірусних векторів [9, 11, 15] для доставки факторів плюріпотентності. Генерування іПСК за допомогою системи транспозонів - принципово новий підхід, що має ряд переваг [12]. Щоб отримати статус нової лінії іПСК, клітинна лінія має відповідати ряду характеристик. Експресія факторів плюріпотентності у недиференційованому стані характеризує проліферативний потенціал клітинної, "стовбуровість" її клітин. Проте оцінку функціональних характеристик отриманої лінії можна лише при диференціюванні. За відсутності фактора, що підтримують плюріпотентному стані (LIF для культури плюріпотентних клітин миші, bFGF для культури плюріпотентних стовбурових клітин людини), у культурі in