

УДК 616.8-022:616.831

*I.I. Торяник,**В.В. Колесник*

ДУ "Інститут нейрохірургії імені А. П. Ромоданова НАМН України", м. Київ

ДУ "Інститут мікробіології та імунології імені І. І. Мечникова НАМН України", м. Харків

## ПАТОФІЗІОЛОГІЧНА ОЦІНКА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ІШЕМІЧНОГО ЕМБОЛІЧНОГО ІНСУЛЬТУ: ПІДСУМКИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

**Ключові слова:** патофізіологічна оцінка, поведінкові тести (водний лабіринт Морріса), патоморфологічні ознаки, експериментальний емболічний ішемічний інсульт, самці щурів лінії Вістар 3 місячного віку.

**Резюме.** У статті принаєвний науково-теоретичний огляд за підсумками багаторічного дослідження проблеми моделювання, клініко-експериментального спостереження та лікування емболічного ішемічного інсульту в 3-місячних самців щурів лінії Вістар. Авторами надається структурно-функціональне підґрунтя отриманим результатам. Власні нароби ретельно аналізуються та критично оцінюються (засобами світло-оптичної, електронної мікроскопії, морфометрії, функціональними поведінковими тестами: водний лабіринт Морріса), планомірно порівнюються з результатами попередників. Пропонуються способи підвищення ефективності лікування ішемічного інсульту шляхом застосування клітинної трансплантації (внутрішньовенна, інтракраніальна, субоципітальна) на різних строках розвитку останнього (1-14 доби). Передбачаються засоби прогнозу наближених наслідків розвитку хвороби в умовах експерименту. Широко застосовуються структурно-функціональні маркери (тромбоемболія, стази, некроз, лікворно-гліальні кисти, гліальний рубець) для диференціальної діагностики експериментального емболічного ішемічного інсульту.

Успішне лікування та профілактика ішемічного інсульту є доволі непроста клініко-соціальна проблема, що тісно пов'язана із застосуванням новітніх медичних нанотехнологій [6, 24]. Серед останніх велике значення відводиться клітинній терапії як принципово новому напрямку усунення деструктивно-дегенеративних наслідків ішемічного синдрому [8]. Серед широкого спектру пропонованих клітинних агентів, на тепер перевага надається СМК, для яких існують відпрацьовані методики виділення, культивування, нарощування заданої кількості *in vitro* [15]. Відомі процедурні моменти застосування СМК в експериментальній медицині, загальні механізми їхнього впливу на організм *in vivo*, деякі наближені та віддалені ефекти. Існує опис фенотипу цих клітин, виявлені ортодоксальні напрямки їх диференціювання, отриманий однотипний клітинний матеріал на базі культури СМК [33]. Досліджена та ефективно застосовується в експерименті автологічна лінія. Однак, не зважаючи на все зазначене вище, існує ціла низка питань, пов'язаних із застосуванням АСМК, що потребує свого невідкладного розв'язання. Вона стосується можливостей і напрямків диференціювання, застосування лікувальних властивостей у заміс-

ній терапії деструктивно-дегенеративних захворювань ЦНС [7], ролі певних типів клітин у формуванні позитивної відповіді на клітинну трансплантацію, тощо [23].

У результаті проведених досліджень показано, що застосовані в експерименті на самцях щурів лінії Вістар 3 місячного віку АСМК спроможні до диференціювання в нейрональному напрямку *in vitro* [22]. На сьому-чотирнадцяту добу нейрональної індукції NT3 клітини набувають здатності до відповідної реакції з антитілами до протеїнів нейронів, олігодендроцитів. Цей факт об'єктивно доводить можливість диференціювання та підтверджує гіпотезу можливої ефективності при застосуванні АСМК у замісній терапії ушкоджень головного мозку на прикладі біологічної моделі. Дискусійним залишається питання, щодо впливу клітини астроглії на перебіг ішемічного інсульту. З одного боку, прибічники методологічного обґрунтування все більше схиляються до позитивної аргументації згаданих явищ, пов'язаних із формуванням гліального рубця навколо зони ушкодження як зрозумілої перепони до її розповсюдження. З іншого боку, структура рубця є перешкодою на шляху аксонів. Таким чином, астроглія виконує подвійну функцію: стимуляції/

гальмування регенеративно-репараційних процесів. Окрім цього, відомі факти продукування токсинів замість ростових факторів унаслідок активації астроглії. Окреслене зводить нанівещь концепцію стимуляції відновних процесів у головному мозку та наводить на думку щодо обережного застосування функціональних можливостей диференціювання в астрогліальному напрямку.

Певними напрацюваннями можна вважати структурно-функціональні аргументи на користь залежності відповідної реакції АСМК від вихідного стану органу. Так, завдяки проведеному дослідженню встановлено, що за умов локального введення АСМК у структури інтактного головного мозку, диференціювання останніх не спостерігається. Не зважаючи на те, що деякими авторами наводяться дані на користь появи певних гетерогенних клітинних скупчень за умов експерименту з інтактним мозком, вважати їх вдалимими результатами неможливо (забарвлення антитілами до NeuN у тканині не відбувається). Окремі спроби отримати позитивний результат нейродиференціювання за умов інтактного мозку проводяться деякими фахівцями, проте, ці досліді залишаються нетривалими і завершуються тотальною загибеллю трансплантованих клітин. Іншим позитивним моментом запланованого дослідження стає відпрацювання структурно-функціональних аспектів застосування аутологічної культури клітин [25]. Особливістю зазначеного є те, що на сьогодні докорінно змінилася концепція відношення до головного мозку як імунопривилейованого органу, в якому процеси відторгнення трансплантату відсутні. У роботах наших закордонних колег наводяться факти, що яскраво свідчать на користь розвитку характерних запальних реакцій у речовині інтактного мозку у відповідь на трансплантацію. Подальший аналіз результатів демонструє наявність певних недоліків методологічного характеру (застосування нелінійних лабораторних щурів, відсутність аутологічної культури для трансплантації, нехтування перевіркою на імунологічну несумісність).

Велике значення у мінімізації дослідницьких ризиків відіграє дотримання принципів "чистоти" експерименту та максимального наближення останнього до природного феномену. Спосіб емболізації колатеральних судин частками зависі сульфату барію (II) в умовах функціонуючого кровообігу призводить до гарантованого вимкнення магістрального і колатерального кровообігу у відповідній півкулі головного мозку і, як наслідок, до його типових ушкоджень, схожих з аналогічними у людини при розвитку емболічного ішемічного інсульту. Опрацьовані в експерименті

механізми формування ішемічного інсульту сприяють отриманню оригінальної патофізіологічної моделі останнього та зводять до мінімуму перспективи розвитку експериментальних ускладнень [10].

У роботі представлена оцінка морфологічних змін [32], що відбуваються у головному мозку лінійних щурів за умов порівняльного контролю (відпрацьовуються способи та строки введення АСМК). У таких випадках встановлені факти стимуляції ангиогенезу на межі інтактної тканини із зоною ушкодження, яка неодмінно формується в разі поверхневих руйнувань ін'єкційним інструментом (голка, скальпель, тощо). Характерним є той факт, що аналогічних зрушень у структурі кори головного мозку тварин не спостерігається за умов уведення КС. Зазначене підтверджує попередні дослідження щодо сприяння клітинної трансплантації ангиогенезу. Скоріш над усе, АСМК викликають вказаний ефект завдяки паракринному впливу на ендотеліоцити та стимуляції ростового фактору (ріст ендотелію судин). Посилення ангиогенезу потенційно справляє позитивний вплив на обмежену постінсультну репарацію. На цьому тлі локальне введення АСМК має побічний ефект: у головному мозку тварин розвивається гліальна реакція та відбувається загибель нейронів. Можливо згадана реакція є виключною для хірургічного втручання, оскільки зазначені феномени не зустрічаються в групі інтактного контролю.

Вибір строків уведення АСМК експериментальним тваринам обумовлюється морфологічною сутністю стартових змін у головному мозку тварин із модельованим ішемічним інсультом. Проміжок часу, що відповідає першій добі постінсультного періоду, викликає зрозумілий дослідницький інтерес. Останнє пояснюється необхідністю простежити первинні структурні зміни, що відбуваються у відповідь на введення АСМК. Теоретичні джерела попередніх дослідників свідчать про те, що введення клітин саме в згаданий період сприяє терапевтичному ефекту через гальмування деструктивних змін у головному мозку експериментальних щурів (порівняльні досліді з субокципітальним та інтракраніальним способами підтверджують це припущення). Однак дискусійним залишалось питання щодо остаточного з'ясування морфологічного підґрунтя для оптимальних способів та строків (третьо-сьома доба експерименту) нейротрансплантації. Саме в цей період у тканині головного мозку відбуваються процеси, що визначають характер та глибину структурних ушкоджень кори, субкортикальних утворень. Згадані терміни,

без сумніву, свідчать на користь безперешкодного проникнення АСМК через гематоенцефалічний бар'єр, незалежно від способу їхнього введення [11]. АСМК сприяють не лише збереженню нервової тканини, але й поступово стимулюють відновні процеси в ній. Отримані морфометричні показники демонструють спочатку активацію деструктивно-дегенеративних процесів, сталість регенерації, потому її активацію. Зміни об'єму гліальних кист (одного із провідних критеріїв) носять фазний характер. На сьому добу зазначені показники досягають рівня:  $14,0 \pm 0,12$  мм<sup>3</sup>, у чотирнадцяту добу він становить  $18,93 \pm 1,12$  мм<sup>3</sup>, на сімнадцяту добу:  $23,8 \pm 1,08$  мм<sup>3</sup>, на двадцять першу добу-  $22,9 \pm 1,05$  мм<sup>3</sup>, двадцять восьму-  $21,2 \pm 1,05$  мм<sup>3</sup>.

Спектр способів введення клітин узгоджується концепцією вибірковості між ефективністю, інвазивністю, травматичністю та доступністю. Найбільш оптимальний внутрішньовенний спосіб уведення клітин, з точки зору малої інвазивності та доступності, стає найбільш прийнятним. Проте, він не відповідає вимогам термінового прийому (враховуючи специфіку першої доби) [13]. Коли за рахунок суто функціональних особливостей транспорту АСМК у кровеносному руслі, пов'язаних із проникненням через гематоенцефалічний бар'єр, виникає затримка доступу трансплантованих клітин до уражених ділянок головного мозку. Інтракраніальний спосіб уведення клітин, на відміну від попереднього, забезпечує можливість максимального доступу до *locus morbi*, високу ефективність застосованої терапії, проте, справедливо оцінюється як найбільш травматичний і важкодоступний у використанні. Субокципітальний спосіб уведення клітин характеризується виразною ефективністю, однак, доступ до ділянок уражень носить відтермінований характер. Останні факти найшли підтвердження в морфометричній оцінці хронології процесів формування сполучнотканинного рубця. Якщо на сьому добу спостереження у групі з ішемічним інсультом об'єм останнього становив  $9,7 \pm 0,71$  мм<sup>3</sup>, то за умов внутрішньовенного введення АСМК у зазначений період згадані показники досягали  $8,0 \pm 0,62$  мм<sup>3</sup>; інтракраніального-  $8,4 \pm 0,62$  мм<sup>3</sup>; субокципітального  $8,1 \pm 0,62$  мм<sup>3</sup>. На чотирнадцяту добу ситуація змінювалася наступним чином: у разі ішемічного інсульту об'єм сполучнотканинного рубця становив  $19,0 \pm 1,11$  мм<sup>3</sup>; за умов внутрішньовенного введення АСМК  $14,0 \pm 0,51$  мм<sup>3</sup>, інтракраніального-  $15,1 \pm 0,51$  мм<sup>3</sup>; субокципітального  $14,3 \pm 0,51$  мм<sup>3</sup>.

Іншим аспектом обговорення результатів виконаного дослідження стають міркування з приводу

стратегії розвитку морфологічних змін у разі гострих порушень церебрального кровообігу, проблеми їхньої діагностики та прогнозу [31]. Аналізом результатів науково-теоретичної та методологічної літератури із заявленого питання остаточно з'ясовується зміна поглядів щодо стратегії і терапевтичної тактики хворих на ішемічний інсульт [3]. Зазначені факти зумовлюються широким застосуванням нових методів нейровізуалізації, клініко-морфологічного, біохімічного моніторингу церебрального метаболізму та відповідною появою нових даних відносно структурно-функціональних розладів у гострому періоді церебрального інсульту. На думку фахівців, найбільш суттєвий вплив на стратегію лікувально-діагностичних заходів у хворих з ішемічним інсультом справляє концепція "ішемічної напівтіні", яка виникає у результаті фундаментальних досліджень гіперперфузії тканини мозку, -причини загибелі/ дегенерації нервових клітин. Відповідно із цим функція нейронів виявляється порушеною (у зв'язку із значним гальмуванням метаболічних процесів), а сама зона "ішемічної напівтіні" стає здатною до трансформації у інфаркт, у тому числі, з причин вторинних нейрональних розладів [14]. Існують теорії щодо ролевого значення факторів гіпоксії, інтоксикації, інфекції в розвитку вторинних ушкоджень нервової тканини. Деякими авторами висувуються вкрай обережні гіпотези стосовно участі агентів вірусної (вірус простого герпесу, цитомегаловірус, вірус Епштейна-Барра) етіології в генезі деструктивно-дегенеративних змін нейронів [9]. Однак до тепер у доступній літературі не наводяться порівняльні дані відносно морфологічних маркерів, диференційно-діагностично співставних для обох згаданих вище нозологій. Відсутність свідчень, стосовно можливої ролі вірусних інфекційних агентів у розвитку розладів кровообігу та сприяння вторинних структурних ушкоджень нейронів головного мозку.

Запально-дегенеративні процеси у головному мозку, що супроводжують розвиток ішемічного інсульту та гострої (герпесвірусної) нейроінфекції, характеризуються наявністю цілої низки співвідносних морфологічних маркерів, виразно ілюструючих кожну із вище згаданих хвороб. Під час оглядового морфологічного дослідження головного мозку пацієнтів, померлих у наслідок блискавичних форм герпесвірусної нейроінфекції (ранні стадії розвитку процесу), на тлі генералізованого герпесу чітко виявляється набряк цитоплазматичних компонентів нейронів, гліальних клітин, дегенеративні зміни в них (великі співвідносно до об'єму ядра базofilні та

еозинофільні включення) [2]. Одним із проявів згаданих процесів залишається гіперхроматоз ядер із виразною фрагментацією та маргіналізацією (повздовж мембрани) ядерної речовини. Аналогічні морфологічні ознаки реєструють за умов виникнення експериментального ішемічного інсульту [18]. Застосування різних методів забарвлення тканини у тактиці диференційно-діагностичного підходу дає змогу встановити переважну кількість (аналіз п'яти полей зору кожного із п'яти обов'язкових для детекції зрізів) нейронів, змінених за гіперхромним типом. Встановлені порушення поєднуються із фрагментацією хроматину, каріопікнозом, руйнуванням митохондрій, деструкцією гранулярного та агранулярного ретикулуму, наявністю чисельних лізосомальних включень, вакуолей [17]. Вакуолізація цитоплазми та загибель агранулярного ретикулуму за умов інсульту та тяжких форм нейроінфекцій залишаються явищами не скільки взаємопов'язаними, скільки послідовно індукованими (інтоксикації, гіпоксії, розлади енергетичного обміну). Не випадково, отже, агранулярний цитоплазматичний ретикулум вважають "внутрішньоклітинною губкою"- головним місцем захоплення води, що міститься в цитоплазмі. Для більшості клітин паренхіматозних органів картина вакуольної дистрофії розвивається саме завдяки цитоплазматичним вакуолям. У цілій низці випадків останні формуються в результаті коагуляційного некрозу, симулюючи феномен вакуольної дистрофії. Проте, декомпенсована стадія вакуольної дистрофії (як з'ясував детальний ультрамікроскопічний аналіз препаратів від груп тварин із модельованим ішемічним інсультом) із подальшою загибеллю клітин - є виключним наслідком хронічної пролонгованої дії токсичних агентів, гіпокаліємії, гіпоксії.

Іншими співставними маркерами структурно-функціональних змін вважають хроматоліз нейронів та супровідні по відношенню до нього патологічні процеси. До їх числа відносять: зникнення цитоплазматичних включень, лізосом, мембранних компонентів, заміщення цистерн ендоплазматичного ретикулуму групами дискретних бульок, відсутність рибосом, набухання митохондрій (як це встановлено трансмісійним електронно-мікроскопічним дослідженням). Зміни в структурі мікрокапілярів та нейроцитів головного мозку, у тому числі, відмічені вище, спонукають розвиток виразного набряку астроцитарних відростків, сприяють концентрації гліальних клітин поруч із патологічно зміненими елементами. На ділянках розташування ушкоджених мікросудин відмічають появу клітин-тіней

(каріоцитоліз, викликаний склерозом, зморщенням останніх). Тривале унаслідок атрофії "розрідження" тканини мозку стосується, у першу чергу, верхніх цитоархітектонічних шарів кори (молекулярний, зовнішній зернистий, пірамідних клітин) та свідчить на користь розвитку суттєвих дегенеративних зрушень [12]. Атрофічні зміни носять дифузний характер, проте, не відрізняються рівномірністю розподілу в тканині (частіше тяжіють близьким розташуванням до лобової, скроневої часток, базальних ядер, паравентрикулярних зон). Нерідко в разі стенозів екстракраніальних відділів магістральних артерій у зонах суміжного кровопостачання (ділянки змикання периферичних гілок) реєструються чисельні, малі інфаркти, що спричиняють гранулярну атрофію кори.

До важливих співставних ознак також відносяться явища субпендімарного гліозу різного ступеня виразності [27]. Особливо яскраво ці феномени проявляються за умов герпесвірусної нейроінфекції. Пролонгованість захворювання, його прогресуючий характер (на тлі подекуди неповної та поверхневої діагностики, недостатньої етіотропної терапії) сприяють генералізації вогнищ, переважна локалізація яких - субпендімарні зони, лобові, скроневі частки головного мозку. Гістологічно чітко визначені осередки гліозів представляються дифузними або периваскулярними скупченнями малодиференційованих гліальних клітин (згадаємо морфологічну картину, що виникає під впливом факторів ішемії на третьо-чотирнадцяту доби спостережень у групах тварин із модельованим інсультом). За умов розвитку ішемічного інсульту зі стійкою неврологічною симптоматикою мікроскопічне дослідження виявляє виразну загибель нейронів із замісним астрогліозом (вогнища неповного некрозу в корі). Чим більшим за розмірами виявляється вогнище, тим активніше відбувається формування гліо-сполучно-тканинного рубця, багатокамерних лікворно-гліальних кіст. Цікавим, на наш погляд, фактом є попередня міграція лейкоцитів з появою астроцитів, наступною проліферацією, новоутворенням колагенових волокон, мікросудин. Розвиток проліферативних явищ більшою мірою супроводжується перебігом інфекційних гліозів. Перифокальна лімфо-плазмодитарна інфільтрація стає невід'ємною рисою ареактивних некрозів та гліозів, що супроводжують ішемічні розлади у корі.

Розвиток ішемії як невід'ємного провідного фактора інсульту не обмежується виникненням локальної патології. Морфофункціональна картина останнього носить системний характер, що

позначається розвитком цілої низки взаємозв'язаних процесів у ланцюгу "нейроцит-капіляр-глія" [19]. Поява ішемії в клініко-морфологічній структурі інсульту не викликає жодного сумніву. Її наслідки (атрофія, некроз, некробіотичні зміни) із часом призводять до формування позначених вогнищ інфарктів. Із часом останні піддаються організації. Вона супроводжується формуванням колагенових волокон, у ділянках колишніх некрозів, повільною стимуляцією ангиогенезу. Обґрунтованим доказом останнього є аналіз кількості судин на одиницю площини в групах тварин із експериментальним інсультом та застосуванням на його тлі АСМК. Зміни в показниках останньої носили фазний характер: помітно зменшувалися з третьої до сьомої доби, потім зростали, не досягаючи початкових цифр-  $16,5 \pm 1,11 \text{ мм}^3$ - $9,8 \pm 0,71 \text{ мм}^3$  (ішемічний інсульт);  $18,3 \pm 1,11 \text{ мм}^3$ ;  $19,6 \pm 1,11 \text{ мм}^3$ - $16,2 \pm 1,11 \text{ мм}^3$ ;  $17,1 \pm 1,11 \text{ мм}^3$  (внутрішньовенне та інтракраніальне введення клітин). У разі трансплантації АСМК чисельність судин у критичні строки (третья-сьома доба) спостереження майже вдвоє перевищували аналогічні показники за умов розвитку експериментального ішемічного інсульту. На цьому тлі відбуваються зміни ультраструктури базових клітин стінок капілярів головного мозку (набухання, гіперплазія, каріорексис, каріопікноз, гіперхроматоз ядер ендотеліоцитів). У нейроцитах кори спостерігають вакуолізацію цитоплазми з появою лізосомальних включень, гіперхроматоз, каріопікноз. Останні процеси, що розвиваються у взаємозв'язку, супроводжують структурні зміни астрогліального компоненту (набряк відростків, деструкція гранулярного та агранулярного ендоплазматичного ретикулу). Згодом здійснюється накопичення клітин глії у вогнищах патологічних змін. Таким чином, значення ішемії оцінюється подвійно. З одного боку, вона призводить до виразної декомпенсації коркових зон локалізації сенсо-моторних аналізаторів у півкулях головного мозку щурів. У подальшому це визначає відповідні функціональні розлади в організмі піддослідних тварин [28]. З іншого боку, морфологічні зміни сприяють розвитку компенсаторних процесів, тим самим, підтверджуючи сміливі здогадки щодо стимуляції адаптаційного потенціалу в умовах екстремальних навантажень ЦНС.

Суттєвим підтвердженням ефективності проведеної клітинної трансплантації слугують поведінкові тести з водним лабіринтом Морріса. Вони наявно демонструють "еволюцію" функціональних показників у лабораторних щурів за умов розвитку модельованого ішемічного інсульту на

тлі застосування АСМК [29]. Структурні зміни та декомпенсація коркових зон локалізації сенсо-моторних аналізаторів у півкулях головного мозку щурів за умов розвитку ішемічного інсульту призводять до функціональних розладів. У тварин виникають ситуативні порушення орієнтовної, харчової поведінки, загальмованість, іноді патологічні рефлекси [1]. Щури з ішемічним інсультом, як з'ясовано в нашій роботі, витрачають більше часу на пошук платформи, ніж ті особини, що належать до псевдооперованих груп та груп, де застосовують клітинну терапію. Такі тварини утруднено опановують дистанцію, знаходять найбільш оптимальну траєкторію пересування в басейні, спосіб подолання платформи. Вже на перших етапах дослідів вони намагаються відразу залишити платформу. На відміну від них псевдооперовані щури та ті, що зазнають впливу АСМК вже на третю-сьому добу дослідження демонструють здатність розв'язувати завдання з оптимального подолання дистанції, пошуку платформи, спокійного перебування на ній протягом 30 і більше секунд. Сформовані навички закріплюються (час виходить на плато) та успішно застосовуються тваринами упродовж всього експерименту. При цьому тварини витрачають стільки ж часу, що і псевдооперовані. Очевидним стає факт стимуляції клітинною терапією процесів відновлення фізіологічно важливих зон у півкулях головного мозку та сприяння досягненню тваринами вихідного чи наближеного до нього рівня [16]. Експериментальні щури з груп клітинної терапії освоюються в незвичних для них обставинах, звикають до водної стихії (започатковують ознайомчі маневри в басейні, проявляють допитливість у дослідженні обставин перебування). Яскравим підтвердженням оптимізації функціонального статусу стають аргументи на користь динаміки формування просторових навичок або їхньої збереженості у піддослідних особин порівняно з показниками в контрольних групах [30]. Тобто, трансплантація АСМК виразно стимулює відновлення когнітивних функцій (третья-сьома доба експерименту), призводить до збереженості здатності тварин до навчання та оптимального застосування накопиченого досвіду (чотирнадцять-двадцять восьма доби) відповідно до обставин існування на рівні псевдооперованих особин.

Самці із групи ішемічного інсульту так і не виходять на критерії тварин із групи інтактного контролю. Тести за водним лабіринтом Морріса свідчать на користь суттєвих порушень когнітивних функцій у тварин: вони не втрачають здібностей до навчання, але за весь строк експе-



following brain ischemia: focus on the involvement of metalloproteinases. // *Acta Neurobiol. Exp. (Wars)*.-2009.-Vol.69.-P.52-61.

### ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИШЕМИЧЕСКОГО ЭМБОЛИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА: ИТОГИ И ОБСУЖДЕНИЕ

*И.И. Торяник, В.В. Колесник*

**Резюме.** В статье приведен научно-теоретический обзор итогов многолетнего исследования проблемы моделирования, клинко-экспериментального наблюдения и лечения эмболического ишемического инсульта у 3 месячных самцов крыс линии Вистар. Авторами представлено структурно-функциональное обоснование полученных результатов. Собственные наработки тщательно анализируются и критически оцениваются (средствами свето-оптической, электронной микроскопии, морфометрии, функциональными поведенческими тестами: водный лабиринт Морриса), планомерно сравниваются с результатами предшественников. Предлагаются способы повышения эффективности лечения ишемического инсульта путем применения клеточной трансплантации (внутрикраниальная, субокципитальная) на разных сроках развития последнего (1-14 сутки). Предполагаются способы прогноза ближайших последствий развития болезни в условиях эксперимента. Широко применяются структурно-функциональные маркеры (тромбоэмболии, стазы, некрозы, ликворно-глиальные кисты, глиальные рубцы) для дифференциальной диагностики экспериментального эмболического ишемического инсульта.

**Ключевые слова:** патофизиологическая оценка, поведенческие тесты (водный лабиринт Морриса), патоморфологические признаки, экспериментальный эмболический ишемический инсульт, самцы крыс линии Вистар 3 месячного возраста.

### PATHOPHYSIOLOGICAL ASSESSMENT OF EXPERIMENTAL ISCHAEMIC EMBOLIC STROKE: RESULTS AND DISCUSSION

*I.I. Torianik, V.V. Kolesnik*

**Abstract.** Successful treatment and prevention of ischaemic stroke is a rather difficult clinical-social problem, which is closely connected with use of novel medical nanotechnologies. Among the latter, very significant is cell therapy as a principally new direction in elimination of destructive-degenerative effects of ischaemic syndrome. Today, among a broad spectrum of suggested cell agents, preference is given to mesenchymal stem cells (MSCs), for which methods of isolation, incubation and increase of the preset number in vitro are well-tested. Procedural moments of the use of MSCs in experimental medicine, general mechanisms of their influence on the organism in vivo, some immediate and long-term effects are known. The phenotype of these cells has been described, orthodox directions of their differentiation were revealed, the homotypic cellular material on the basis of MSCs culture were received. The autologous line has been studied and is effectively used in experiments. Nevertheless, despite all above facts there is a whole number of problems, which are associated with use of autologous MSCs (AMSCs) and require their urgent solution. It concerns abilities and directions of differentiation, use of therapeutic properties in

replacement therapy of destructive-degenerative diseases of CNS, the part played by certain types of cells in the formation of the positive response to cell transplantation, etc.

As a result of the conducted studies it has been demonstrated that the AMSCs, experimentally used in 3-month-old male Wistar rats, are able to differentiate in the neuronal direction in vitro. On day 7-14 of the neuronal induction NT3 cells become capable of the proper response with antibodies to neuron proteins, oligodendrocytes. This fact objectively proves the possibility of differentiation and confirms the hypothesis of possible efficacy of using AMSCs in replacement therapy for cerebral lesions on the example of a biological model.

In the authors' opinion, very important for the minimization of research risks is to observe the principles of "purity" of the experiment and bring it maximally close to the natural phenomenon. The method of embolization of collateral vessels with particles of suspension of barium sulphate (II) in conditions of the functioning circulation causes a guaranteed disengagement of the major and collateral circulations in the relevant hemisphere of the brain and results in its typical damages, which resemble similar ones in people during the development of embolic ischaemic stroke. The mechanisms of ischaemic stroke formation, which were well-tested experimentally, facilitate receiving of an original pathophysiological, model of this stroke and minimize prospects of the development of experimental complications.

The work contains assessment of the morphological changes, which take place in the brain of the Wistar line rats in conditions of a comparative control (ways and terms of AMSCs administration were tested). Such cases revealed facts of angiogenesis stimulation on the border of the intact tissue with the damaged area, the latter forming by all means in case of superficial injuries with injection instruments (needles, scalpels, etc.). Significant is the fact that no similar changes in the cerebral structure of animals are observed in conditions of an injection of corticosteroids. The above observation confirms earlier studies on assistance of cell transplantation to angiogenesis. Perhaps AMSCs cause the above influence owing to their paracrine effect on endotheliocytes and stimulation of the growth factor (growth of vascular endothelium). Intensification of angiogenesis potentially produces a positive influence on limited post-stroke reparation. Against this background a local injection of AMSCs has a side effect: a glial response develops in the brain of animals and neurons die. This response may be exclusive for surgical intervention, since the above phenomena were not registered in the intact control group. Results of behavioural tests (Morris, 1981), which were thoroughly analysed by the authors of this article, serve as an objective confirmation of the efficacy of the transplantation performed.

**Key words:** pathophysiological assessment, behavioural tests (Morris water navigation test), pathomorphological signs, experimental ischaemic embolic stroke, 3-month-old male Wistar rats.

**Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology of  
the NAMSU, Kharkiv, Ukraine**

**Romodanov Institute of Neurosurgery of the NAMSU,  
Kyiv, Ukraine**

*Clin. and experim. pathol.* - 2015. - Vol.14, №1 (51). - P.229-235.

Надійшла до редакції 05.02.2015  
Рецензент – проф. В.М.Пашковський  
© І.І. Торяник, В.В. Колесник, 2015