

## ОГЛЯДИ І ВЛАСНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

УДК 616.12-002.331:616.831

©В. І. Цимбалюк<sup>1</sup>, В. В. Колесник<sup>1</sup>, І. І. Торяник<sup>2</sup>ДУ “Інститут нейрохірургії імені А. П. Ромоданова НАМН України”<sup>1</sup>, м. Київ  
ДУ “Інститут мікробіології та імунології імені І. І. Мечникова НАМН України”<sup>2</sup>, м. Харків

## СУЧАСНІ НАУКОВО-ТЕОРЕТИЧНІ КОНЦЕПТИ ТА МЕТОДОЛОГІЯ ДОСЛІДЖЕНЬ ЕТІОПАТОГЕНЕЗУ ІШЕМІЧНОГО ІНСУЛЬТУ

СУЧАСНІ НАУКОВО-ТЕОРЕТИЧНІ КОНЦЕПТИ ТА МЕТОДОЛОГІЯ ДОСЛІДЖЕНЬ ЕТІОПАТОГЕНЕЗУ ІШЕМІЧНОГО ІНСУЛЬТУ – У представленому огляді літератури автори узагальнили результати досліджень останнього десятиліття, що стосуються етіопатогенезу ішемічного інсульту. Метою започаткованого дослідження було теоретично обґрунтувати застосування мезенхімальних стовбурових клітин у разі гострих порушень мозкового кровообігу. Автори проаналізували сучасні науково-теоретичні концепції “ішемічної напівтіни” та “вікна терапевтичної можливості”.

СОВРЕМЕННЫЕ НАУЧНО-ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ КОНЦЕПЦИИ И МЕТОДОЛОГИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ ЭТИОПАТОГЕНЕЗА ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА – В представленном обзоре литературы авторы обобщили результаты исследования последнего десятилетия, касающиеся этиопатогенеза ишемического инсульта. Целью предпринятого исследования было теоретически обосновать применение мезенхимальных стволовых клеток при острых нарушениях мозгового кровообращения. Авторы проанализировали современные научно-теоретические концепции “ишемической полутени” и “окна терапевтической возможности”.

MODERN SCIENTIFIC AND THEORETICAL CONCEPTIONS AND METHODOLOGY OF THE ISCHEMIC STROKE ETYOPATHOGENESIS INVESTIGATION – The authors of the represented review summarize the results the last decade research concerning the ischemic stroke etyopatogenesis. The theoretically substantiation of the mesenchymal stem cells using in acute cerebral blood circulation disorders was the investigation purpose. The authors analysed the modern scientific and theoretical conceptions of the «ischemic penumbra» and «therapeutic opportunity window».

**Ключові слова:** науково-теоретичні концепти, методологія, ішемічний інсульт, етіологія, патогенез.

**Ключевые слова:** научно-теоретические концепции, методология, ишемический инсульт, этиология, патогенез.

**Key words:** scientific and theoretical conceptions, methodology, ischemic stroke, etyology, pathogenesis.

Протягом останніх десятиліть гострий інсульт набуває великого значення та розцінюється фахівцями як загрозлива проблема оперативної та консервативної неврології. Статистика ВООЗ вказує, що щорічно хворіє на інсульт близько 16 млн населення, із яких 5 млн помирає [1–3]. Тільки в США щорічно хворіє на інсульт 700 тис. осіб. У Росії він посідає друге місце серед причин смертності та залишається головною причиною втрати працездатності. В Україні, за даними Держкомстату, від інсульту страждає понад 110–130 тис. населення. На сьогодні дослідники ставляться до інсульту як до невідкладного стану з більш високим рівнем летальності, ніж у переважній чисельності типів раку [4–6]. Тому розумілою запорукою успіху інтервенції гострого інсульту залишаються раннє розпізнавання, діагностика та лікування, адекватне клінічному перебігу. Ланки “ланцюга спасіння”, що у

широких неврологічних колах інтерпретують як найоптимальнішу тактику, включають п'ять компонентів, у тому числі нейровізуалізацію та відповідну нанотехнологічну терапію. Однією із найефективніших технологій вважають використання клітин стромальних компонентів та рекомбінантних активаторів, що дозволяє опрацювати принципово нові підходи до лікування захворювань із невідновними пошкодженнями тканин та органів. Задля цього широкого застосування набувають ембріональні та фетальні стовбурові клітини [7]. Спроби використання перших ліній ембріональних стовбурових клітин співпадають із першими повідомленнями щодо показань на користь існування стовбурових клітин дорослого організму. Наприкінці 90-х – початку 2000-х років відкривають стовбурові клітини в тканинах, що раніш вважали не схильними до самовідновлення та репарації (серцевий м'яз, головний мозок) і визначають роль мезенхімальних клітин, джерелом яких залишається кістковий мозок. У даний час опрацьовують та опробовують методики виділення мезенхімальних стовбурових клітин (МСК) із збереженими властивостями задля подальшого культивування, нарощування *in vitro* для необхідної кількості й застосування у випадках з імуносуміснопроблемними реципієнтами. Поряд із цим активно залучають до експериментальних випробувань (нейродегенеративні захворювання, травматичні пошкодження ЦНС) спроможність МСК *in vitro* диференціюватись у нейрони, астроцити, олігодендроцити. Проте найактуальнішою є проблема клітинної інтервенції гострих ішемічних інсультів, ускладнення яких пов'язані із необоротними втратами нервової тканини після першого ж епізоду хвороби [8–10]. Перший етап на шляху в розв'язанні зазначеного завдання полягає у виборі найефективніших методів дослідження етіопатогенезу ішемічного інсульту.

Протягом останніх десятиліть у науковій літературі з'явилась велика кількість робіт, присвячених з'ясуванню причин і механізмів ішемії головного мозку та, зокрема, інсульту ішемічного генезу. Доцільно зупинитися на деяких етіопатогенетичних та методологічних моментах, що, без сумніву, мають велике значення. Найбільш затребуваними із них є методи нейровізуалізації. Саме вони внесли вагомий корективи в сучасне тлумачення і розуміння поняття “ішемічний інсульт”.

Завдяки застосуванню сучасних методів нейровізуалізації (позитронно-емісійної, магнітно-резонансної, комп'ютерної томографії), досліджень судинної системи мозку, біохімічних методів, з'явилися нові дані щодо патофізіологічних аспектів гострої церебраль-

ної ішемії, які у певному сенсі суттєво змінили погляди на стратегію і тактику ведення хворих із гострим ішемічним інсультом [11–13]. Найбільший вплив справили концепції “ішемічної напівтіні” і “вікна терапевтичних можливостей”. Сутність останніх полягала у тому, що в результаті оклюзії судин або гіперперфузії тканин мозку протягом декількох хвилин відбувалася некротична смерть клітин. Однак навколо зони некрозу утворювалася ділянка “ішемічної напівтіні”, в якій нейрони залишалися функціонально стійкими на тлі значно зниженого мозкового кровообігу. Зазначена зона могла трансформуватися в інфаркт, проте лише в результаті вторинних нейрональних пошкоджень. За даними фахівців, формування інфаркту мозку відбувалося протягом перших 3–6 год, завдяки чому згаданий проміжок часу отримав назву “терапевтичного вікна”. Наведена концепція змінила ставлення до інсульту з визнанням його невідкладним станом, який вимагав екстреної медичної допомоги в перші хвилини, години з моменту його розвитку [14, 15, 17].

У разі гострої оклюзії церебральної артерії в її дистальній частині зменшувався артеріальний тиск, швидкість кровообігу, останній спричиняв вогнищеву церебральну ішемію та визначав формування повноцінних вогнищ інфаркту. Результати вогнищцевої церебральної ішемії залежали від цілої низки чинників, до яких долучали наслідки тромбозу (утворення нейротоксичних ейкозаноїдів, пошкодження гематоенцефалічного бар’єра з проникненням у мозок біологічно активних речовин та клітин), розлади мікроциркуляції, зміни ступеня гіперперфузії, тривалості ішемії, рівень колатерального кровообігу [16].

Вогнищева церебральна ішемія не завжди сприяла терміновому припиненню доставки кисню та глюкози до відповідної ділянки мозку. Зазначені факти пов’язували перш за все з невеликим залишковим кровообігом в артерії, з іншого, мережею колатеральних судин, які забезпечували певний рівень кровопостачання. Саме неповна ішемія зумовлювала складну еволюцію інфаркту мозку в часі та просторі [18]. Зменшений мозковий кровообіг, нижчий за нормальний рівень ( $\geq 50$  мл/100 г/хв), спочатку компенсувався за рахунок локального розширення судин (явище ауторегуляції), у подальшому (45 мл/100 г/хв) позначався пригніченням синтезу білків та анаеробним гліколізом (рівень близько 35 мл/100 г/хв). Наступне зниження кровообігу підвищувало екстракцію кисню та глюкози з крові (стан “збіднілої перфузії”) та задля збереження АТФ та іонного гомеостазу призводило до припинення біоелектричної активності нейронів (поріг пригнічення електричної активності з рівнем кровообігу до 40–50 % від нормального ( $\leq 20$ –25 мл/100 г/хв)). Згадане супроводжувалось порушенням нормальних функцій клітин мозку та появою вогнищевих неврологічних симптомів. На знижений кровообіг (рівень менший ніж 15 мл/100 г/хв) певним чином відгукувались показники електроенцефалограми: викликані потенціали зникали, лінія ставала спочатку плоскою, а потім ізоелектричною (аноксична деполаризація). Коли кровообіг становив близько 10 мл/100 г/хв чи менше, порушувався електролітний гомеостаз і клітини мозку зазнавали необоротних пошкоджень [19–22].

Відкриття двох основних ішемічних порогів (пригнічення біоелектричної активності та втрати іонного гомеостазу) призвело до появи концепції ішемічної напівтіні (пенумбри) [19–21]. Ішемічна напівтінь зазнавала необоротних пошкоджень та приєднувалась до інфаркту задля відновлення нормальної життєдіяльності. Спочатку пенумбра схематично зображувалася як ділянка навколо ішемічного ядра (зона мозку з необоротними змінами). Однак у подальших дослідженнях з використанням позитронноемісійної томографії з’ясували, що у дійсності ділянка внутрішньої церебральної ішемії неоднорідна, а ділянки напівтіні розташовані навколо різних за розміром острівців із низьким рівнем перфузії – ішемічних ядер.

Після ішемічного інсульту в пошкодженій ділянці мозку відбувалася масивна реорганізація тканини, яку потребувало власне відмежування пошкодженої ділянки від інтактних зон та відновлення нормальної архітектури мозку. Важливою умовою такої перебудови залишалася зміна взаємодії клітин з позаклітинним матриксом. У згаданому процесі велику роль відігравали молекулярні механізми. Вважають, що молекули, які брали участь у розбудові позаклітинного матриксу, відносять до трьох груп: протеази матриксу, молекули самого матриксу та інтегрини. Ці три категорії молекул давали клітинам можливість запустити класичний каскад репарації пошкодженої тканини та утворити рубець після утилізації клітинного детриту.

В головному мозку, на відміну від інших органів, у реорганізації пошкодженої тканини та утворенні рубця брали участь гліальні клітини (астроцити та мікроглія). Задля конформацій, ефективної проліферації та наступної міграції, взаємозв’язок останніх з позаклітинним матриксом постійно змінювався із опосередкованою участю певного складу інтегринів на поверхні клітин, синтезом молекул позаклітинного матриксу та секрецією протеаз останнього. Ферментні системи протеаз активно залучались організмом до процесів перебудови існуючих та формування нових зв’язків у позаклітинному матриксі. Головною діючою структурою, що забезпечувала зв’язок між елементами цитоскелета клітини і позаклітинним матриксом, залишалися рецептори інтегринів. Попередні дослідники вказували, що останні слугували виключно за для комплементу клітин та матриксу. Однак на сьогодні доведено роль специфічних рецепторів нервових клітин у передачі сигналів, як із-зовні, так і у внутрішнє середовище біологічних структур [5].

У центральній нервовій системі практично відсутні молекули позаклітинного матриксу, що не можна сказати відносно периферичних тканин. Однак навколо кровоносних судин та у поверхні м’якої мозкової оболонки виявлено базальну пластинку, що долучає власне весь спектр класичних молекул вищезазначених структур: колаген, тромбоспондин, фібронектин, ламінін та вітронектин. Згадані компоненти матриксу, гіалуринозв’язуючі білки, глікопротеїни відіграють доволі важливу роль у процесах проліферації клітин та їх міграції у разі імунної відповіді організму на дію тих чи інших чинників. Відомо, що завдяки саме молекулам позаклітинного матриксу можливі також репаративні явища. Цікавим фактом є те, що сам по собі позаклітинний матрикс структур головного мозку до-

рослої людини не дає можливості клітинам проліферувати і мігрувати. Щоб ці надто важливі процеси відновлення могли відбутися, позаклітинний матрикс повинен бути змінений шляхом синтезу de novo протеаз матриксу, рецепторів інтегринів, які дають змогу мікроглії, астроцитам та лейкоцитам дістатися пошкодженої ділянки [5, 7].

Довгий час вважали, що мозок не здатний до регенерації, а нервові клітини не здатні ділитися. Однак за останні роки отримано численні переконливі дані на користь наявності в ЦНС дорослих ссавців нейрональних стовбурових клітин. Популяції цих клітин зосереджені у субгранулярному шарі гіпокампа, в субвентрикулярних ділянках головного мозку та вирізняються здатністю до самопідтримки популяції і диференціювання у нейрони, олігодендроцити, астроцити. Саме цим клітинам належить функціональне навантаження, яке пов'язує у нормі із оновленням нервових клітин у певних ділянках головного мозку, зокрема гіпокампа та нюховій цибуліні [1, 5, 25, 26].

Таким чином, за останні роки досягнуто суттєвих успіхів у розумінні клітинних та молекулярних механізмів ішемічного ураження мозку, що стало запорукою адекватного лікування та зменшення летальності у гострому періоді ішемічного інсульту.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- American Heart Association [American Heart Association / Heart Disease and Stroke Statistics.] [Електронний ресурс]. – Update, Dallas TX, 2007. – P. 36–41. Режим доступу: <http://www.americanheart.org/statistics>.
- Стволовые клетки в современной медицине: настоящее и будущее / М. А. Пальцев, А. А. Иванов, В. Н. Смирнов, Ю. А. Романов // Молекулярная медицина. – 2006. – № 2. – С. 5–9.
- Цымбалюк В. Стволовые клетки нервной ткани – надежда современной неврологии и нейрохирургии / В. Цымбалюк, В. Медведев // Doctor. – 2004. – № 4. – С. 9–13.
- Acute neurological stroke care in Europe. Results of the European Stroke Care Inventory / M. Brainin, N. Bornstein, G. Boysen, V. Demarin // Eur J. Neurol. – 2000. – Vol. 7. – P. 5–10.
- Bang O. Y. An apology: inadvertent error in our article published in June 2005 issue of the Ann Neurol / O.Y. Bang // Ann Neurol. – 2005. – Vol. 58. – P. 659.
- Яворська В. О. Специфічне лікування ішемічного інсульту: нейропротекція / В. О. Яворська, Ю. В. Фломин // Міжнародний неврологічний журнал. – 2010. – № 6. – С. 147–159.
- Трансплантация нейрональных стволовых клеток человека при ишемическом инсульте в остром и раннем восстановительном периодах / Н. В. Миронов, Д. В. Гольдштейн, И. Н. Сабурин и др. // Биотехнология: состояние и перспективы развития : материалы II Московского международного конгресса. – Москва, 2003. – М., 2003. – С. 125.
- Вермель А. Е. Стволовые клетки: общая характеристика и перспективы применения в клинической практике / А. Е. Вермель // Клиническая медицина. – 2004. – № 1. – С. 5–11.
- Волошин П. В. История, современный уровень и будущее тромболитической терапии при остром ишемическом инсульте / П. В. Волошин // Український медичний часопис. – 2007. – № 5. – С. 9–23.
- Застосування стовбурових клітин у лікуванні запально-дегенеративних уражень ЦНС / В. І. Цымбалюк, М. І. Лисячий, О. В. Маркова, Л. Д. Пічкур // Трансплантологія. – 2005. – № 2. – С. 73–79.
- Early decompressive surgery in malignant infarction of the middle cerebral artery: a pooled analysis of three randomised controlled trials / K. Vahedi, J. Hofmeijer, E. Juettler et al. // Lancet Neurol. – 2007. – Vol. 6. – P. 215–222.
- Стволовые клетки и их использование в клинической практике : обзор литературы / Д. А. Охоботов, Г. В. Павлова, Е. И. Зарайский, А. А. Камалов // Медицинские науки. – 2007. – № 6. – С. 24–41.
- Волошин П. В. Профилактика мозгового инсульта / П. В. Волошин, Т. С. Мищенко // Здоров'я України. – 2002. – № 5. – С. 14.
- Гладкий А. Последние достижения в консервативном лечении ишемического инсульта / А. Гладкий // Здоров'я України XXI сторіччя : медична газета. – 2008. – № 12. – С. 28.
- Multipotent stem/progenitor cells with similar properties arise from two neurogenic regions of adult human brain / V. G. Kukekov, E. D. Laywell, O. Suslov [et al.] // Exp. Neurol. – 1999. – Vol. 156. – P. 333–344.
- Распределение мезенхимных стволовых клеток в головном мозгу крысы при их внутривенном введении / Н. Н. Зинькова, И. Б. Соколова, П. В. Кругляков и др. // Морфология : архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 2006. – № 2. – С. 43–44.
- Смолапка В. І. Нейрохірургічна допомога при інсульті / В. І. Смолапка // Практична ангіологія. – 2008. – № 3. – С. 24–27.
- De Keyser J. Autologous mesenchymal stem cell transplantation in stroke patients [comment] / J. De Keyser // Ann. Neurol. – 2005. – Vol. 58. – P. 653–654.
- Neuroprotective effect of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor in transient focal ischemia of mice / M. Komine-Kobayashi, N. Zhang, M. Liu [et al.] // J. Cereb. Blood Flow Metab. – 2006. – Vol. 26. – P. 402–413.
- Filip S. Issues in stem cell plasticity / S. Filip, D. English, J. Mokry // J. Cell Mol. Med. – 2004. – Vol. 8. – P. 572–577.
- Bongso A. History and perspective of stem cell research / A. Bongso, M. Richards // Best Practice and Research Clinical Obstetrics and Gynaecology. – 2004. – Vol. 18, Issue 6. – P. 827–842.
- Improvement of neurological deficits by intracerebral transplantation of human adipose tissue-derived stromal cells after cerebral ischemia in rats / S. K. Kang, D. H. Lee, Y. C. Bae [et al.] // Exp. Neurol. – 2003. – Vol. 183. – P. 355–366.
- Correlation of VEGF and angiopoietin expression with disruption of blood-brain barrier and angiogenesis after focal cerebral ischemia / Z. Zhang, L. Zhang, W. Tsang [et al.] // J. Cereb. Blood Flow Metab. – 2002. – Vol. 22. – P. 379–392.
- Neuronal differentiation of transplanted embryonic stem cell-derived precursors in stroke lesions of adult rats / C. Buhnenmann, A. Scholz, C. Bernreuther [et al.] // Brain. – 2006. – Vol. 129. – P. 3238–3248.
- Li Y. Adult bone marrow transplantation after stroke in adult rats / Y. Li, J. Chen, M. Chopp // Cell Transplant. – 2001. – Vol. 10. – P. 31–40.
- Effect of mesenchymal stem cell transplantation on cognitive function in rats with ischaemic stroke / I. Sokolova, O. Fedotova, N. Zin'kova [et al.] // Bull. Exp. Biol. Med. – 2006. – Vol. 2. – P. 511–514.

*Представлена робота являє собою фрагмент науково-дослідницької тематики “Розробка технології отримання аутоклітин різних типів біологічних тканин із стромальних клітин кісткового мозку і застосування їх для лікування захворювань різного генезу за допомогою аутотрансплантації”, номер № 0106U003995;2010–2012 pp.*

Отримано 26.03.12