

Эффект применения криоконсервированных нейральных клеток плодов крыс на модели интрацеребрального кровоизлияния

К.М. Золотко, О.М. Сукач, О.В. Оченашко

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Effect of Cryopreserved Rat Embryonic Neural Cells in Intracerebral Hemorrhage Model

K.M. Zolotko, O.M. Sukach, O.V. Ochenashko

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

Интрацеребральное кровоизлияние (ИК) является причиной примерно 15% всех случаев инсульта. Несмотря на применение новейших методов лечения, прогноз пациентов с ИК остается неудовлетворительным. Клеточная терапия с использованием криоконсервированных нейральных клеток может способствовать уменьшению тяжести протекания патологических процессов при ИК.

Цель работы – изучение терапевтического потенциала криоконсервированных нейральных клеток эмбрионов крыс на модели интрацеребрального кровоизлияния у экспериментальных животных.

Моделирование ИК проводили на беспородных самцах белых крыс ($n = 16$) путем стереотаксического введения в стриатум 0,2 ед. коллагеназы. Нейральные клетки выделяли из мозга 14–15-суточных плодов крыс и криоконсервировали под защитой 10% ДМСО, который удаляли перед использованием клеток. На 2-е сутки после формирования ИК крысам опытной группы в боковой желудочек мозга вводили $1,5 \times 10^6$ нейральных клеток, а крысам контрольной группы – среду без клеток. Для исследования двигательной активности крыс использовали двигательные тесты. На 1, 2, 7 и 14-е сутки в крови животных определяли содержание малонового диальдегида (МДА), активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и общее количество лейкоцитов.

В первые сутки после моделирования ИК у крыс всех групп отмечалось значительное нарушение равновесия, координации движений и воспроизведения тонких навыков, в крови – повышение концентрации МДА, активности ЛДГ и количества лейкоцитов. Результаты лестничного теста показали, что животными опытной группы на 1 и 7-е сутки после операции было съедено больше гранул в 2,4 ($p < 0,05$) и 1,3 раза соответственно. В опытной группе тест прохождения по перекладине на 2-е сутки после моделирования ИК показал значимое снижение количества соскальзываний с перекладины в 2,3 раза ($p < 0,05$) с сохранением положительной тенденции на 7 и 14-е сутки. В тесте углового поворота на 35 и 42-е сутки в опытной группе отмечалась тенденция к увеличению частоты использования контралатеральной от стороны повреждения лапы. Уровень МДА в опытной группе на 3-и сутки был в 1,3 раза ниже ($p < 0,05$), чем в контрольной группе. При измерении активности ЛДГ и количества лейкоцитов в крови статистически значимых изменений на всем протяжении эксперимента не установлено.

Полученные результаты исследования свидетельствуют о положительном эффекте трансплантации криоконсервированных эмбриональных нейральных клеток на двигательную активность и перекисные процессы у животных с экспериментальным ИК.

Intracerebral hemorrhage (IH) is the cause of nearly 15% of all stroke cases. Even using the novel therapeutical approaches, the prognosis for the patients with IH remains unsatisfactory. Cell therapy involving cryopreserved neural cells can be helpful in reducing the severity of pathological processes in IH.

The purpose of the research was to study the therapeutic potential of cryopreserved neural cells of rat embryos in the model of intracerebral hemorrhage in experimental animals.

IH was simulated in outbred male white rats ($n = 16$) by stereotaxic administration of 0.2 units of collagenase in to the striatum. Neural cells were isolated from the brain of 14–15-day-old rat fetuses and cryopreserved under the protection of 10% DMSO, which was removed before using the cells. On day 2 after the formation of IH in experimental group rats, 1.5×10^6 neural cells were injected into the lateral ventricle of the brain, and for the rats of the control group a medium without the cells was introduced. To investigate the motor activity of rats the motor tests were used. The levels of malone dialdehyde (MDA), lactate dehydrogenase (LDH) and total leukocyte count were determined in the blood of animals at days 1, 2, 7, and 14.

In the first day after the IH simulation in rats of all the groups, we observed a significant disorder in body balance, coordination of movements and reproducing the subtle skills; as well as an increased concentration of MDA, LDH activity and the amount of leukocytes in the blood. The results of the staircase test showed that animals of the experimental group on day 1 and 7 after the surgery had eaten more granules in 2.4 ($p < 0.05$) and 1.3 times, respectively. The beam walking test to day 2 after the IH simulation showed a significant decrease in the number of slips from the crossbar in the experimental group by 2.3 times ($p < 0.05$) with a positive tendency of 7 and 14 days. In the corner turn test to day 35 and 42 in the experimental group there was a tendency to an increased frequency of using the paw contralateral to the injured side. The MDA level in the experimental group for 3 days was 1.3 times lower ($p < 0.05$) than in the control group. Measuring the activity of LDH and the amount of leukocytes in the blood revealed no statistically significant changes throughout the experiment.

The obtained results indicate a positive effect of transplantation of cryopreserved embryonic neural cells on motor activity and peroxide processes in animals with experimental IH.

