



Н. С. ТУРЧИНА<sup>1</sup>, С. І. САВОСЬКО<sup>1</sup>, Т. М. ЧЕРЕНЬКО<sup>1</sup>,  
С. Л. РИБАЛКО<sup>2</sup>, Д. Б. СТАРОСИЛА<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, Київ

<sup>2</sup> ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб  
імені Л. В. Громашевського НАМН України», Київ

## Патологічні зміни головного мозку мишей на тлі моделювання ішемії з асоційованою вірусною інфекцією

**Мета** — експериментально дослідити структурні зміни кори головного мозку мишей при використанні жирової дієти (ЖД), зараженні герпетичною інфекцією та ішемізації.

**Матеріали і методи.** У дослідженні використано 194 тварини (миші лінії Balb/c). У серіях послідовних експериментів сформовано 7 груп: 1-ша (n = 52) — ЖД з холестерином, 2-га (n = 30, померли 7 тварин) — зараження вірусом простого герпесу 1 типу (ВПГ-1), 3-тя (n = 30) — одностороння оклюзія загальної сонної артерії (ОЗСА), 4-та (n = 20, померли 10 тварин) — зараження ВПГ-1 та ОЗСА, 5-та (n = 5) — зараження ВПГ-1 та використання ЖД, 6-та (n = 16, померли 10 тварин) — зараження ВПГ-1, ОЗСА та використання ЖД, група додаткового контролю — інтактні тварини (n = 5). Здійснено морфометричну оцінку мікропрепаратів для визначення щільності нейронів неокортекса з дегенеративними змінами та без них тим'яної та скроневої ділянок кори головного мозку та гіпокампа.

**Результати.** Морфометричний аналіз мікропрепаратів дав змогу виділити основні зони та анатомічні утворення мозку, які зазнали пошкодження в експериментальних моделях. Зміни виявлено переважно у неокортексі тим'яної та скроневої ділянок кори головного мозку та гіпокампа. Для оцінки типу пошкодження мозку нейронів виділено вогнищеві та дифузні зміни. Зроблено спробу оцінити динаміку змін щільності нейронів із ознаками дегенерації та без них у тим'яній та/або скроневої ділянках кори головного мозку лабораторних тварин при використанні ЖД, інфікуванні ВПГ-1 та ОЗСА.

**Висновки.** На основі даних мікроскопічного дослідження скроневої та/або тим'яної ділянок кори головного мозку лабораторних тварин встановлено, що поєднання таких чинників, як ЖД, нейроінфекція та ішемізація, спричинило збільшення щільності нейронів з ознаками дегенерації та вплинуло на динаміку їх утворення. За результатами морфометричного дослідження кори головного мозку лабораторних мишей виявлено статистично значуще збільшення ішемічного пошкодження нейронів: у разі інфікування ВПГ-1 та використання ЖД — локального характеру, у разі ОЗСА — дифузного характеру. Збільшення ступеня пошкодження неокортекса при ішемізації головного мозку мишей із герпетичною інфекцією та використанням ЖД свідчить про можливий зв'язок між ними.

**Ключові слова:** кора головного мозку мишей, атеросклероз, жирова дієта, герпетична інфекція, ішемізація.

У світовій науковій літературі зростає кількість даних про те, що деякі інфекційні збудники є чинниками розвитку атеросклерозу (АС) та гострої цереброваскулярної патології (ЦВП), а предиктори гострої серцево-судинної патології вважають маркерами запалення. Неоднозначні результати досліджень із вивчення взаємозв'язку між інфекцією та АС зумовили спроби змодельовати асоційований з інфекцією атерогенез на тваринах [9, 16].

© Н. С. Турчина, С. І. Савосько, Т. М. Черенько, С. Л. Рибалко,  
Д. Б. Старосила, 2019

В експериментах показано, що вірус Марека (герпесвірус птахів) спричиняє атеросклеротичні зміни у курчат [8]. D. G. Alber та співавт. у дослідженні 2000 року продемонстрували, що інфікування γ-герпесвірусом-68 мишей призводить до розвитку АС в апоЕ<sup>-/-</sup>-мишей [3]. D. G. Alber та співавт. (2002) виявили, що розвиток АС є результатом специфічного вияву певної вірусної інфекції, а не системної імунної відповіді на будь-який герпесвірус [4]. В експериментальному дослідженні, яке провели М. В. Авдєєва та співавт. у 2012 році, встановлено вплив різних інфекційних агентів на

розвиток і прогресування АС [1]. У дослідженні R. Sorrentino та співавт. 2015 року продемонстровано, що інфекція *Chlamydia pneumoniae* має здатність індукувати АС навіть за відсутності гіперхолестеринемії [21].

Однією з можливих причин пошкодження артеріальної стінки і, як наслідок, розвитку атерогенезу вважають вірус герпесу [22]. Роль вірусів герпесу як етіологічних чинників АС підтверджують численні дані, отримані у дослідженнях останніх років. Встановлено, що віруси родини Herpesviridae (вірус простого герпесу (ВПГ) 1 та 2 типу, 3 типу (VZV), вірус Епштейна — Барр, цитомегаловірус) беруть участь у процесах пошкодження артеріальної стінки, розвитку запалення в ендотелії та зниженні його коагуляційних властивостей, акумулюванні холестерину, збільшенні тромбогенезу [5, 13, 20]. За іншими даними, ВПГ 1 і 2 типу виявлено в аорті та сонній артерії хворих на АС судин [7, 15, 19]. У дослідженні *in vitro* встановлено, що ВПГ 1 типу (ВПГ-1) підсилює поглинання окиснених ліпопротеїдів низької густини ендотеліальними клітинами, а насичених холестеринових ефірів і триацилгліцеролів — непосмугованими клітинами [6, 12].

Таким чином, у літературі описано результати досліджень, присвячених вивченню зв'язку між персистенцією герпесвірусів та розвитком атерогенезу. Однак деякі суперечливі дані ставлять під сумнів безпосередню участь вірусного чинника в запуску цього процесу, що стало підставою для висунення гіпотези про потенційну роль інфекційних агентів в ініціюванні запалення судинної стінки та пошкодженні ендотелію. Зв'язок цих змін з ішемічним пошкодженням головного мозку недостатньо вивчений.

Результати клінічних досліджень свідчать про те, що тривале дотримання жирової дієти (ЖД) призводить до розвитку дисметаболічних процесів, які впливають на збільшення площі дифузних змін при пошкодженні головного мозку внаслідок ішемії. Локомоторна активність і біохімічні показники си-

роватки крові, зокрема вміст ТБК-активних продуктів, погіршуються при моделюванні ішемізації головного мозку на тлі ЖД.

У нашому дослідженні використано ЖД [2]. Виявлено, що на тлі ЖД мишей розвиваються ультраструктурні пошкодження ендотелію та непосмугованих клітин, накопичуються ліпідні депозити в аорті.

**Мета роботи** — експериментально дослідити структурні зміни кори головного мозку мишей при використанні жирової дієти, зараженні герпетичною інфекцією та ішемізації.

### Матеріали і методи

У дослідженні використано 194 тварини — миші лінії Balb/c. У серіях послідовних експериментів сформовано 7 груп:

- 1-ша (n=52) — використання ЖД із холестерином;
- 2-га (n=30/23) — інфікування ВПГ-1 (померли 7 тварин);
- 3-тя (n=30) — одностороння оклюзія загальної сонної артерії (ОЗСА);
- 4-та (n=20/10) — інфікування ВПГ-1 та ОЗСА (померли 10 тварин);
- 5-та (n=5) — інфікування ВПГ-1 та використання ЖД;
- 6-та (n=16/6) — інфікування ВПГ-1, ОЗСА і використання ЖД (померли 10 тварин);
- група додаткового контролю (n=5) — інтактні тварини.

Додатковими групами контролю для 4, 5 та 6-ї груп були 1, 2 і 3-тя групи, так само як група інтактних тварин. Для формування 4—6-ї груп первинно інфікували тварин у кількості 107 (після інфікування померли 53 (49,5%) миші), яких розділили на групи (рис. 1).

Для відтворення дисліпідемії та структурних змін кровоносних судин тварин 1-ї групи утримували на модифікованій ЖД з високим вмістом холестерину [2], на основі гранульованого комбікорму, котра додатково містила тваринні та рослинні жири, холестерин (тваринні жири — 30—45 г, мар-

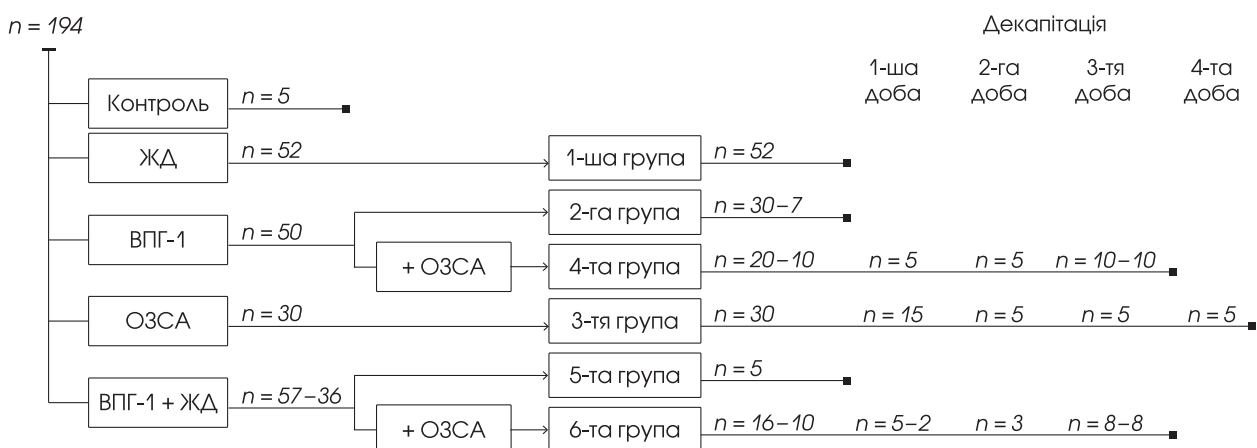


Рис. 1. Розподіл тварин на групи в експерименті

гарин — 15—20 г, холестерин — 1,5—2,0 г, карбонат кальцію — 1 г, мерказоліл — 10 мг у перерахунок на 100 г корму). Тривалість використання дієти становила 12 тижнів.

Тварин 2-ї групи інфікували ВПГ-1 описаним раніше способом [10, 11, 17]. Маніпуляції з інфікованими тваринами здійснювали в ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб імені Л. В. Громашевського НАМН України» (завідувач лабораторії експериментальної хіміотерапії вірусних інфекцій — д. мед. н., проф. С. Л. Рибалко). Наступний етап експерименту полягав у залученні у дослідження інфікованих тварин, які успішно перенесли нейроінфекцію.

ОЗСА тваринам 3, 4 та 6-ї груп здійснювали шляхом накладання лігатури на праву загальну сонну артерію (шовний матеріал 6/0, Ethilon, J & J) [14]. Хірургічний доступ до артерії проводили під наркозом (тіопентал натрію 40 мг/кг внутрішньочеревино, 2 % розчин лідокаїну 0,3 мл місцево). Тварин виводили з дослідів у 1-шу, на 2-гу, 3-тю і 4-ту добу після ОЗСА шляхом декапітації. Тривалість експерименту — 12 тижнів.

Головний мозок тварин контрольної та дослідних груп було відібрано для гістологічного дослідження. Зразки фіксували у 10 % розчині нейтрального формаліну. Після зневоднення у висхідних концентраціях етанолу, діоксану і ксилолу матеріал заливали у парафін. Парафінові зрізи (мікроріз тім'яної та скроневої ділянок кори головного мозку і гіпокампа — тест-зона — поле зору окуляра мікроскопу) завтовшки 4—6 мкм забарвлювали толуїдиновим синім за Нісслем, гематоксиліном та еозином [18].

Здійснювали морфометричну оцінку мікропрепаратів для визначення щільності нейронів неокортекса тім'яної та скроневої ділянок кори головного мозку та гіпокампа. Для цього за допомогою мікроскопа Olympus BX51 отримували фотографії однотипних зон неокортекса (тест-зона — 420 × 560 мкм). З кожного зразка отримували від 1 до 6 тест-зон однотипних ділянок кори головного мозку, які включали III—V шари неокортекса. За допомогою програмного забезпечення CarlZeiss (AxioVision SE64 Rel.4.9.1) визначали середню кількість нейронів у тест-зоні (мікрофотографії) та кількість нейронів із дегенеративними змінами (цитопатологічними ознаками: гіперхроматоз, деформація, набряк нейронів) щодо загальної кількості нейронів без дегенеративних змін у тест-зоні (одиниць на тест-зону).

Для статистичної обробки даних використовували програму Origin Lab 8.0. Нормальність розподілу даних оцінювали за критерієм Колмогорова—Смирнова. Відмінності між вибірками оцінювали за допомогою непараметричного тесту Краскела—Уолліса. Дані наведено у вигляді медіани (Me) та міжквартильних інтервалів (Q1—Q3). Різницю вважали статистично значущою за  $p < 0,05$ .

## Результати та обговорення

Морфометричний аналіз мікропрепаратів дав змогу виділити головні зони та анатомічні утворення головного мозку, які зазнали пошкодження в експериментальних моделях. Зміни виявлено переважно у неокортексі тім'яної та скроневої ділянок і гіпокампа. У досліджених зразках головного мозку виявлено морфологічні ознаки запальної реакції та нейродегенерації (неоднорідного пошкодження нейронів) у вигляді: 1) гіперхроматозу і деформації перикаріонів та нейритів; 2) каріопікнозу або каріолілізу.

Для оцінки типу пошкодження мозку нейронів основні зміни розділили на вогнищеві та дифузні. У першому випадку деформовані нейрони розташовувались окремими групами у тім'яному та скронево-мозковому неокортексі, окремих секторах гіпокампа, у другому випадку тотальну загибель нейронів і гліоцитів виявляли у вигляді суцільних шарів неокортекса або множинних зон, що не дало змоги оцінити такі зміни, як окремі фокуси дегенерації.

Таким чином, у дослідженні зроблено спробу оцінити зменшення щільності нейронів без дегенеративних змін у корі головного мозку лабораторних тварин після інфікування ВПГ-1, використання ЖД та моделювання ішемії.

У корі головного мозку тварин експериментальних груп виявлено такі структурні зміни:

**1-ша група.** У 26 (42,5 %) з 52 мишей, в яких використовували дієту, на рівні тім'яної та/або скроневої ділянок неокортекса виявлено дегенеративні нейрони. В 11 (42,3 %) із 26 зразків зміни оцінено як дифузні, у решті зразків — як фокальні. В 11 (21,1 %) із 52 тварин виявлено ознаки запалення, зокрема в 9 (17,3 %) — фокальну інфільтрацію моноцитів і лімфоцитів у тім'яній та/або скроневої ділянках кори, гіпокампа, мозолястому тілі та підкіркових структурах (латеральній та дорсо-медіальній зонах таламічної ділянки), навколосудинній м'якій оболонці стовбура, судин кори, великої борозни, хоріоїдальних артерій III шлуночка (від 2 до 6 вогнищ у проекції фронтального зрізу головного мозку). У 4 (7,6 %) зразках із 52 уздовж судин спостерігали вогнища інфільтрації тканинних базофілів (від 3 до 16 клітин), зокрема з дегрануляцією;

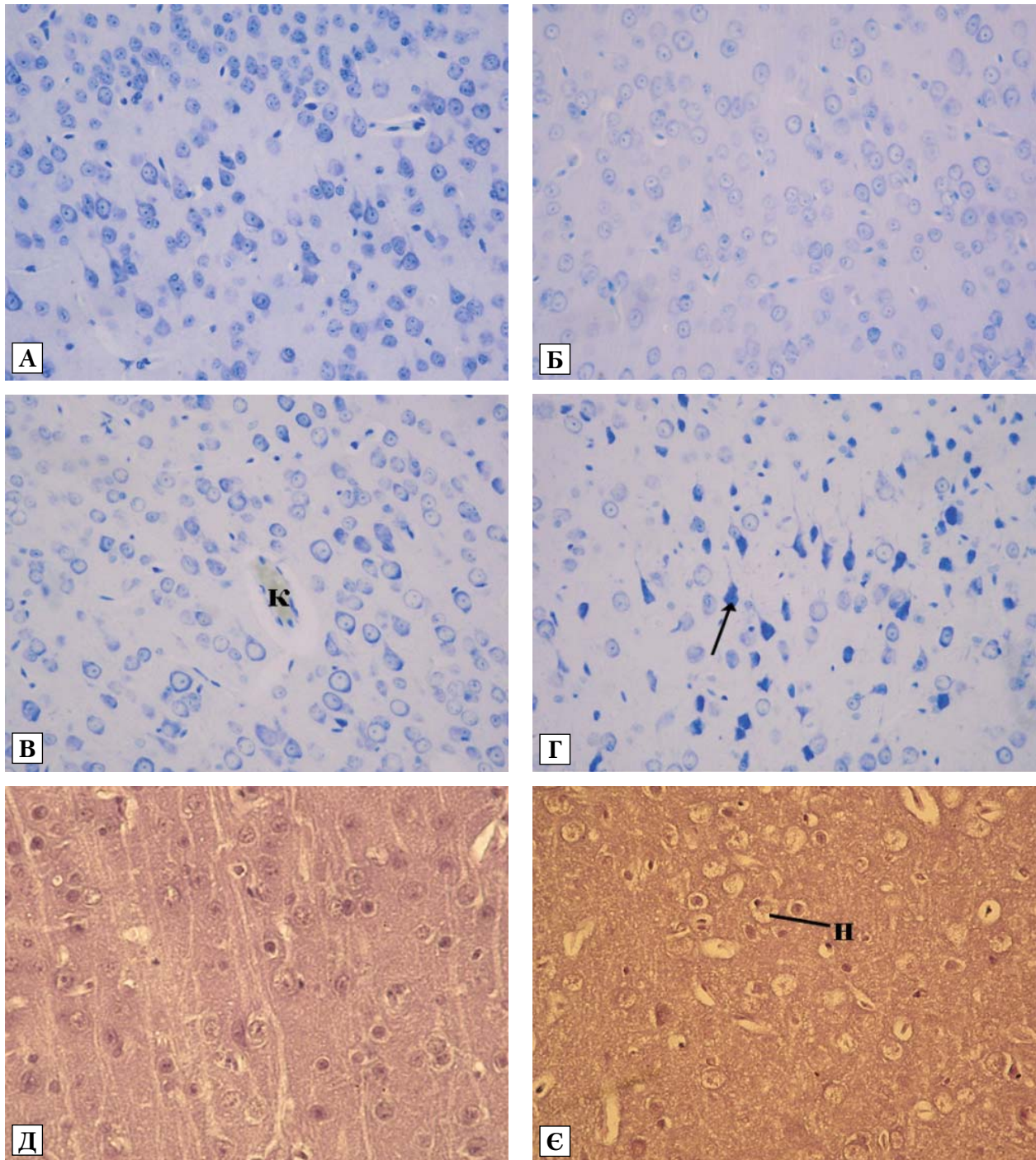
**2-га група.** У 15 (50 %) тварин, які успішно перенесли інфікування ВПГ-1 та яким проведено декапітацію, встановлено дегенерацію нейронів у тім'яній та/або скроневої ділянках кори головного мозку і гіпокампа. В 11 (73,3 %) спостереженнях дегенерацію оцінено як дифузну, а у 4 (26,6 %) — як локальну (фокальну). У 12 (82 %) тварин виявлено запальну реакцію: фокальну інфільтрацію макрофагів/мікрогліоцитів навколо окремих судин малого калібру (капілярів, артеріол, венул) у корі головного мозку, мозолястому тілі, латеральних ділянках таламічної зони;

**3-тя група.** Структурні зміни неокортекса різнилися залежно від доби після проведення ОЗСА.

Дегенеративні зміни оцінено як дифузні та вогнищеві: у мишей, яким проведено декапітацію у 1-шу добу ( $n=8$ ), — 40,0 і 13,3 % відповідно, ( $n=7$ ) — 46,7 % без змін, на 2-гу добу ( $n=5$ ) — 60,0 і 40,0 %, на 3-тю добу ( $n=5$ ) — 60,0 і 40,0 %, на 4-ту добу ( $n=5$ ) — 83,4 і 16,6 %. Таким чином, залежно від часу після ОЗСА дегенеративні зміни нейронів (ка-

ріопікноз і гіперхроматоз або гідропічна дистрофія) прогресували від фокальних до дифузних. Морфологічні ознаки запальної реакції виявлено лише в 1 (6,7 %) із 15 зразків у 1-шу добу;

**4-та група.** Частота дифузних і вогнищевих змін неокортекса відповідно становила: у 1-шу добу ( $n=5$ ) — 60,0 і 20,0 %, ( $n=1$ ) — 20,0 % без змін, на



**Рис. 2.** Тім'яна ділянка кори головного мозку тварин контрольної та дослідних груп: А — контроль; Б — з використанням ЖД, збільшення розмірів ядер нейронів; В — ОЗСА у 1-шу добу, кора головного мозку без пошкоджень; Г — ОЗСА у 1-шу добу, дегенерація нейронів (показано стрілкою); Д, Е — ОЗСА на 3-тю і 4-ту добу відповідно, набряк і деструкція нейронів у ділянці ішемічного пошкодження кори головного мозку; к — капіляр; н — набряк нейрона. Забарвлення толуїдиновим синім (1—4), гематоксиліном та еозином (5, 6).  $\times 400$

2-гу добу ( $n = 5$ ) — 40,0 і 60,0%. Якщо у 1-шу добу реєстрували лише 1 фокус інфільтрації, то на 2-гу добу — від 3 до 14 вогнищ. На 3-тю і 4-ту добу оцінку не проводили через 100% ( $n = 10$ ) летальність тварин;

**5-та група.** У 100% тварин у корі головного мозку виявлено нейрони з дегенеративними змінами, у 3 — інфільтрацію лейкоцитів (від 2 до 6 фокальних ділянок у мікропрепараті);

**6-та група.** У неокортексі вогнищеві зміни домінували над дифузними відповідно: у 1-шу добу ( $n = 3$ ) — 66,7 і 33,3%, на 2-гу добу ( $n = 3$ ) — 100% вогнищева дегенерація навколо інфільтратів моноцитів і лімфоцитів. На 2-гу добу в усіх досліджених зразках реєстрували від 4 до 8 вогнищ запалення. Експеримент на 3-тю завершився 100% ( $n = 10$ ) летальністю тварин, що свідчило про тяжкість їх соматичного стану, тому морфометричне дослідження мікропрепаратів не проводили.

На рис. 2 проілюстровано морфологічні ознаки структурних змін нейронів великого мозку в мишей дослідних груп.

У табл. 1 і 2 наведено щільність нейронів з ознаками дегенерації у тім'яній та/або скроневій частках неокортекса та гіпокампа. Встановлено статистично значуще збільшення кількості пошкоджених нейронів ( $p < 0,05$ ) і зменшення загальної щільності нейронів без ознак дегенерації у досліджених тест-зонах ( $p < 0,05$ ) у 6-й групі з комбінованими моделями порівняно з моделями без поєднання патологічних ознак 1, 2 та 3-ї груп. Порівняльний аналіз цих даних із 4, 5 та 6-ю групами встановив статистично значуще збільшення відносної кількості нейронів із дегенеративними ознаками. Ці

зміни свідчать про більш значне пошкодження пірамідних нейронів неокортекса у разі поєднання декількох патологічних чинників.

Аналіз даних гістологічних досліджень проводили за такими показниками: 1) середня площа нейронів із дегенеративними змінами та без таких у тім'яній та/або скроневій ділянках кори головного мозку та гіпокампа; 2) відносної кількості нейронів з ознаками дегенерації вогнищевого та дифузного характеру і виявлення інфільтрації лейкоцитів навколо кровоносних судин. На підставі результатів аналізу встановлено, що площа пошкодження кори головного мозку збільшується у разі поєднання трьох чинників, використаних в експерименті, а також те, що вірусна інфекція зумовлює переважно локальне поширення патологічних змін, а ОЗСА — їх дифузний характер. Виявлено, що на тлі ЖД у тварин 1-ї групи розвинулись ультраструктурні пошкодження ендотелію та непосмугованих клітин, спостерігалось накопичення ліпідних депозитів в аорті, що можна розглядати як початковий етап атерогенезу. ОЗСА у тварин 3-ї групи можна вважати патогенетично відповідною моделлю ішемії головного мозку.

Таким чином, зменшення щільності пірамідних нейронів у тім'яній та/або скроневій ділянках кори головного мозку та гіпокампа у експериментальній моделі з комбінацією ЖД, вірусної асоціації та ішемізації було статистично значуще більшим порівняно з моделями, у формуванні яких використано лише один чинник ризику. Статистично значуще збільшення щільності нейронів з ознаками дегенерації після ОЗСА в тварин, у яких використовували

Т а б л и ц я 1  
Щільність пірамідних нейронів III—V шарів неокортекса (Me (Q1—Q3))

| Група                  | Кількість нейронів у тест-зоні      | Частка нейронів з ознаками дегенерації, % |
|------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------------|
| Контроль ( $n = 5$ )   | 201 (188,0—205,0)                   | 3,9 (3,0—4,3)                             |
| ВПГ-1 ( $n = 30$ )     | 172 (159,0—182,0) <sup>к</sup>      | 10,8 (8,0—12,8) <sup>к</sup>              |
| ЖД ( $n = 52$ )        | 184 (176,2—190,0) <sup>к&amp;</sup> | 7,3 (5,1—12,9) <sup>к</sup>               |
| ОЗСА                   | 1-ша доба ( $n = 15$ )              | 182 (174,5—191,0) <sup>к</sup>            |
|                        | 2-га доба ( $n = 5$ )               | 171 (168,2—184,2) <sup>к</sup>            |
|                        | 3-тя доба ( $n = 5$ )               | 174 (159,7—181,7) <sup>к1</sup>           |
|                        | 4-та доба ( $n = 5$ )               | 159 (135,0—174,0) <sup>к123</sup>         |
| ВПГ-1 + ОЗСА           | 1-ша доба ( $n = 5$ )               | 170 (160,2—173,5) <sup>к1</sup>           |
|                        | 2-га доба ( $n = 5$ )               | 178,5 (166,0—185,5) <sup>к</sup>          |
| ВПГ-1 + ЖД ( $n = 5$ ) | 165 (160,5—179,0) <sup>к</sup>      | 26,8 (20,7—35,0) <sup>к*</sup>            |
| ВПГ-1 + ЖД + ОЗСА      | 1-ша доба ( $n = 3$ )               | 160,5 (155,5—170,2) <sup>к1*</sup>        |
|                        | 2-га доба ( $n = 3$ )               | 151 (134,5—165,5) <sup>к2*#&amp;</sup>    |

Статистично значуща різниця ( $p < 0,05$ ) щодо:

<sup>к</sup> групи контролю; <sup>1</sup> 1-ї доби після ОЗСА; <sup>2</sup> 2-ї доби після ОЗСА; <sup>3</sup> 3-ї доби після ОЗСА;

\* ВПГ-1; # ВПГ-1 + ОЗСА; & ВПГ-1 + ЖД.

Т а б л и ц я 2  
Щільність пірамідних нейронів III—V шарів залежно від характеру поширення дегенеративних змін (Me (Q1—Q3))

| Група                          |                   | Кількість нейронів у тест-зоні   | Частка нейронів з ознаками дегенерації, % |
|--------------------------------|-------------------|----------------------------------|-------------------------------------------|
| Контроль (n = 5)               |                   | 201 (188,0—205,0)                | 3,9 (3,0—4,3)                             |
| Дифузна дегенерація нейронів   |                   |                                  |                                           |
| ВПГ-1 (n = 11)                 |                   | 169 (158,7—178,7) <sup>к</sup>   | 11,2 (8,8—13,1)                           |
| ЖД (n = 11)                    |                   | 185 (179,0—198,0)                | 9,1 (6,2—11,4) <sup>к</sup>               |
| ОЗСА                           | 1-ша доба (n = 6) | 175 (168,2—182,0) <sup>к</sup>   | 16,4 (12,9—20,8) <sup>к</sup>             |
|                                | 2-га доба (n = 3) | 171 (168,0—182,0) <sup>к</sup>   | 9 (8,3—11,1) <sup>к</sup>                 |
|                                | 3-тя доба (n = 3) | 164 (156,5—182,5) <sup>к</sup>   | 21,3 (17,2—46,3) <sup>к</sup>             |
|                                | 4-та доба (n = 4) | 163,5 (136,2—174,0) <sup>к</sup> | 25,6 (20,1—36,8) <sup>к</sup>             |
| ВПГ-1 + ОЗСА                   | 1-ша доба (n = 3) | 166 (159,2—173,5) <sup>к</sup>   | 18,6 (5,9—31,1) <sup>к</sup>              |
|                                | 2-га доба (n = 2) | 179 (164,5—187,5) <sup>к</sup>   | 13,4 (6,4—18,7) <sup>к</sup>              |
| ВПГ-1 + ЖД (n = 23)            |                   | 170,5 (157,0—183,7) <sup>к</sup> | 20,7 (18,9—23,2)                          |
| ВПГ-1 + ЖД + ОЗСА              | 1-ша доба (n = 1) | 163 (146,7—170,2) <sup>к</sup>   | 26,4 (24,8—28,1) <sup>к</sup>             |
|                                | 2-га доба (n = 0) | —                                | —                                         |
| Вогнищева дегенерація нейронів |                   |                                  |                                           |
| ВПГ-1 (n = 4)                  |                   | 154,5 (139,0—199,2) <sup>к</sup> | 7,9 (3,3—12,5) <sup>к</sup>               |
| ЖД (n = 15)                    |                   | 176 (171,0—185,0) <sup>к</sup>   | 13,6 (10,9—17,2) <sup>к*</sup>            |
| ОЗСА                           | 1-ша доба (n = 2) | 190 (182,0—196,0)                | 12,7 (8,1—17,3) <sup>к</sup>              |
|                                | 2-га доба (n = 2) | 171 (166,0—185,5) <sup>к</sup>   | 18,9 (9,8—21,8) <sup>к</sup>              |
|                                | 3-тя доба (n = 2) | 179 (171,5—182,0) <sup>к</sup>   | 20,1 (18,1—20,9) <sup>к</sup>             |
|                                | 4-та доба (n = 1) | 140 (98,0—140,0) <sup>к</sup>    | 69,3 (43,3—72,8) <sup>к*</sup>            |
| ВПГ-1 + ОЗСА                   | 1-ша доба (n = 1) | 161 (160,0—171,0) <sup>к</sup>   | 23,1 (20,4—24,2) <sup>к</sup>             |
|                                | 2-га доба (n = 3) | 174 (169,0—184,0) <sup>к</sup>   | 16,8 (14,9—18,9) <sup>к</sup>             |
| ВПГ-1 + ЖД (n = 5)             |                   | 165 (164,0—170,0) <sup>к</sup>   | 34,1 (28,3—36,3) <sup>к*</sup>            |
| ВПГ-1 + ЖД + ОЗСА              | 1-ша доба (n = 2) | 150 (142,0—157,0) <sup>к</sup>   | 28,6 (25,3—34,5) <sup>к</sup>             |
|                                | 2-га доба (n = 3) | 137 (129,0—163,0) <sup>к</sup>   | 43,0 (39,5—54,6) <sup>к</sup>             |

Статистично значуща різниця ( $p < 0,05$ ) щодо:

<sup>к</sup> групи контролю;

\*  $p < 0,05$  щодо тварин з дифузною дегенерацією (той самий термін спостереження).

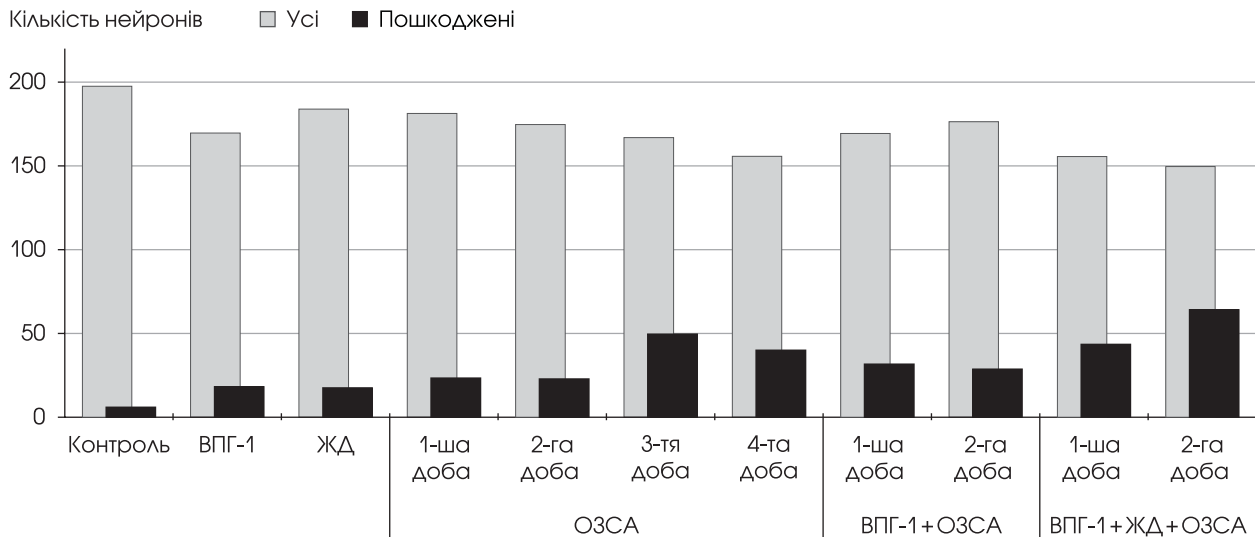
ЖД та які успішно перенесли інфікування ВПГ-1, підтверджує збільшення дегенеративних змін кори головного мозку у разі поєднання кількох патологічних чинників.

Зроблено спробу оцінити динаміку змін щільності нейронів з дегенеративними змінами та без таких у тім'яній та/або скроневій ділянках кори головного мозку лабораторних тварин у разі використання ЖД, інфікування ВПГ-1 та ОЗСА (рис. 3—5).

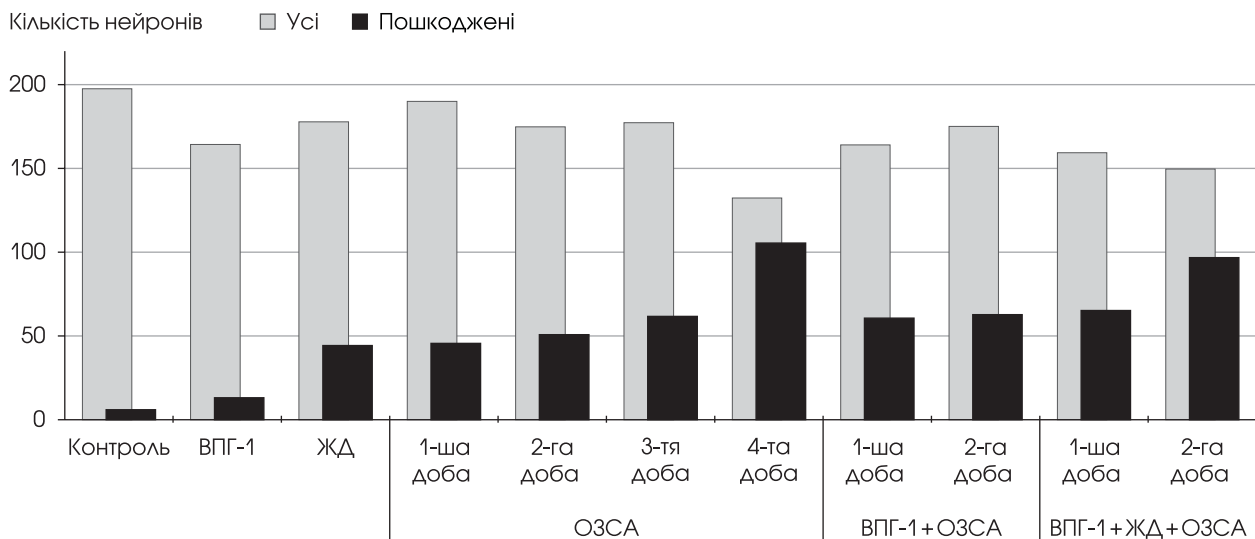
Збільшення дегенеративних змін та набряку нейронів разом з інфільтраціями моноцитів та лімфоцитів із локальним їх поширенням, виявлене на мікроскопічному рівні у 5-й групі тварин вже в 1-шу добу, можна пояснити реактивацією ВПГ-1. Це також підтверджують раніше проведені експерименти [10, 11, 23]. Встановлено статистично значуще

збільшення дегенеративних змін у корі головного мозку мишей у 6-й групі вже в 1-шу добу порівняно з 1—3-ю групами. У 3-й групі дегенеративні зміни спостерігали на 2-гу добу. Тенденцію до збільшення площі нейронів з дегенеративними змінами у головному мозку мишей 6-ї групи відзначено вже в 1-шу добу, тоді як у 3-й групі — лише на 4-ту добу. У тварин після односторонньої ОЗСА площа тест-зони дегенеративно змінених нейронів головного мозку на 4-ту добу майже не відрізнялася від такої у мишей із застосуванням ЖД, інфікуванням ВПГ-1 та ОЗСА на 2-гу добу (до 50 % тест-зони). Отримані дані свідчать про швидшу дегенерацію нейронів за наявності трьох патологічних чинників.

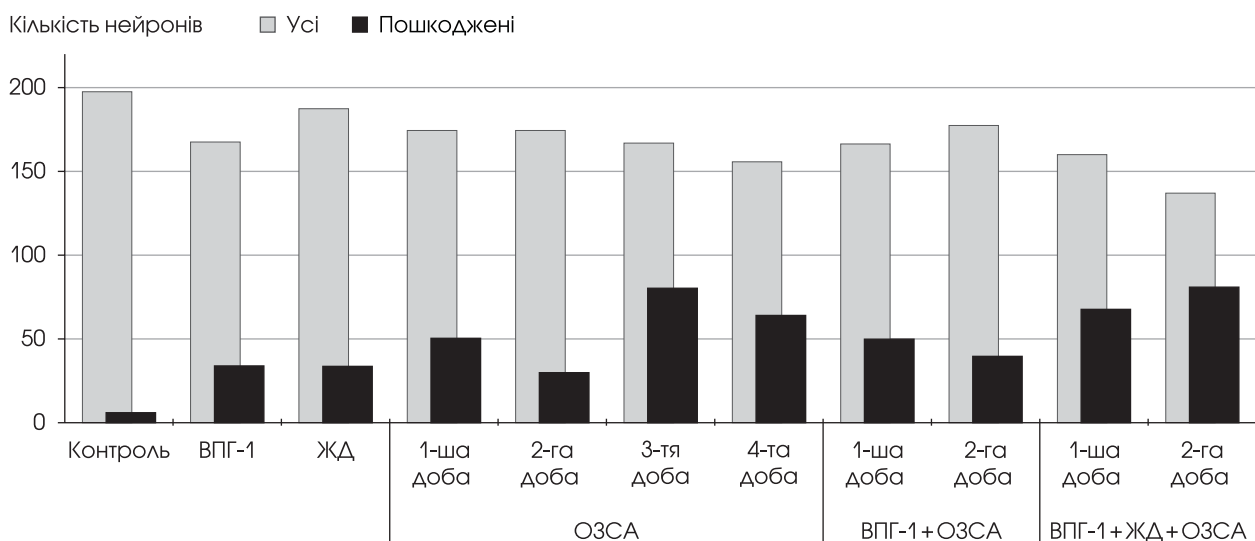
Статистично значуще збільшення щільності нейронів з ознаками дегенерації дифузного характеру



**Рис. 3.** Морфометрична оцінка динаміки нейродегенеративних змін у корі великого мозку мишей



**Рис. 4.** Морфометрична оцінка нейродегенеративних дифузних змін у корі великого мозку мишей



**Рис. 5.** Морфометрична оцінка нейродегенеративних вогнищевих змін у корі великого мозку мишей

поширення патологічних змін (понад 50 % тест-зони) на 3-тю–4-ту добу корелює з проведенням ОЗСА. Порівняльний аналіз показників у 1–5-й та 6-й групах свідчить про статистично значуще збільшення відносної кількості нейронів (до 50 % тест-зони) з дегенеративними змінами, яке корелює з більшою кількістю патологічних чинників (поєднання ЖД, ВПГ-1, ОЗСА) і призводить до швидшого пошкодження пірамідних нейронів неокортекса локального характеру на противагу дифузному.

### Висновки

На основі результатів мікроскопічного дослідження скроневої та/або тім'яної ділянок кори головного мозку лабораторних тварин виявлено, що поєднання таких чинників, як ЖД, інфекція та іше-

мізація, призводить до збільшення щільності нейронів із дегенеративними змінами та впливає на динаміку їх поширення.

Морфометричний аналіз мікропрепаратів кори головного мозку лабораторних мишей встановив статистично значуще збільшення ішемічного пошкодження нейронів: в експериментальній моделі з інфікуванням ВПГ-1 та ЖД — локального характеру, після ОЗСА — дифузного характеру.

Збільшення площі пошкодження неокортекса при ішемізації головного мозку в мишей із ВПГ-1 та ЖД свідчить про можливий зв'язок між ними.

Результати проведених експериментальних досліджень розширюють уявлення про вплив вірусної асоціації на патогенез атеротромботичного ішемічного інсульту та роль судинної стінки у цих процесах.

Конфлікту інтересів немає.

Участь авторів: концепція і дизайн дослідження — Н. Т., С. С., Т. Ч.; збір матеріалу — Н. Т., С. С., С. Р., Д. С.; обробка матеріалу — Н. Т., С. С., С. Р.; статистичне опрацювання даних, написання тексту — Н. Т., С. С.; редагування тексту — Н. Т.

### Література

1. Авдеева М. В., Самойлова И. Г., Щеглов Л. С. Патогенетические аспекты взаимосвязи инфекционных заболеваний ротовой полости с развитием и прогрессированием атеросклероза и возможности их комплексной профилактики // Журнал инфектологии. — 2012. — № 3. — С. 30–34.
2. Турчина Н. С., Савосько С. І. Дослідження початкових етапів атерогенезу на тлі жирової дієти // Фізіологічний журнал. — 2018. — № 2. — С. 54–64.
3. Alber D. G., Powell K. L., Vallance P. et al. Herpesvirus infection accelerates atherosclerosis in the apolipoprotein E-deficient mouse // Circulation. — 2000. — N 7. — P. 779–785.
4. Alber D. G., Vallance P., Powell K. L. Enhanced atherogenesis is not an obligatory response to systemic herpesvirus infection in the apoE-deficient mouse: comparison of murine gamma-herpesvirus-68 and herpes simplex virus-1 // Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. — 2002. — Vol. 22, N 5. — P. 793–798.
5. Al-Ghamdi A. Role of herpes simplex virus-1, cytomegalovirus and Epstein-Barr virus in atherosclerosis // Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences. — 2012. — Vol. 25, N 1. — P. 89–97.
6. Chirathaworn C., Pongpanich A., Poovorawan Y. Herpes simplex virus 1 induced LOX-1 expression in an endothelial cell line, ECV 304 // Viral Immunology. — 2004. — Vol. 17, N 2. — P. 308–314.
7. Chiu B., Viira E., Tucker W., Fong I. W. Chlamydia pneumoniae, cytomegalovirus, and herpes simplex virus in atherosclerosis of the carotid artery // Circulation. — 1997. — Vol. 96, N 7. — P. 2144–2148.
8. Fabricant C. G., Fabricant J., Litrenta M. M., Minick C. R. Virus-induced atherosclerosis // The Journal of Experimental Medicine. — 1978. — N 1. — P. 335–340.
9. Febbraio M., Silverstein R. L. CD36: implications in cardiovascular disease // The International Journal of Biochemistry & Cell Biology. — 2007. — Vol. 39, N 11. — P. 2012–2030.
10. Gumenyuk A. V., Motorna N. V., Rybalko S. L. et al. Development of herpetic infection associated with stroke and its correction with acyclovir // Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences. — 2017. — Vol. 30, N 1. — P. 20–23.
11. Gumenyuk A. V., Motorna N. V., Rybalko S. L. et al. Mutual influence of herpes virus infection activation and cerebral circulation impairment on the state of brain cells // Biopolymers and Cell. — 2016. — Vol. 32(2). — P. 126–130.
12. Hajjar D. P., Pomerantz K. B., Falcone D. J. et al. Herpes simplex virus infection in human arterial cells. Implications in arteriosclerosis // The Journal of Clinical Investigation. — 1987. — Vol. 80, N 5. — P. 1317–1321.
13. Key N. S., Vercellotti G. M., Winkelmann J. C. et al. Infection of vascular endothelial cells with herpes simplex virus enhances tissue factor activity and reduces thrombomodulin expression // Proceedings of the National Academy of Sciences USA. — 1990. — Vol. 87(18). — P. 7095–7099.
14. Koch K., Berressem D., Konietzka J. et al. Hepatic ketogenesis induced by middle cerebral artery occlusion in mice // Journal of the American Heart Association. — 2017. — Vol. 6(4). — e005556.
15. Kotronias D., Kapranos N. Herpes simplex virus as a determinant risk factor for coronary artery atherosclerosis and myocardial infarction // In Vivo. — 2005. — Vol. 19(2). — P. 351–358.
16. Lucas A., Dai E., Liu L. Y., Nation P. N. Atherosclerosis in Marek's disease virus infected hypercholesterolemic roosters is reduced by HMGCoA reductase and ACE inhibitor therapy // Cardiovascular Research. — 1998. — Vol. 38(1). — P. 237–246.
17. Motorna N. V., Rybalko S. L., Starosyla D. B. et al. The study of leukocyte phagocytic activity in the presence of herpetic infection and stroke // Wiadomości Lekarskie. — 2018. — Vol. 71(1 cz II). — P. 155–159.
18. Ooigawa H., Nawashiro H., Fukui S. et al. The fate of Nissl-stained dark neurons following traumatic brain injury in rats: difference between neocortex and hippocampus regarding survival rate // Acta Neuropathologica. — 2006. — N 4. — P. 471–481.
19. Shi Y., Tokunaga O. Herpesvirus (HSV-1, EBV and CMV) infections in atherosclerotic compared with non-atherosclerotic aortic tissue // Pathology International. — 2002. — Vol. 52(1). — P. 31–39.
20. Sorlie P. D., Nieto F. J., Adam E. et al. A prospective study of cytomegalovirus, herpes simplex virus 1, and coronary heart disease: the atherosclerosis risk in communities (ARIC) study // Archives of Internal Medicine. — 2000. — N 13. — P. 2027–2032.
21. Sorrentino R., Yilmaz A., Schubert K. et al. A single infection with Chlamydia pneumoniae is sufficient to exacerbate atherosclerosis in apoE-deficient mice // Cellular Immunology. — 2015. — N 1. — P. 25–32.
22. Wu Y. P., Sun D. D., Wang Y. et al. Herpes simplex virus type 1 and type 2 infection increases atherosclerosis risk: evidence based on a meta-analysis // BioMed Research International. — 2016. — 2630865.
23. Yao H. W., Ling P., Tung Y. Y. et al. In vivo reactivation of latent herpes simplex virus 1 in mice can occur in the brain before occurring in the trigeminal ganglion // Journal of Virology. — 2014. — Vol. 88(19). — P. 11264–11270.

Н. С. ТУРЧИНА<sup>1</sup>, С. І. САВОСЬКО<sup>1</sup>,  
Т. М. ЧЕРЕНЬКО<sup>1</sup>, С. Л. РЫБАЛКО<sup>2</sup>, Д. Б. СТАРОСИЛА<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Національний медичний університет імені А. А. Богомольця, Київ

<sup>2</sup> ГУ «Інститут епідеміології та інфекційних захворювань імені Л. В. Грошавського НАМН України», Київ

## Патологические изменения головного мозга мышей на фоне моделирования ишемии с ассоциированной вирусной инфекцией

**Цель** — экспериментально исследовать структурные изменения коры головного мозга мышей при использовании жировой диеты (ЖД), герпетической инфекции и ишемизации.

**Материалы и методы.** В исследовании использованы 194 животных (мыши линии Balb/c). В сериях последовательных экспериментов было сформировано 7 групп: 1-я (n=52) — ЖД с холестерином, 2-я (n=30, умерли 7 животных) — инфицирование вирусом простого герпеса 1 типа (ВПГ-1), 3-я (n=30) — односторонняя окклюзия общей сонной артерии (ООСА), 4-я (n=20, умерли 10 животных) — инфицирование ВПГ-1 и ООСА, 5-я (n=5) — инфицирование ВПГ-1 и использование ЖД, 6-я (n=16, умерли 10 животных) — инфицирование ВПГ-1, ООСА, использование ЖД, группа дополнительного контроля — интактные животные (n=5). Проводили морфометрический анализ микропрепаратов для оценки плотности нейронов неокортекса теменной и височной долей коры головного мозга и гиппокампа.

**Результаты.** Морфометрический анализ микропрепаратов позволил выделить основные зоны и анатомические образования мозга, подвергшиеся повреждению в экспериментальных моделях. Дегенеративные изменения выявлены преимущественно в неокортексе теменного и височного участков коры головного мозга и гиппокампе. Для оценки типа повреждения мозга нейронов выделены очаговые и диффузные изменения. Предпринята попытка оценить динамику изменений общей плотности нейронов с дегенеративными изменениями и без них в теменной и/или височной долях коры головного мозга лабораторных животных после применения ЖД, инфицирования ВПГ-1 и ООСА.

**Выводы.** На основе результатов микроскопического исследования височной и/или теменной долей коры головного мозга лабораторных животных установлено, что сочетание таких факторов, как ЖД, нейроинфекция и ишемизация, привело к увеличению общей плотности нейронов с дегенеративными изменениями и повлияло на динамику их образования. Морфометрический анализ микропрепаратов коры головного мозга лабораторных мышей установил статистически значимое увеличение ишемического повреждения нейронов: в экспериментальной модели с инфицированием ВПГ-1 и применением ЖД — локального характера, а после ООСА — диффузного характера. Увеличение степени повреждения неокортекса при ишемизации головного мозга у мышей с герпетической инфекцией и ЖД свидетельствует о возможной связи между ними.

**Ключевые слова:** кора головного мозга мышей, атеросклероз, жировая диета, герпетическая инфекция, ишемизация.

N. S. TURCHYNA<sup>1</sup>, S. I. SAVOSKO<sup>1</sup>,  
T. M. CHERENKO<sup>1</sup>, S. L. RIBALKO<sup>2</sup>, D. B. STAROSILA<sup>2</sup>

<sup>1</sup> O. O. Bogomolets National Medical University, Kyiv

<sup>2</sup> Gromashevskiy Institute for Epidemiological and Infectious Diseases NAMS of Ukraine

## Pathogenic changes in the brain of mice while modeling of ischemia with an associated viral infection

**Objective** — to investigate structural changes in the brain cortex of mice exposed to fat diet, herpes infection and ischemia.

**Methods and subjects.** We had 194 mice (Balb/c) for the experiment, distributed into 7 groups (6 + 1 control group): 1st group (n=52) with fat diet; 2nd group (n=30, 7 died) with HSV1; 3d group (n=30) with OGCA; 4th group (n=20, 10 died) with HSV1 and OGCA; 5th group (n=5) with HSV1 and fat diet with cholesterol; 6th group (n=16, 10 died) with HSV1, fat diet, and OGCA. The neuronal neocortex density of the parietal, temporal cortex and hippocampus were morphometrically evaluated on microscopic specimens.

**Results.** In the course of experiment, we discovered the main zones and anatomical formations of brain which received the most damage. Changes were mainly found in the neocortex of the parietal, temporal lobes and hippocampus. To assess the type of neuronal brain damage, the main changes were divided into focal and diffuse. Later in the study, we attempted to investigate the dynamics of changes in the density of neurons with degenerative changes in the parietal and/or temporal cortex of the brain, in the group with fat diet, HSV1 and OGCA.

**Conclusions.** Based on microscopic examination of the temporal and/or parietal cortex in laboratory animals, we established that the combination of factors such as fat diet, neuroinfectious diseases and ischemia resulted in increase in the density of neurons with degenerative changes and on the dynamics of their development. Using morphometric study of the cerebral cortex in laboratory mice, we determined a statistically significant increase in ischemic neuronal damage resulted in condition of an experimental model with infection with HSV-1 and fat diet, and under the condition of OGCA of diffuse character. The increase of the degree of neocortex damage in mice with herpes infection and fat diet evidences the interrelation of them.

**Key words:** brain cortex of mice, atherosclerosis, high-fat diet, herpes infection, ischemia.