

DOI: 10.31393/reports-vnmedical-2024-28(3)-04

УДК: 61.82:616.831-005.4:611.013.395:577.152.1:569.323.4

ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА ПОКАЗНИКІВ ВУГЛЕВОДНОГО ОБМІНУ, ОКСИДАТИВНОГО ТА НІТРОЗАТИВНОГО СТРЕСУ В СОМАТОСЕНСОРНІЙ КОРІ ТА ГІПОКАМПІ ЩУРІВ ІЗ ЦЕРЕБРАЛЬНОЮ ІШЕМІЄЮ-РЕПЕРFUZІЄЮ Й НА ТЛІ ЇЇ КОРЕКЦІЇ

Коновалов С. В., Мороз В. М., Йолтухівський М. В., Гаджула Н. Г.

Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, Україна, 21018)

Відповідальний за листування:
e-mail: serhii.konovall555@vnmdu.edu.ua

Статтю отримано 21 червня 2024 р.; прийнято до друку 26 липня 2024 р.

Анотація. Серед гострих порушень мозкового кровообігу найбільш поширеним є ішемічний інсульт, який призводить до важкої інвалідизації та смертності людей працездатного віку. Перспективним напрямком терапії ішемічно-реперфузійного пошкодження структур головного мозку, спрямованої на ендогенне нейровідновлення, стала клітинна терапія з використанням мезенхімальних стромальних клітин (МСК). Метою дослідження стало вивчення впливу субтотальної ішемії головного мозку в щурів з її подальшою реперфузією та корекцією на біохімічні процеси в соматосенсорній корі та гіпокампі за показниками вуглеводного обміну, оксидативного та нітрозативного стресу. Експеримент проведено на 200 статевозрілих щурах лінії Вістар із модельованою ішемією-реперфузією внутрішніх сонних артерій, яким трансплантували МСК з Вартонових драглів пуповини людини, МСК з жирової тканини людини та щура, ембріональні фібробласти щура, лізат МСК, цитиколін. На 7-му та 14-ту добу досліджували показники вуглеводного обміну, оксидативного та нітрозативного стресу в соматосенсорній корі та гіпокампі щурів. Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням Statistica 6.0 (StatSoft® Snc, США), параметричного t-критерію Ст'юдента та непараметричного U-тесту Манна-Уїтні. Встановлено, що ішемічно-реперфузійне пошкодження супроводжувалося збільшенням у тканинах головного мозку щурів глюкози та лактату, пригніченням процесу аеробного окиснення глюкози, посиленням анаеробного гліколізу, розвитком лактатацидозу, зменшенням рівня активності НАДФН-оксидази, розвитком нітрозуючого стресу з більш ніж двократною активацією NO-синтази та підвищенням продукції нітроген монооксиду. Більш виражені патобіохімічні зрушення виявлено в гіпокампі, ніж у соматосенсорній корі експериментальних тварин. Найкращий коригувальний вплив на рівень біохімічних показників у тканинах головного мозку мали референс-препарат цитиколін та МСК Вартонових драглів пуповини людини. Лікувальна внутрішньовенна трансплантація МСК Вартонових драглів пуповини людини, порівняно з іншими досліджуваними МСК та лізатом МСК, сприяла кращому відновленню порушених енергетичних процесів, усуненню метаболічного ацидозу та нітрозуючого стресу в гіпокампі, ніж у соматосенсорній корі щурів з ішемією-реперфузією головного мозку. У перспективі планується створити ін'єкційний препарат, найбільш ефективний за нейропротекторними властивостями, з класу МСК для лікування хворих на гострий ішемічний інсульт.

Ключові слова: мезенхімальні стромальні клітини, соматосенсорна кора, гіпокамп, ішемія-реперфузія, біохімічні показники, щури.

Вступ

За останні роки судинна патологія займає провідне місце серед нозологій і призводить до інвалідизації та смертності серед хворих у всьому світі [11]. Серед гострого порушення мозкового кровообігу найбільш поширеним є ішемічний інсульт, на який припадає біля 87% усіх випадків [14]. Головною причиною його розвитку є оклюзія мозкової артерії, що супроводжується важким каскадом біохімічних процесів, починаючи від гострого енергодефіциту та формуванням мітохондріальної дисфункції [1, 14] до подальшого запуску гіперпродукції активних форм кисню, оксиду азоту, ексайтотоксичності, зростання проникливості гематоенцефалічного бар'єру (ГЕБ), появи ознак нейрозапалення, що в підсумку призводить до загибелі нервових клітин [3]. Натепер єдиним методом лікування ішемічного інсульту є реканалізація оклюзованої мозкової артерії шляхом тромболілізу з використанням рекомбінантного тканинного активатора плазміногену (rtPA) чи застосуванням ендо-

васкулярної механічної тромбектомії при закупорці великих судин [6, 16]. Однак ці методи лікування охоплюють невелику кількість пацієнтів із гострим ішемічним інсультом, що пов'язано з вузьким терапевтичним вікном 3-4,5 години та протипоказами до застосування rtPA [16]. Відновлення кровопостачання ішемізованої тканини сприяє поглибленню метаболічних порушень у головному мозку, що формує реперфузійні пошкодження [12]. Так, результатом ішемічно-реперфузійного пошкодження є підвищена генерація активних форм кисню (АФК) й активних форм азоту, які призводять до апоптозу та некрозу нейронів [7]. Варто зауважити, що саме гіпокамп першочергово пошкоджується при нейродегенеративних процесах [15].

Перспективним напрямком терапії ішемічно-реперфузійного пошкодження структур головного мозку, який спрямований на ендогенне нейровідновлення, стала клітинна терапія з використанням мезенхімальних стро-

мальних клітин (МСК) [17]. Дослідження з використанням тваринних моделей показали перспективність та доцільність використання МСК через їх відновлювальні та імунomodуючі властивості [9, 10, 13]. Тому доцільно з'ясувати вплив МСК різного походження, лізату МСК та цитиколіну на більш вразливі для ішемічно-реперфузійного ушкодження частини головного мозку щурів. Це необхідно для кращого розуміння механізму їхнього захисного впливу на головний мозок.

Мета роботи - дослідити вплив субтотальної ішемії головного мозку в щурів з її подальшою реперфузією та корекцією на біохімічні процеси в соматосенсорній корі та гіпокампі на основі порівняльної оцінки показників вуглеводного обміну, оксидативного та нітрозативного стресу.

Матеріали та методи

Експеримент проведено на 200 щурах-самцях лінії Вістар віком 4 місяці й масою тіла 160-190 г на базі Вінницького національного медичного університету (ВНМУ) ім. М. І. Пирогова. Тварини утримувалися в стандартних умовах віварію з вільним доступом до води та їжі.

Усі маніпуляції з експериментальними тваринами проводили відповідно до Міжнародних правил і стандартів Директиви Ради Європейських Співтовариств від 18.03.1986 року 86/609/ЕЕС та принципів "Європейської Конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та наукових цілей" і Закону України від 21.11.2006 р. № 3447-IV "Про захист тварин від жорстокого поводження". Протокол дослідження ухвалений Комітетом з біоетики ВНМУ ім. М. І. Пирогова (протокол № 2 від 31 січня 2024 р.).

МСК і лізат МСК були отримані з інституту молекулярної біології і генетики (ІМБГ) НАН України. Передача клітин проведена на основі Договору про наукове співробітництво між ІМБГ НАН України та ВНМУ ім. М.І. Пирогова від 22.09.2017 року.

Щурів використовували як піддослідних тварин, оскільки ангіоархітекніка й морфологія кори головного мозку щурів і людини схожі. Експериментальна ішемічно-реперфузійна модель була створена шляхом білатерального накладання лігатур на внутрішні сонні артерії (ВСА) тривалістю 20 хв під анестезією пропофолом (Пропофол-ново, ТОВ "Новофарм-Біосинтез", Україна, 60 мг/кг) [9]. Обрана модель відображає клінічну картину інфаркту головного мозку та є оптимальною для експериментальних досліджень потенційних нейропротекторних речовин [8].

Дизайн дослідження представлено в таблиці 1.

На 7-му і 14-ту добу тварини були виведені з експерименту під пропофоловим наркозом (60 мг/кг внутрішньочеревинно) зі швидким вилученням головного мозку щурів одразу після декапітації. Визначали показники вуглеводного обміну, оксидативного та нітрозативного стресу в соматосенсорній корі та гіпокампі за умов ішемії-реперфузії (ІР) головного мозку й на тлі її корекції.

Таблиця 1. Розподіл щурів за дослідними групами при терапевтичному введенні досліджуваних речовин.

Групи тварин	Кількість тварин	Лікування
1-ша група	10	інтактні тварини
2-га група	10	псевдооперовані тварини + 0,9% р-н NaCl в дозі 2 мл/кг
3-тя група	40	ІР + 0,9% р-н NaCl в дозі 2 мл/кг
4-та група	20	ІР + МСК Вартонових драглів пуповини людини в дозі 10 ⁶ клітин/тварину
5-та група	20	ІР + ембріональні фібробласти щура в дозі 10 ⁶ клітин/тварину
6-та група	25	ІР + МСК з жирової тканини людини в дозі 10 ⁶ клітин/тварину
7-ма група	25	ІР + стовбурові клітини з жирової тканини щура в дозі 10 ⁶ клітин/тварину
8-ма група	25	ІР + лізат Вартонових драглів пуповини людини в дозі 0,2 мл/тварину
9-та група	25	ІР + цитиколін 250 мг/кг

Примітки: МСК - мезенхімальні стромальні клітини; ІР - ішемія-реперфузія.

Біохімічні дослідження проводили в науково-дослідній та клініко-діагностичній лабораторії ВНМУ ім. М. І. Пирогова, атестованій МОЗ України. Концентрацію глюкози визначали глюкозооксидазним методом з використанням стандартних наборів фірми "Філісіт-Діагностика" (Україна). Вміст лактату визначали колориметричним методом, НАДФН-оксидази - за ступенем поглинання НАДФН при 340 нм за Т. Fukui et al. (1997), сумарну активність NO-синтаз встановлювали за кількістю утвореного нітрит-аніону (NO₂⁻) після інкубації пост'ядерного супернатанту протягом 60 хв у середовищі, 1 мл якого містив 50 мМ КН₂РO₄-NaOH-буфер (рН 7,0), 1 мМ MgCl₂, 2 мМ CaCl₂, 1 мМ НАДФН, 2,2 мМ L-аргініну [5].

Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою комп'ютерної програми Statistica 6.0 (StatSoft® Snc, США). Вірогідність відмінностей оцінювали за допомогою параметричного t-критерію Ст'юдента та непараметричного U-тесту Манна-Уїтні. При значенні р<0,05 різниці між досліджуваними показниками вважали статистично вірогідними.

Робота є фрагментом ініціативної НДР "Патогенетичне обґрунтування доцільності використання стовбурових клітин різного походження при терапії гострої ішемії головного мозку (експериментальне дослідження)", номер держреєстрації: 0120U101861.

Результати. Обговорення

При дослідженні інтактних і псевдооперованих тварин не встановлено відмінностей між показниками вуглеводного обміну, оксидативного та нітрозативного стресу в соматосенсорній корі та гіпокампі головного мозку, тому групу псевдооперованих щурів прийнято за контроль.

Таблиця 2. Порівняння показників рівня глюкози в соматосенсорній корі та гіпокампі щурів за умов ІР головного мозку й на тлі корекції ($M \pm m$, $n=7$).

Біохімічні показники	Соматосенсорна кора		Гіпокамп	
	Глюкоза, мкмоль/г сухої тканини			
	7-ма доба	14-та доба	7-ма доба	14-та доба
Умови експерименту				
Інтактні тварини	2,13±0,08	2,10±0,09	2,25±0,09	2,17±0,07
Псевдооперовані тварини	2,11±0,10	2,18±0,08	2,16±0,05	2,26±0,09
ІР (контрольна патологія)	3,19±0,10	2,92±0,07	3,52±0,15^ (+10,3%)	3,23±0,05^ (+10,6%)
ІР + МСКЛ	2,55±0,07	2,41±0,05	2,62±0,08^ (+2,7%)	2,53±0,07^ (+5,0%)
ІР + ЕФЩ	2,71±0,06	2,62±0,08	2,93±0,06^ (+8,1%)	2,86±0,11^ (+9,2%)
ІР + ЖСКЛ	2,96±0,09	2,76±0,08	3,30±0,07^ (+11,5%)	3,10±0,10^ (+12,3%)
ІР + ЖСКЩ	2,97±0,08	2,78±0,09	3,36±0,15^ (+13,1%)	3,08±0,08^ (+10,8%)
ІР + лізат МСК	3,00±0,09	2,83±0,04	3,38±0,13^ (+12,7%)	3,25±0,04^ (+14,8%)
ІР + цитиколін	2,48±0,07	2,40±0,06	2,52±0,11 (+1,6%)	2,49±0,06^ (+3,8%)

Примітки (тут і надалі): ІР - ішемія-реперфузія; МСКЛ - МСК з Вартонових драглів пуповини людини; ЕФЩ - ембріональні фібробласти щура; ЖСКЛ - МСК з жирової тканини людини; ЖСКЩ - МСК з жирової тканини щура; [^] - $p < 0,05$ відносно відповідної групи з соматосенсорною корою; У круглих дужках - зміни відповідного показника у відповідний період експерименту відносно його рівня в соматосенсорній корі.

Проведене дослідження показало, що модельна ІР супроводжувалась накопиченням у тканинах головного мозку щурів глюкози (табл. 2). Системна гіперглікемія, пов'язана з інфарктом, сприяла більшому надходженню глюкози в гіпокамп, аніж у соматосенсорну кору, як на 7-му, так і на 14-ту добу експерименту, що відповідало в середньому переважанню на 10,3% та 10,6% відповідно ($p < 0,05$).

Найкращий корегувальний вплив на рівень глюкози в тканинах головного мозку мали референс-препарат цитиколін та МСК Вартонових драглів пуповини людини. Так, на 7-му добу дослідження в групі щурів із модельною ІР головного мозку, які отримували церебропротектор цитиколін (250 мг/кг), рівень глюкози у гіпокампі суттєво не відрізнявся від такого в соматосенсорній корі та в середньому були відповідно 2,52±0,11 та 2,48±0,07 мкмоль/г сухої тканини. На 14-ту добу експерименту спостерігався незначний, але вірогідно більший рівень глюкози в тканині гіпокампу, ніж у соматосенсорній корі в середньому на 3,8%. За ефективністю нормалізації рівня глюкози в тканинах головного мозку щурів при модельній ІР МСК Вартонових драглів пуповини людини були кращими за інші досліджувані МСК та не поступалися церебропротектору цитиколіну. Так, на 7-му та 14-му добу експерименту рівень глюкози

в гіпокампі вірогідно був вищим, ніж у соматосенсорній корі в середньому на 2,7% та 5,0% відповідно. Це свідчить про високу церебропротекторну активність МСК Вартонових драглів пуповини людини [10].

На стадії енергодефіциту в умовах гострої церебральної ішемії відбувається активація анаеробного шляху окислення глюкози, а це посилює утворення лактату та іонів водню, що призводить до розвитку лактатацидозу в тканинах головного мозку [2]. Порівняння показників рівня лактату в соматосенсорній корі та гіпокампі щурів за умов церебральної ІР й на тлі корекції наведено в таблиці 3.

У наших дослідженнях встановлено, що ІР у щурів на 7-му та 14-ту добу експерименту призводить до підвищення рівня лактату в гіпокампі та соматосенсорній корі головного мозку в щурів. Так, у зазначені періоди експерименту вміст лактату в гіпокампі перевищував досліджуваний показник у соматосенсорній корі в середньому відповідно на 15,0% та 15,8% ($p < 0,05$). Аналогічні зміни спостерігали у відповідні періоди ІР в інших досліджуваних групах тварин на тлі корекції. Однак трансплантація МСК Вартонових драглів пуповини людини при модельній ІР головного мозку в щурів призводила до вірогідно меншої різниці у вмісті лактату в тканині гіпокампу та соматосенсорній корі в середньому на 2,8% та 4,2% відповідно. Рівень лактату на тлі введення цитиколіну був практично однаковим у досліджуваних структурах головного мозку. Водночас лізат МСК мав найменшу здатність серед дослідних речовин нормалізувати вуглеводний обмін у тканинах головного мозку щурів за умов ІР ураження.

Таблиця 3. Порівняння показників рівня лактату в соматосенсорній корі та гіпокампі щурів за умов ІР головного мозку й на тлі корекції ($M \pm m$, $n=7$).

Біохімічні показники	Соматосенсорна кора		Гіпокамп	
	Лактат, мкмоль / г сухої тканини			
	7-ма доба	14-та доба	7-ма доба	14-та доба
Інтактні тварини	1,55±0,05	1,44±0,04	1,64±0,06	1,53±0,05^
Псевдооперовані тварини	1,61±0,03	1,51±0,05	1,66±0,05	1,55±0,04
ІР (контрольна патологія)	6,53±0,14	5,87±0,13	7,51±0,16^ (+15,0%)	6,80±0,16^ (+15,8%)
ІР + МСКЛ	4,59±0,08	3,60±0,12	4,72±0,07^ (+2,8%)	3,75±0,14^ (+4,2%)
ІР + ЕФЦ	5,22±0,13	4,17±0,11	5,65±0,18^ (+8,2%)	4,56±0,22^ (+9,3%)
ІР + ЖСКЛ	6,21±0,11	5,63±0,13	6,98±0,25^ (+12,4%)	6,25±0,28^ (+11,0%)
ІР + ЖСКЩ	6,24±0,15	5,69±0,17	7,10±0,27^ (+13,8%)	6,34±0,20^ (+11,4%)
ІР + лізат МСК	6,39±0,16	5,73±0,11	7,54±0,25^ (+18,0%)	6,77±0,14^ (+18,2%)
ІР + цитиколін	4,44±0,09	3,46±0,16	4,60±0,15 (+3,6%)	3,56±0,14 (+2,9%)

Таблиця 4. Порівняння показників рівня активності НАДФН-оксидази в соматосенсорній корі та гіпокампі щурів за умов ІР головного мозку й на тлі корекції ($M \pm m$, $n=7$).

Біохімічні показники	Соматосенсорна кора		Гіпокамп	
	НАДФН-оксидаза, нмоль / хв·мг білка			
Умови експерименту	7-ма доба	14-та доба	7-ма доба	14-та доба
Інтактні тварини	1,18±0,06	1,13±0,07	1,53±0,07^ (+29,7%)	1,47±0,09^ (+30,1%)
Псевдооперовані тварини	1,13±0,03	1,16±0,05	1,59±0,04^ (+40,7%)	1,55±0,03^ (+33,6%)
ІР (контрольна па тологія)	1,91±0,05	1,74±0,06	2,87±0,08^ (+50,3%)	2,62±0,09^ (+50,6%)
ІР + МСКЛ	1,26±0,04	1,34±0,05	1,90±0,06^ (+50,8%)	1,85±0,06^ (+38,1%)
ІР + ЕФЗ	1,47±0,07	1,51±0,07	2,06±0,10^ (+40,1%)	2,07±0,09^ (+37,1%)
ІР + ЖСКЛ	1,84±0,11	1,63±0,05	2,56±0,15^ (+39,1%)	2,43±0,08^ (+49,1%)
ІР + ЖСКЩ	1,85±0,07	1,67±0,08	2,67±0,15^ (+44,3%)	2,50±0,12^ (+49,7%)
ІР + лізат МСК	1,89±0,04	1,69±0,08	2,71±0,06^ (+43,4%)	2,48±0,12^ (+46,7%)
ІР + цитиколін	1,27±0,05	1,40±0,06	1,71±0,04^ (+34,6%)	1,68±0,05^ (+20,0%)

При оцінці отриманих результатів встановлено, що МСК Вартонових драглів пуповини людини за умов ІР головного мозку, порівняно з цитиколіном, не поступалися, а в деяких випадках чинили більш виразну дію на процеси аеробного та анаеробного окислення вуглеводів і, як наслідок, ефективніше підвищували енергетичний фонд нейронів. Лікувальна в/в трансплантація щурам з ІР головного мозку МСК Вартонових драглів пуповини людини сприяла відновленню порушених енергетичних процесів у соматосенсорній корі та гіпокампі,

усувала метаболічний ацидоз на рівні цитиколіну, що є однією з ланок механізму церебропротекторної дії МСК.

При порівняльному аналізі показників рівня активності НАДФН-оксидази в досліджуваних структурах головного мозку в щурів було виявлено вірогідно більшу її активність у гіпокампі інтактних і псевдооперованих тварин у середньому відповідно на 29,7% і 40,7% на 7-му добу експерименту та на 30,1% і 33,6% на 14-ту добу (табл. 4). За умов модельної ІР головного мозку в щурів було виявлено зростання досліджуваного показника в усіх групах піддослідних тварин, яким проводилась корекція як на 7-му, так і на 14-ту добу експерименту в обох структурах мозку, але в гіпокампі це збільшення рівня активності ензиму було вірогідно більшим, ніж у соматосенсорній корі. Уведення референс-препарату цитиколіну та трансплантація МСК Вартонових драглів пуповини людини, краще за решту досліджуваних МСК та лізату МСК, зменшувало масштабність змін активності прооксидантних ензимів, індукованих ішемічним ураженням клітин головного мозку. Так, у зазначених періодах експерименту ступінь активності в гіпокампі щурів НАДФН-оксидази на тлі введення цитиколіну становив у середньому 1,71±0,04 та 1,68±0,05 нмоль / хв·мг білка й був вищим за такий в соматосенсорній корі в середньому на 34,6% та 20,0% ($p<0,05$). Аналогічні зміни спостерігали й в групі тварин, яким на тлі ІР в/в трансплантували МСК Вартонових драглів пуповини людини. Отже, рівень активності НАДФН-оксидази в досліджуваних періодах у гіпокампі становив у середньому 1,90±0,06 та 1,85±0,06 нмоль / хв·мг білка й був більшим за такий у соматосенсорній корі в середньому на 50,8% та 38,1% ($p<0,05$).

Результати дослідження дозволяють стверджувати, що модельна ІР супроводжувалась розвитком у ткани-

Таблиця 5. Порівняння показників рівня активності NOS в соматосенсорній корі та гіпокампі щурів за умов ІР головного мозку й на тлі корекції ($M \pm m$, $n=7$).

Біохімічні показники		Соматосенсорна кора		Гіпокамп	
		NOS, пмоль / хв·мг білка			
		7-ма доба	14-та доба	7-ма доба	14-та доба
Умови експерименту					
Інтактні тварини		119,29±3,93	116,57±2,36	95,46±3,11^ (-20,0%)	93,33±1,89^ (-19,9%)
Псевдооперовані тварини		122,57±4,66	121,29±3,90	98,11±3,79^ (-20,0%)	97,03±3,09^ (-20,0%)
ІР (контрольна патологія)		223,57±9,18	208,57±8,70	210,00±5,31	200,29±6.64
ІР + МСКЛ		149,57±5,11	145,00±3,21	122,71±4,13^ (-18,0%)	122,43±2,29^ (-15,6%)
ІР + ЕФЗ		169,71±3,91	161,29±5,79	152,86±3,54^	148,29±5,37^
ІР + ЖСКЛ		204,14±4,91	189,14±6,18	196,00±4,69^	183,71±6,05^
ІР + ЖСКЩ		209,57±7,91	193,29±10,54	201,14±7,49^	187,57±10,29^
ІР + лізат МСК		221,43±7,17	197,14±8,06	206,00±6,72^	193,43±7,98^
ІР + цитиколін		136,14±3,10	133,43±4,35	111,57±2,42^ (-18,1%)	109,57±3,48^ (-17,9%)

нах головного мозку щурів нітрозуючого стресу (табл. 5). Це проявлялося більш ніж двократною активацією NO-синтази (NOS) у досліджуваних структурах головного мозку в щурів із модельною ІР як на 7-му добу, так і наприкінці терміну спостереження в усіх досліджуваних групах. Зростання сумарної активності NOS в головному мозку щурів може свідчити про гіперпродукцію монооксиду азоту (NO). Терапія щурів із введенням цитиколіну (250 мг/кг, в/в) та меншою мірою МСК Вартонових драглів пуповини людини (10^6 клітин/тварину, в/в) у підгострому та відновному періодах гострого порушення мозкового кровообігу чинило позитивний модулювальний вплив на цикл NO і сприяло нормалізації активності NOS як у соматосенсорній корі, так і в гіпокампі. Подібний коригувальний вплив досліджуваних речовин на активність NOS вірогідно був вищим у гіпокампі, ніж у соматосенсорній корі в середньому відповідно на 18,1% та 17,9% (група цитиколіна) і на 18,0% та 15,6% (група МСК Вартонових драглів пуповини людини).

Отже, ішемічне ураження клітин головного мозку за умов переважки внутрішніх сонних артерій із подальшою реперфузією супроводжувалось розвитком цілої низки метаболічних порушень. За умов ішемічного інсульту в щурів встановлено пригнічення процесів окисного фосфорилування та його супряження з тканинним диханням, розвитком гіпоенергетичного стану, що викликало активацію регуляторних ферментів гліколізу та розвиток лактатацидозу в клітинах мозку. Одночасно в головному мозку зменшувалась активність антиоксидантних ензимів, відбувалося неповне відновлення молекулярного кисню і, як наслідок, активувалися процеси вільнорадикального окиснення ліпідів та білків, які підсилювалися при реперфузії внаслідок збільшення АФК. За цих умов також рееструвалося зростання актив-

ності NOS в клітинах мозку (ймовірно за рахунок індукбельної ізоформи), підвищення продукції нітроген монооксиду. Слід зауважити, що високі концентрації NO мають нейротоксичну дію, адже на тлі оксидативного стресу здатні конденсуватися із супероксидним аніоном з утворенням високотоксичного пероксинітриту. Подібні реакції призводять до десенситатії рецепторів, пригнічення активності мітохондріальних ферментів та фрагментації нуклеїнових кислот [4].

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Субтотальна ішемія головного мозку в щурів з її подальшою реперфузією викликала більші патобіохімічні зрушення в гіпокампі, ніж у соматосенсорній корі, що проявлялось вірогідним зростанням показників вуглеводного обміну, оксидативного та нітрозативного стресу.

2. Уведення референс-препарату цитиколіну та трансплантація МСК Вартонових драглів пуповини людини, краще за інші досліджувані МСК та лізату МСК, зменшувало масштабність ІР пошкоджень у досліджуваних структурах головного мозку щурів.

3. За позитивним модулюючим впливом на оксидантно-антиоксидантний баланс при ІР, що ймовірно є одним із механізмів їх нейропротекторної дії, МСК Вартонових драглів пуповини людини не поступалися відомому церебропротектору цитиколіну.

У подальших дослідженнях заплановано виявити серед досліджуваних МСК найбільш ефективний за нейропротекторними властивостями клас, щоб надалі створити на його основі ін'єкційний препарат для внутрішньовенної трансплантації при лікуванні хворих із гострим ішемічним інсультом.

Список посилань - References

- [1] Andrabi, S. S., Parvez, S., & Tabassum, H. (2020). Ischemic stroke and mitochondria: mechanisms and targets. *Protoplasma*, 257(2), 335-343. <https://doi.org/10.1007/s00709-019-01439-2>
- [2] Arnberg, F., Grafstrom, J., Lundberg, J., Nikkhou-Aski, S., Little, P., Damberg, P., ... & Holmin, S. (2015). Imaging of a clinically relevant stroke model: glucose hypermetabolism revisited. *Stroke*, 46(3), 835-842. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.114.008407>
- [3] Chavda, V., Chaurasia, B., Garg, K., Deora, H., Umana, G. E., Palmisciano, P., Scalia, G., & Lu, B. (2022). Molecular mechanisms of oxidative stress in stroke and cancer. *Brain Disord.*, (5), 100029. <https://doi.org/10.1016/j.dscb.2021.100029>
- [4] Gubsky, Yu. I. (2015). *Смерть клетки: свободные радикалы, некроз, апоптоз: монография [Cell death: free radicals, necrosis, apoptosis: monograph]*. Вінниця: Нова Книга - Vinnytsia: New Book.
- [5] Gula, N. M., Kosyakova, G. V., & Berdyshev, A. G. (2007). Вплив N-стеароїлетаноламіну на NO-синтазний шлях генерації оксиду азоту в аорті та серці щурів із стрептозотцин-індукованим діабетом [The effect of N-stearoylethanolamine on the NO-synthase pathway of nitric oxide generation in the aorta and heart of rats with streptozotocin-induced diabetes]. *The Ukrainian Biochemical Journal*, 79(5), 153-158.
- [6] Guzman, R., Janowski, M., & Walczak, P. (2018). Intra-Arterial Delivery of Cell Therapies for Stroke. *Stroke*, 49(5), 1075-1082. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.117.018288>
- [7] Higashi, Y., Aratake, T., Shimizu, T., Shimizu, S., & Saito, M. (2021). Protective Role of Glutathione in the Hippocampus after Brain Ischemia. *International journal of molecular sciences*, 22(15), 7765. <https://doi.org/10.3390/ijms22157765>
- [8] Konovalov, S., Moroz, V., Deryabina, O., Shuvalova, N., Tochylovsky, A., Klymenko, P., & Kordium, V. (2023). The effect of mesenchymal stromal cells of different origin on morphological parameters in the somatosensory cortex of rats with acute cerebral ischemia. *Cell and Organ Transplantation*, 11(1), 46-52. <https://doi.org/10.22494/cot.v11i1.149>
- [9] Konovalov, S., Moroz, V., Konovalova, N., Deryabina, O., Shuvalova, N., Toporova, O., Tochylovsky, A., & Kordium, V. (2021). The effect of mesenchymal stromal cells of various origins on mortality and neurologic deficit in acute cerebral ischemia-reperfusion in rats. *Cell Organ Transpl.*, 9(2), 104-108. <https://doi.org/10.22494/cot.v9i2.132>
- [10] Li, J., Zhang, Q., Wang, W., Lin, F., Wang, S., & Zhao, J. (2021). Mesenchymal stem cell therapy for ischemic stroke: A

- look into treatment mechanism and therapeutic potential. *Journal of neurology*, 268(11), 4095-4107. <https://doi.org/10.1007/s00415-020-10138-5>
- [11] Martin, S. S., Aday, A. W., Almarzooq, Z. I., Anderson, C. A. M., Arora, P., Avery, C. L., ... & Palaniappan, L. P. (2024). Heart Disease and Stroke Statistics: A Report of US and Global Data From the American Heart Association. *Circulation*, 149(8), e347-e913. <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000001209>.
- [12] Martynov, M. Y., Zhuravleva, M. V., Vasyukova, N. S., Kuznetsova, E. V., & Kameneva, T. R. (2023). Окислительный стресс в патогенезе церебрального инсульта и его коррекция [Oxidative stress in the pathogenesis of stroke and its correction]. *Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова - Journal of Neurology and Psychiatry named after S. S. Korsakov*, 123(1), 16-27. <https://doi.org/10.17116/jnevro202312301116>
- [13] Ntege, E. H., Sunami, H., & Shimizu, Y. (2020). Advances in regenerative therapy: A review of the literature and future directions. *Regenerative therapy*, (14), 136-153. <https://doi.org/10.1016/j.reth.2020.01.004>
- [14] Owolabi, M. O., Thrift, A. G., Mahal, A., Ishida, M., Martins, S., Johnson, W. D., ... & Feigin, V. L. (2022). Primary stroke prevention worldwide: translating evidence into action. *The Lancet. Public health*, 7(1), e74-e85. [https://doi.org/10.1016/S2468-2667\(21\)00230-9](https://doi.org/10.1016/S2468-2667(21)00230-9)
- [15] Perez-Corredor, P. A., Gutierrez-Vargas, J. A., Ciro-Ramirez, L., Balcazar, N., & Cardona-Gomez, G. P. (2022). High fructose diet-induced obesity worsens post-ischemic brain injury in the hippocampus of female rats. *Nutritional neuroscience*, 25(1), 122-136. <https://doi.org/10.1080/1028415X.2020.1724453>
- [16] Stinear, C. M., Lang, C. E., Zeiler, S., & Byblow, W. D. (2020). Advances and challenges in stroke rehabilitation. *The Lancet. Neurology*, 19(4), 348-360. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(19\)30415-6](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(19)30415-6)
- [17] Wu, X., Jiang, J., Gu, Z., Zhang, J., Chen, Y., & Liu, X. (2020). Mesenchymal stromal cell therapies: immunomodulatory properties and clinical progress. *Stem cell research & therapy*, 11(1), 345. <https://doi.org/10.1186/s13287-020-01855-9>

COMPARATIVE ASSESSMENT OF PARAMETERS OF CARBOHYDRATE METABOLISM, OXIDATIVE AND NITROSATIVE STRESS IN THE SOMATOSENSORY CORTEX AND HIPPOCAMPUS OF RATS WITH CEREBRAL ISCHEMIA-REPERFUSION AND ON THE BACKGROUND OF ITS CORRECTION

Konovalov S. V., Moroz V. M., Yoltukhivskiy M. V., Gadzhula N. G.

Annotation. Among the acute disorders of cerebral blood circulation, the most common is ischemic stroke, which leads to severe disability and mortality of working-age people. Cellular therapy using mesenchymal stromal cells (MSCs) aimed at endogenous neuroregeneration has become a promising direction in the therapy of ischemia-reperfusion injury of brain structures. The aim of the research is to study the effect of subtotal brain ischemia in rats followed by its reperfusion and correction on biochemical processes in the somatosensory cortex and hippocampus based on parameters of carbohydrate metabolism, oxidative and nitrosative stress. The experiment was carried out on 200 sexually mature Wistar rats with simulated ischemia-reperfusion of the internal carotid arteries, which were transplanted with MSCs derived from Wharton's jelly of the human umbilical cord, MSCs derived from human and rat adipose tissues, rat embryonic fibroblasts, MSCs lysate and Citicoline. On the 7th and 14th days, parameters of carbohydrate metabolism, oxidative and nitrosative stress were determined in the somatosensory cortex and hippocampus of rats. Statistical analysis of the obtained data was performed using Statistica 6.0 (StatSoft® Snc, USA), parametric Student's t-test and non-parametric Mann-Whitney U-test. It was established that ischemia-reperfusion injury was accompanied by an increase in glucose and lactate levels in the brain tissues of rats, inhibition of the process of aerobic glucose oxidation, an increase in anaerobic glycolysis, the development of lactic acidosis, a decrease in the level of NADPH oxidase activity, the development of nitrosative stress with more than two-fold activation of NO synthase and increased producing of nitrogen monoxide. More pronounced pathobiochemical changes were found in the hippocampus than in the somatosensory cortex of experimental animals. The best corrective effect on the level of biochemical parameters in the brain tissues had the reference drug Citicoline and human umbilical cord Wharton's jelly-derived MSCs. Therapeutic intravenous transplantation of Wharton's jelly-derived MSCs compared with other studied MSCs and MSCs lysate contributed to a better recovery of disturbed energy processes and eliminated metabolic acidosis and nitrosative stress in the hippocampus than in the somatosensory cortex of rats with brain ischemia-reperfusion. In the future, it is planned to create the most effective in neuroprotective properties an injectable medicine from class of MSCs for the treatment of patients with acute ischemic stroke.

Keywords: mesenchymal stromal cells, somatosensory cortex, hippocampus, ischemia-reperfusion, biochemical parameters, rats.