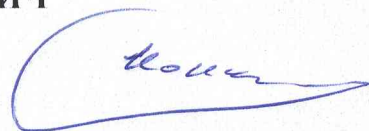


**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
імені М. І. ПИРОГОВА**

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**КОНОВАЛОВ СЕРГІЙ ВІКТОРОВИЧ**



УДК 616-092, 616-092:611.018.1:616.831-005.4-08:612.08

**ПАТОГЕНЕТИЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ДОЦІЛЬНОСТІ ВИКОРИСТАННЯ  
СЛОВ'ЯНСЬКИХ КЛІТИН РІЗНОГО ПОХОДЖЕННЯ ПРИ ТЕРАПІЇ  
ГОСТРОЇ ІШЕМІЇ ГОЛОВНОГО МОЗКУ (ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ  
ДОСЛІДЖЕННЯ)**

14.03.04. «Патологічна фізіологія» (222 – Медицина)  
22 – Охорона здоров'я

**РЕФЕРАТ**

дисертації на здобуття наукового ступеня  
доктора медичних наук

Чернівці – 2026

Дисертацією є рукопис.

Роботу виконано у Вінницькому національному медичному університеті імені М. І. Пирогова Міністерства охорони здоров'я України.

**Офіційні опоненти:**

доктор медичних наук, професор **Ткачук Світлана Сергіївна**, Буковинський державний медичний університет Міністерства охорони здоров'я України, завідувачка кафедри фізіології імені Я.Д. Кіршенבלата

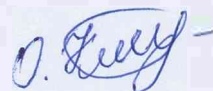
доктор медичних наук, старший науковий співробітник **Цупиков Олег Михайлович**, Інститут фізіології імені О. О. Богомольця Національної академії медичних наук України, провідний науковий співробітник відділу цитології

доктор медичних наук, старший науковий співробітник **Кирик Віталій Михайлович**, Державна установа "Національний науковий центр "Інститут кардіології, клінічної та регенеративної медицини імені академіка М. Д. Стражеска Національної академії медичних наук України", завідувач відділу клітинних та тканинних технологій

Захист відбудеться "11" вересня 2026 року о 10-ій годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 76.600.02 Буковинського державного медичного університету за адресою: 58002, м. Чернівці, Театральна площа, 2.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Буковинського державного медичного університету за адресою: 58001, м. Чернівці, вул. Богомольця, 2.

Учений секретар докторської ради 76.600.02



Ольга КМЕТЬ

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Обґрунтування вибору теми дослідження.** У більшості розвинутих країн світу одне з провідних місць у структурі захворюваності, 2-3 місце серед причин смертності та перше місце серед факторів втрати працездатності займає ішемічний інсульт головного мозку. За прогнозами до 2035 року загальна кількість інсультів в Європейському союзі збільшиться на 34 % [<https://strokeeurope.eu/>]. Після перенесеного інсульту біля 10 % хворих залишаються інвалідами через ускладнення, пов'язані з незворотнім ураженням та втратою нервової тканини (Poustchi F. et al., 2021). За даними Міністерства охорони здоров'я України серед цереброваскулярної патології фіксується близько 150 тис. первинних інсультів за рік, з яких 100 тис. закінчуються летально [<https://moz.gov.ua/article/news/u-2020-roci>]. Летальність від судинних уражень мозку в Україні більш як у 25 разів перевищує такий показник у високорозвинутих країнах Західної Європи й продовжує зростати. З 2020 року лікування гострого мозкового інсульту є пріоритетом в Програмі медичних гарантій [<https://moz.gov.ua/article/news/u-2020-roci>].

Серед загальної кількості гострих порушень мозкового кровообігу, ішемія головного мозку значно переважає кількість геморагій і становить близько 80-85 %. З-поміж причин смертності ішемічний інсульт посідає друге місце після інфаркту міокарда [World Health Organization. The Top 10 Causes of Death. 2018. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/index.html>]. У третини пацієнтів інсульт виникає у віці до 60 років і має важкі наслідки, що зумовлено стійкою втратою працездатності та залежністю від сторонньої допомоги [<http://www.healthdata.org/>]. Отже, медико-соціальна значущість ішемічного мозкового інсульту досить висока у зв'язку зі значною питомою вагою в структурі захворюваності, смертності населення, високими показниками первинної інвалідності [<https://strokeeurope.eu/>].

Сучасні методи лікування гострого ішемічного інсульту базуються на реперфузії через тромболізис або ендovasкулярній терапії. Але не всі пацієнти можуть отримати таку допомогу через вузьке терапевтичне вікно (<4,5 год від появи симптомів) (Aguilar de Sousa D. et al., 2019; Berge E. et al., 2021). Тому виникла потреба в нових підходах, у регенеративній терапії для зменшення викликаних інсультом проявів. У наш час більш перспективним вважається новий напрямок дослідження терапії ішемічного інсульту з використанням стовбурових клітин (СК) для усунення неврологічної дисфункції. Різноманітні СК були протестовані на тваринних моделях ішемічного інсульту як монотерапія. Одним із видів СК дорослого організму є мезенхімальні стромальні клітини (МСК). Доступно багато методів виділення МСК, їх подальшого культивування in vitro зі збереженням властивостей (Chung J.W. et al., 2021). Більша частина робіт, які проводилися з використанням СК, була зосереджена на МСК, отриманих зі строми кісткового мозку (Garbuzova-Davis S. et al., 2017). Але через невелику кількість клітин, зниження їх проліферативної здатності з віком та високий ризик вірусного інфікування,

використання таких МСК не завжди є прийнятним (Burrow et al., 2017; Stroncek D.F. et al., 2020).

Серед МСК привертають увагу МСК, отримані з пуповини (UC) або з Вартонових драглів (WJ-MSCs). МСК із кісткового мозку або жирової тканини, на відміну від перинатальних органів, мають деякі обмеження, такі як інвазивна процедура отримання, вищий ризик передачі інфекційних захворювань, вік донора та обмежений проліферативний потенціал МСК (Semenova E. et al., 2021). Вони також мають декілька переваг перед іншими МСК завдяки простим і неінвазивним методам отримання та значному виходу порівняно з іншими джерелами, низькому ризику пухлиногенності, мають меншу тенденцію до індукції реакції «трансплантат проти хазяїна» після введення та відсутності етичних проблем (Patel A.A. et al., 2024). WJ-MSCs володіють гарним проліферативним потенціалом, здатністю до більш швидкого темпу росту та можливістю зберігати свою мультипотентність для більшої кількості пасажів *in vitro* порівняно з МСК із кісткового мозку або жирової тканини (Liau L.L. et al., 2020).

Важливо, що деякі питання клітинної терапії ще не повністю вивчені, наприклад, її оптимальні параметри, включаючи вибір типу клітин, дози клітин і шляхи введення; тому необхідний більш тісний зв'язок між фундаментальними та клінічними дослідженнями. Останні звіти вказують на те, що МСК, які були виділені з кісткового мозку, можуть демонструвати різні функціональні та молекулярні фенотипи, якщо їх отримувати з використанням різних засобів і методів (Stroncek D.F. et al., 2020). Також досі відсутні дані стосовно порівняльної ефективності стовбурових клітин різного походження на здатність нейронів та судин до відновлення.

З'ясування нових патогенетичних механізмів реалізації церебропротекторних ефектів стовбурових клітин різного походження в умовах гострої церебральної ішемії-реперфузії, а також оцінка їхнього впливу на структурно-функціональний стан різних відділів головного мозку створюють підґрунтя для порівняльного аналізу терапевтичної ефективності клітинних продуктів різного генезу. Отримані результати сприятимуть обґрунтуванню вибору найбільш перспективних клітинних технологій та їх подальшому впровадженню в клінічну практику для лікування ішемічних уражень головного мозку. Вивчення зазначених механізмів визначило наукову концепцію та зміст даного дослідження.

**Зв'язок роботи з науковими програмами.** Роботу виконано відповідно до плану науково-дослідних робіт (НДР) Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова МОЗ України за ініціативною темою: «Патогенетичне обґрунтування доцільності використання стовбурових клітин різного походження при терапії гострої ішемії головного мозку (експериментальне дослідження)» державний реєстраційний номер 0120U101861 та темою кафедри нормальної фізіології: «Встановити критерії прогностичної оцінки когнітивних функцій за параметрами ходьби людини, в експерименті встановити особливості впливу трансплантованих

мезенхімальних стромальних клітин на структури мозку при гострій ішемії-реперфузії, дати гістохімічну характеристику та з'ясувати особливості активації нейронів гіпоталамуса під час алкогольної інтоксикації» державний реєстраційний номер 0125U002516. Автор є відповідальним виконавцем обох НДР. Тему дисертації затверджено Вченою радою Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова МОЗ України (протокол № 2 від 04.10.2024).

**Мета дослідження** – встановити в умовах експериментальної ішемії-реперфузії головного мозку щурів залежність церебропротекторних ефектів від трансплантації стовбурових клітин різного цитологічного походження та оцінити вплив на структури головного мозку з обґрунтуванням доцільності створення нового лікарського засобу.

**Завдання дослідження:**

1. За динамікою показника летальності щурів із гострою неповною ішемією головного мозку провести первинний скринінг наявності та величини церебропротекторної активності МСК різного походження, ембріональних фібробластів щурів (ЕФЩ) та лізату МСК Вартонових драглів (1 from WJ-MSCs).

2. Оцінити та порівняти неврологічний статус у щурів в умовах модельної ішемії-реперфузії головного мозку шляхом перев'язки внутрішніх сонних артерій (IP BCA) і при терапії МСК різного цитологічного походження, ЕФЩ та 1 from WJ-MSCs.

3. Оцінити вплив терапії МСК, ЕФЩ та 1 from WJ-MSCs гострої неповної ішемії головного мозку на функціональні показники ЦНС (поведінкові реакції з використанням тесту «відкрите поле»).

4. З'ясувати вплив трансплантації МСК різного цитологічного походження, ЕФЩ та 1 from WJ-MSCs на гістоструктуру та процеси нейродеструкції при змодельованій гострій церебральній ішемії за морфологічними змінами в гіпокампі та соматосенсорній корі головного мозку в щурів.

5. Оцінити вплив МСК, ЕФЩ та 1 from WJ-MSCs на інтенсивність апоптозу нейронів соматосенсорної кори та гіпокампа за критеріями фрагментації ядерної ДНК.

6. З'ясувати біохімічні та клітинні механізми церебропротекторної дії МСК різного цитологічного походження, ЕФЩ та 1 from WJ-MSCs за критеріями впливу на енергетичний метаболізм, оксидантно-антиоксидантний та кислотно-лужний баланс, ендотеліальну дисфункцію.

7. Визначити вплив МСК різного походження, ЕФЩ та 1 from WJ-MSCs на процеси проліферації клітин в зоні соматосенсорної кори та гіпокампа; на розвиток гліозу в зоні пошкодження мозкової тканини; процеси життєздатності нейронів у суміжній з пошкодженням ділянці; на активацію ангиогенезу в тканині мозку.

8. Проаналізувати взаємозв'язок біохімічних процесів у соматосенсорній корі та гіпокампі щурів із морфо-функціональними змінами в головному мозку

при ІР і на тлі терапевтичної корекції шляхом трансплантації МСК різного походження, ЕФЩ та І from WJ-MSCs.

9. Проаналізувати нові аспекти механізмів захисного впливу МСК, ЕФЩ та І from WJ-MSCs на головний мозок, а також експериментально обґрунтувати доцільність створення на основі найбільш ефективного класу стовбурових клітин промислового зразка нового лікувального засобу з церебропротекторною активністю.

**Об'єкт дослідження:** механізми впливу стовбурових клітин різного походження на структури головного мозку після гострої ішемії.

**Предмет дослідження:** особливості динаміки летальності, неврологічного дефіциту, поведінкових реакцій, біохімічних показників, гістоструктури та процесів нейродеструкції при експериментальній гострій неповній глобальній ішемії головного мозку й терапевтичній трансплантації стовбурових клітин різного цитологічного походження.

**Методи дослідження.** Для виконання поставлених у дослідженні мети та завдань використовували патофізіологічні, фармакологічні, біохімічні, морфологічні, імунологічні, статистичні методи дослідження. А саме:

- оцінювали вплив МСК різного походження, ЕФЩ та І from WJ-MSCs на летальність у щурів при гострій ішемії-реперфузії (ІР) головного мозку;
- оцінювали динаміку неврологічного статусу із встановленням неврологічного дефіциту за шкалою Stroke-index McGraw;
- використовували функціональні методи дослідження (поведінкові реакції з використанням тесту «відкрите поле» за допомогою програмного забезпечення EthoWatcher® (is registered in the Brazilian National Intellectual Property Institute (INPI) on the protocol number 09285-3, electronic journal No. 1982, Бразилія);
- проводили біохімічні дослідження (енергетичного гомеостазу та кислотно-лужної рівноваги (активність НАДФН-оксидази, вміст глюкози, лактату, пірувату, співвідношення лактат / піруват); білкового обміну (вміст білка); окисидантно-антиоксидантного балансу (активність сукцинатдегідрогенази (СДГ), рівень малонового альдегіду (МА), рівень карбонільних груп білків (КГБ), активність супероксиддисмутази (СОД)); ендотеліальну дисфункцію (сумарна активність NO-синтази (NOS));
- проводили цитологічні дослідження: метод протокової цитометрії (використано багатофункціональний науково-дослідний проточний цитометр «Partec PAS» (Partec, Німеччина)) з визначенням інтенсивності апоптозу нейронів соматосенсорної кори та гіпокампа за критеріями фрагментації ядерної ДНК; метод світлової мікроскопії та морфометрії;
- проводили імунологічні дослідження: імуногістохімічний аналіз для вивчення процесу проліферації клітин у соматосенсорній корі й гіпокампі; розвитку гліозу у вогнищі пошкодження мозкової тканини; життєздатності нейронів у суміжній з пошкодженням ділянці; активації ангіогенезу в тканині мозку;

- статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою програмного забезпечення MS Excel 2010 (Microsoft, США) та Statistica 7.0 (StatSoft Inc., США).

**Наукова новизна отриманих результатів.** У даній роботі поглиблено досліджено патогенетичні механізми церебропротекторних впливів стовбурових клітин при гострій ішемії головного мозку. З'ясовано залежність нейропротекції від цитологічного походження клітин та здійснено комплексну поглиблену оцінку впливу різних типів стовбурових клітин на морфофункціональний стан різних церебральних структур.

Уперше доведено, що за величиною церебропротекторної дії МСК Вартонових драглів пуповини людини (hWJ-MSCs) в умовах гострої церебральної ішемії-реперфузії зіставляються з референс-препаратом цитиколін, а за низкою показників переважають його.

Уперше в умовах експериментальної моделі неповної глобальної ішемії головного мозку на підставі аналізу виживаності тварин встановлено церебропротекторний потенціал стовбурових клітин різного походження та 1 from WJ-MSCs. Показано, що найбільш виражену нейропротекторну дію забезпечують hWJ-MSCs, а також визначено оптимальну дозу їх внутрішньовенного введення, яка становить  $10^6$  клітин на тварину. Так на 12 год спостереження (критичний період у розвитку експериментального гострого порушення мозкового кровообігу) смертність склала лише 10 % проти 45 % у тварин із контрольною патологією ( $p < 0,05$ ). Встановлено, що за впливом на показники летальності зазначені клітини перевершують цитиколін, застосований у дозі 250 мг/кг внутрішньовенно.

Уперше доведено, що серед досліджуваних типів стовбурових клітин та порівняно з цитиколіном найбільш ефективним засобом корекції неврологічного дефіциту є hWJ-MSCs, середній бал за шкалою Stroke-index McGraw дорівнював на 7-му добу 7,14 та 9,21 бала, а на 14-ту добу – 4,86 та 6,14 бала ( $p < 0,05$ ). Водночас найвираженіший позитивний вплив на поведінкові порушення продемонстрував цитиколін, тоді як терапевтична ефективність трансплантації hWJ-MSCs за цим показником була дещо меншою.

Уперше встановлено, що терапевтичне застосування стовбурових клітин різного походження, 1 from WJ-MSCs та цитиколіну супроводжується значним нейропротекторним впливом на структурні зміни в соматосенсорній корі та полі CA1 гіпокампа, індуковані ішемічним ушкодженням.

Уперше експериментально підтверджено наявність виражених антиапоптичних властивостей стовбурових клітин різного походження та 1 from WJ-MSCs щодо нейронів соматосенсорної кори щурів порівняно з контрольною групою, так через 7 діб після моделювання церебральної 20-хвилинної ІР інтенсивність фрагментації ДНК в ядрах нейронів вірогідно зменшилась від 1,8 до 2,6 разів ( $p < 0,05$ ). Разом із тим найбільш значне зниження рівня фрагментації ДНК нейронів гіпокампа відзначено після застосування ЕФЦ на 79,1 % ( $p < 0,05$ ), МСК жирової тканини людини (hADMSCs) на 60,2 % ( $p < 0,05$ ) та 1 from WJ-MSCs – 48,9 % ( $p < 0,05$ ).

Уперше здійснено комплексну оцінку патобіохімічних механізмів антиішемичної нейропротекторної дії стовбурових клітин різного цитологічного походження в соматосенсорній корі та гіпокампі. Отримані результати засвідчили їхню здатність послаблювати ключові ланки ішемічного каскаду, зокрема енергетичний дефіцит, лактат-ацидоз, оксидативний і нітрозативний стрес. Проведений порівняльний аналіз показав, що найбільш виражений нормалізуючий вплив на постішемичні біохімічні порушення в соматосенсорній корі та гіпокампі щурів чинить внутрішньовенна трансплантація hWJ-MSCs.

Уперше встановлено, що за ефективністю ЕФЦ дещо поступалися цитиколіну та hWJ-MSCs, що свідчить про більш високу церебропротекторну активність ксенотрансплантації.

Продемонстровані церебропротекторні властивості трансплантації hWJ-MSCs можуть свідчити про перспективу їх використання у клітинній терапії гострої ішемії головного мозку.

Наукову новизну підтверджено патентом України на винахід №123557: «Спосіб лікування гострої ішемії головного мозку із використанням парентеральної трансплантації стовбурових клітин різного походження» (21.04.2021, бюл. № 17/2021), Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова (UA), Товариство з обмеженою відповідальністю "BIOTEXCOM" (UA) (чинний). <https://sis.nipo.gov.ua/uk/search/detail/1589378/> і результати введено до переліку наукової (науково-технічної) продукції, призначеної для впровадження досягнень медичної науки у сферу охорони здоров'я (Випуск 11) Київ, 2025 Реєстр № 68/11/25 [https://www.testcentr.org.ua/docs/NMF/%D0%9F%D0%B5%D1%80%D0%B5%D0%BB%D1%96%D0%BA\\_11\\_2025.pdf](https://www.testcentr.org.ua/docs/NMF/%D0%9F%D0%B5%D1%80%D0%B5%D0%BB%D1%96%D0%BA_11_2025.pdf)

**Практичне значення отриманих результатів.** Отримані під час досліджень дані будуть використані для пошуку нових шляхів лікування ішемічного ураження головного мозку. Отримані результати експериментально обґрунтують доцільність клінічних випробувань ін'єкційного препарату на основі hWJ-MSCs за новим призначенням, а саме як цитопротектора у хворих на ішемічний інсульт.

Отримані результати можуть бути використані в навчальному процесі кафедр патофізіології, неврології, фармакології медичних та біологічних закладів вищої освіти при викладанні фізіології та патології ЦНС.

Впровадження результатів дослідження в практику може забезпечити соціальний (зменшення смертності населення від гострої ішемії головного мозку, покращення якості життя неврологічних хворих, зниження показників первинної інвалідності), медичний (експериментальне вивчення змін, які відбуваються в зоні ішемічної напівтіні та вплив на неї внутрішньовенно трансплантованих стовбурових клітин різного походження, що стане основою при розробці методів клітинної терапії) та економічний (у перспективі пов'язаний з покращенням якості підготовки лікарів, скороченням часу та підвищенням ефективності лікування неврологічних хворих) ефекти.

Результати дисертаційної роботи впроваджені в практичну діяльність наукових підрозділів Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, Інституту генетичної та регенераторної медицини ДУ “Національний науковий центр “Інститут кардіології, клінічної та регенеративної медицини ім. М. Д. Стражеска НАМН України”, ДУ “Інститут геронтології ім. Д. Ф. Чеботарьова НАМН України”, Інститут молекулярної біології і генетики НАН України. Результати проведеного дослідження впроваджено в навчальну та наукову роботу кафедри патологічної фізіології ВНМУ ім. М. І. Пирогова (м. Вінниця), кафедри нервових хвороб ВНМУ ім. М. І. Пирогова (м. Вінниця), що підтверджено відповідними актами.

**Особистий внесок здобувача.** Дисертант особисто обрав й обґрунтував ідею та тематику дисертаційної роботи, провів патентно-інформаційний пошук, визначив мету й основні завдання роботи, обрав методи дослідження. Автор самостійно розроблено дизайн досліджень, сформовано групи піддослідних тварин, організовано й виконано основну частину експериментів, біохімічних та морфологічних досліджень. Ряд експериментальних досліджень проведено у співавторстві, що відображено в опублікованих роботах із зазначенням особистого внеску автора у виконання експериментів, обробку результатів та підготовку наукових публікацій. Визначення фрагментації ДНК проведено на базі науково-дослідної лабораторії функціональної морфології та генетики розвитку ВНМУ ім. М. І. Пирогова за допомогою к. мед. н. І. Л. Черешнюка. Біохімічні дослідження виконано за консультативної допомоги завідувача науково-дослідної клініко-діагностичної лабораторії та кафедри біологічної та загальної хімії ВНМУ ім. М. І. Пирогова проф. А. В. Мельника. Імуногістологічне дослідження виконано на базі навчально-наукової клініко-діагностичної (патоморфологічної) лабораторії ВНМУ ім. М. І. Пирогова. Стовбурові клітини та лізат мезенхімальних стромальних клітин Вартонових драглів пуповини людини (1 from hWJ-MSCs) були отримані на базі Інституту молекулярної біології і генетики (ІМБГ) НАН України. Передача біологічного матеріалу здійснювалася відповідно до Договору про наукове співробітництво між ІМБГ НАН України та ВНМУ ім. М. І. Пирогова від 22.09.2017 року.

Автор дисертації самостійно виконав математичну обробку й статистичний аналіз результатів, провів наукову інтерпретацію та узагальнення результатів, а також сформулював висновки й підготував публікації до друку.

У результаті проведеної наукової роботи автором встановлено основні положення, що характеризують наукову новизну дисертації, та обґрунтовано її вагоме теоретичне і практичне значення для сучасної фундаментальної науки та клінічної практики.

Дисертант висловлює глибоку вдячність академіку НАМН України, доктору медичних наук, професору Морозу Василю Максимовичу за наукове керівництво, конструктивні рекомендації та всебічну підтримку, що стали важливим підґрунтям для проведення й завершення дослідження.

**Апробація результатів дисертації.** Усі матеріали дисертаційного дослідження доповідалися на засіданнях вченої ради Вінницького

національного медичного університету ім. М. І. Пирогова, а також представлені в тезах, стендових та усних доповідях на наукових конференціях, конгресах і симпозіумах: X Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю “Сучасна клінічна фармакологія в фармакотерапії та профілактиці захворювань з позицій доказової медицини” (Вінниця, 2019 р.), 6th World Congress of the Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society (TERMIS 2021) (Маастріхт, Нідерланди, 2021 р.), European Chapter Conference “Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society (TERMIS)” (Краків, Польща, 2022 р.), Міжнародна науково-практична конференція «Біотехнологія та її роль в забезпеченні здоров’я людей та тварин» (Київ, 2023 р.), Науково-практична конференція “Щорічні терапевтичні читання: проблеми, пріоритети та перспективи розвитку медичних технологій в 21 столітті,, (Харків, 2024 р.), XXV Національний конгрес кардіологів України (Київ, 2024 р.), IX Національний Конгрес патофізіологів України з міжнародною участю “Патологічна фізіологія-охороні здоров’я України,, (Івано-Франківськ, 2024 р.), Міжнародна конференція з нейронаук та наукових читаннях, присвячених вісцеральній фізіології та патофізіології (Київ, 2024 р.), Congress on Advanced Regenerative Technologies (Київ, 2025 р.).

**Публікації.** За темою дисертації опубліковано 21 статтю у вітчизняних та зарубіжних наукових журналах. Із них 12 статей опубліковано в наукових журналах, що індексуються в наукометричних базах Web of Science та/або Scopus, у тому числі 1 стаття – у виданні, віднесеному до квартилю Q3, та 11 статей – у виданнях квартилю Q4 згідно з показниками Scimago Journal & Country Rank. Сім публікацій надруковано у виданнях, включених до Переліку наукових фахових видань України, ще 2 – у закордонних рецензованих наукових виданнях.

Апробацію результатів дисертації засвідчено у 8 наукових працях доповідей у матеріалах Вітчизняних і Міжнародних з’їздів, конгресів, симпозіумів та науково-практичних конференцій, а також представлено у формі стендових та усних доповідей. За результатами досліджень отримано 1 патент на винахід України (чинний), оформлено 1 нововведення.

**Структура та обсяг дисертації.** Наукову роботу викладено українською мовою в обсязі 431 сторінок, із яких 329 сторінки припадає на основний текст. Структура дисертації побудована за логікою послідовного розкриття мети та завдань дослідження і включає вступну частину, критичний аналіз сучасних літературних даних, характеристику використаних матеріалів і методичних підходів, п’ять розділів експериментальної частини, розділ обговорення та узагальнення отриманих результатів, а також підсумкові висновки. Для наочного представлення результатів використано 78 рисунків і 34 таблиці. Список використаних літературних джерел налічує 344 найменувань.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

**Матеріали і методи досліджень.** Дослідження проведено на базі навчально-науково-дослідної лабораторії з доклінічної оцінки нових лікарських

засобів та біологічно-активних сполук «Фармадар» Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова (ВНМУ ім. М. І. Пирогова) (свідectво про технічну компетентність № 031/18 до 31. 10 2023) з використанням 208 статевозрілих (3-4 міс.) щурів лінії Вістар із масою тіла 160–190 г, виведених у віварії 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 86/609/ЕЕС та принципів «Європейської Конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та наукових цілей» [<https://rm.coe.int/168007a67b>] і Закону України від 21.11.2006 р. № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» [<https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/3447-15#Text>]. Протоколи дослідження ухвалені Комітетом з біоетики ВНМУ ім. М.І. Пирогова (протокол № 2 від 31 січня 2024 р.) та комісією з питань біомедичної етики БДМУ (протокол № 9 від 05 червня 2026 р.)

Стовбурові клітини та 1 from WJ-MSCs були отримані з 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.

Щурів використовували як піддослідних тварин, оскільки ангіоархітектоніка й морфологія кори головного мозку щурів і людини схожі. Експериментальна ІР-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). Після зняття лігатур кровообіг через внутрішні сонні артерії відновлювався самостійно впродовж декількох секунд. Обрана модель відображає клінічну картину інфаркту головного мозку та є оптимальною для експериментальних досліджень потенційних нейропротекторних речовин. Розподіл тварин на експериментальні групи представлено в табл. 1.

**Таблиця 1.** Розподіл тварин в експерименті

| Групи тварин | Кількість тварин | Лікування                                              |
|--------------|------------------|--------------------------------------------------------|
| 1-ша група   | 14               | інтактні тварини                                       |
| 2-га група   | 14               | 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+ hWJ-MSCs в дозі $10^6$ клітин/тварину              |
| 5-та група   | 20               | ІР+ЕФЩ в дозі $10^6$ клітин/тварину                    |
| 6-та група   | 25               | ІР+ hADMSCs в дозі $10^6$ клітин/тварину               |

Продовження таблиці 1

|                   |    |                                             |
|-------------------|----|---------------------------------------------|
| <b>7-ма група</b> | 25 | IP+ rADMSCs в дозі $10^6$ клітин/тварину    |
| <b>8-ма група</b> | 25 | IP+ 1 from WJ-MSCs<br>в дозі 0,2 мл/тварину |
| <b>9-та група</b> | 25 | IP+цитиколін 250 мг/кг                      |

Досліджувані препарати вводили в стегнову вену одноразово відразу після IP, оскільки більш рання трансплантація МСК призводила до більшого неврологічного відновлення та зменшення обсягу інфаркту, а також вимагала меншої кількості ( $1 \times 10^6$ ) донорських клітин для сприятливого ефекту (Chen Y. et al., 2023). Дослідження проводили на 7-му добу (підгострий період ішемії) та 14-ту добу (відновний період).

Первинними критеріями церебропротекторної ефективності при трансплантації МСК різного походження, ЕФЦ та 1 from WJ-MSCs та референс-препарату в умовах змодельованої IP обрано терміни загибелі тварин (у годинах) їх летальність (у %) та динаміка неврологічного статусу. Неврологічний дефіцит у щурів зі змодельованою IP відповідно в досліджуваних періодах визначали за шкалою Stroke-index С. Р. McGraw (McGraw C. P. et al., 1976).

Поведінкові реакції щурів та емоційну реактивність тварин оцінювали за тестом «відкрите поле» протягом 3 хв двічі: на 7-му та 14-ту добу після змодельованої IP головного мозку. Перше та друге тестування піддослідних тварин проводили для вивчення впливу лікування на поведінкові реакції тварин з IP головного мозку.

Зміни метаболічних та морфологічних показників у соматосенсорній корі та гіпокампі при змодельованій IP у щурів оцінювали в досліджувані періоди. Варто зауважити, що саме гіпокамп насамперед пошкоджується при нейродегенеративних процесах (Pérez-Corredor P.A. et al., 2022). Стан енергетичного та вуглеводного обміну в тканині мозку щурів оцінювали за вмістом сукцинатдегідрогенази (СДГ) – за швидкістю відновлення гексаціаноферат (III) калію (Чекман І. С. та ін., 2016), глюкози, лактату та пірувату. Концентрацію глюкози визначали глюкозооксидазним методом з використанням стандартних наборів фірми Філісіт-Діагностика, Україна. Вміст пірувату та лактату визначали колориметричним методом (Чекман І. С. та ін., 2016).

Інтенсивність оксидативного стресу визначали за кінцевими продуктами цього процесу малоновим альдегідом (МА) – за реакцією з тіобарбітуровою кислотою (Mihara M. et al., 1976). Стан системи антиоксидантного захисту оцінювали за активністю супероксиддисмутази (СОД). Активність супероксиддисмутази визначали за відсотком гальмування окислення кверцетину (Байляк М. М. та ін., 2006).

Сумарну активність NO-синтаз встановлювали за кількістю утвореного нітрит-аніону ( $\text{NO}_2^-$ ) після інкубації пост'ядерного супернатанту протягом 60 хв у середовищі, 1 мл якого містив 50 мМ  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ -NaOH-буфер (pH 7,0), 1 мМ  $\text{MgCl}_2$ , 2 мМ  $\text{CaCl}_2$ , 1 мМ НАДФН, 2,2 мМ L-аргініну (NADPH Sigma, USA) (Гула Н. М. та ін., 2007). Для визначення загальної активності NOS та активності НАДФН-оксидази застосовували спектрофотометричний метод. Виміри оптичної щільності проводили на спектрофотометрі APEL PD-303 (Японія). Зменшення NADPH є еквімолярним кількості утвореного NO, яку реєстрували спектрофотометрично при довжині хвилі 340 нм. Активність НАДФН-оксидази вимірювали за ступенем поглинання НАДФН при 340 нм (Fukui T. et al., 1997). Вміст загального білка в пост'ядерній фракції визначали методом Лоурі (Lowry O. No. et al., 1951). Карбонільних груп білків (КГ) – за реакцією з 2,4-динітрофенілгіdraзином (Шевчук С. В. та ін., 2003).

Для проведення гістоімунохімічних та морфологічних досліджень у відповідні терміни спостереження (7-ма та 14-та доби після ІР) головний мозок експериментальних тварин фіксували за допомогою 4 % розчину формальдегіду протягом 24 годин. Після фіксації мізки відмивали у проточній воді, проводили через спирти висхідної концентрації та ксилоли й після стандартної гістологічної проводки заливали в Paraplast Plus<sup>®</sup> (Leica Scientific (McCormick<sup>®</sup>), США). Зрізи завтовшки 5 мкм виготовляли на ротаційному мікротомі. Депарафіновані зрізи забарвлювали гематоксиліном-еозином та за методом Ніссля (Варенюк І.М. та ін., 2019). Морфометричний аналіз клітин соматосенсорної кори мозку та гіпокампа проводили в автоматичному режимі. Цифрові зображення фронтальних зрізів головного мозку експериментальних тварин, отримані за допомогою мікроскопа BX-51 (Olympus, Японія), аналізували за допомогою комп'ютерної програми ImageJ (1.48v, вільна ліцензія, Rasband, USA, 2015). У соматосенсорній корі та CA1 ділянці гіпокампа підраховували загальну кількість ядер нейронів у 1 мм<sup>2</sup>, а також визначали співвідношення кількості неушкоджених ядер нейронів та ядер із патологічними змінами (каріорексис та каріопікноз).

Імуногістохімічно забарвлені зрізи мозку досліджували за допомогою конфокального скануючого мікроскопа FV1000-BX61WI (Olympus, Японія) з використанням зеленого гелій-неонового (HeNeG laser 543 nm), червоного гелій-неонового (HeNeR laser 633 nm) та мультилінійного аргонного (Multi Ar laser 458, 488, 515 nm) лазерів. Використовували широку лінійку первинних антитіл anti-Rip (маркер олігодендроцитів) 1:200 (Abcam, Cambridge, UK), анти-GFAP (маркер астроцитів) 1:1500 (Dako Cytomation, Glostrup, Данія), анти-Iba-1 (маркер мікроглії) 1:1000 (FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation, USA), анти-NeuN (ядерного білка нейронів) 1:500 (SigmaAldrich, St. Louis, MO, USA) та anti-RECA-1 (антигеном-1 ендотеліальних клітин шурів) 1:200 (AbD Serotec, Oxford, UK). Інтенсивність та площу флуоресцентного маркера вимірювали шляхом автоматичного розрахунку середнього значення сірого в межах порогу вимірювання. Результати представлені як інтегральна щільність флуоресценції в умовних одиницях (у.о.), яка дорівнює інтенсивності флуоресценції,

помноженій на площу флуоресценції (без урахування інтегральної щільності фонові флуоресценції).

Оцінку рівня фрагментації ДНК в ядрах нейронів соматосенсорної кори та гіпокампа, як маркера нейроапоптозу проводили на 7-му добу після модельної ІР у щурів. Суспензії ядер з клітин соматосенсорної кори головного мозку, а також гіпокампа отримували за допомогою CyStain DNA Step 1 фірми Partec, Німеччина, згідно з інструкцією виробника. Проточний аналіз виконувався на багатофункціональному науково-дослідному проточному цитометрі «Partec PAS» (Partec, Німеччина). Для збудження флуоресценції DAPI застосовувалось УФ-випромінювання. З кожного зразка нуклеарної суспензії аналізу підлягало 20 тис. подій. Циклічний аналіз клітин виконувався засобами програмного забезпечення FloMax (Partec, Німеччина) у повній цифровій відповідності з математичною моделлю, де визначались:

G0G1% – відсоткове співвідношення клітин фази G0G1 до всіх клітин клітинного циклу (вміст ДНК = 2с);

S% – відсоткове співвідношення фази синтезу ДНК до всіх клітин клітинного циклу (вміст ДНК > 2с та < 4с);

G2 + M% – відсоткове співвідношення фази G2 + M до всіх клітин клітинного циклу (ДНК = 4с).

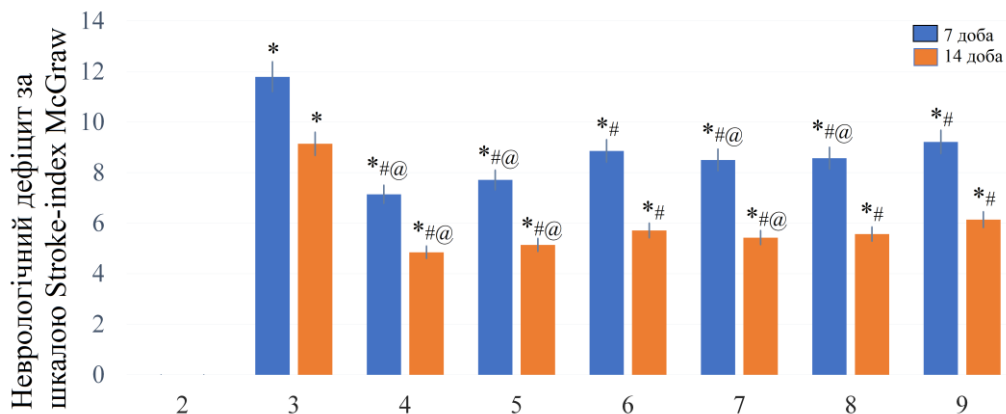
Визначення фрагментації ДНК (апоптоз) виконано шляхом виділення SUB-G0G1 ділянки на ДНК-гістограмах – RN1 перед піком G0G1, яка вказує на ядра клітин з вмістом ДНК < 2с.

Статистичний аналіз результатів проводили за допомогою методів непараметричної (U-критерію Манна-Уїтні, критерію Вілкоксона) статистики. Для порівняння результатів досліджень експериментальних груп (2-9) був застосований метод дисперсійного аналізу ANOVA. Нормальність розподілу визначали за допомогою критерію Шапіро-Уїлка. Для визначення зв'язку між окремими параметрами був використаний непараметричний кореляційний ранговий аналіз Спірмена. Вибірка даних у досліді містила результати, отримані з груп по 5-12 тварин. Результати для кожної експериментальної групи наведені у вигляді середнього арифметичного  $\pm$  стандартна похибка середнього (Mean  $\pm$  SEM). Відмінності середніх значень показників між групами порівняння вважали достовірними при  $p \leq 0,05$ .

**Результати дослідження та їх обговорення.** Для підтвердження церебропротекторного ефекту від в/в трансплантації досліджуваних МСК, ЕФЦ і 1 from WJ-MSCs був проведений аналіз динаміки показника летальності в щурів із гострою неповною 20-хвилинною ішемією шляхом двобічного накладання лігатур на ВСА. Під час проведення аналізу летальності було встановлено, що в групі інтактних і псевдооперованих щурів протягом усього терміну спостереження (96 год) не було зафіксовано жодного випадку загибелі піддослідних тварин. У групі щурів із контрольною патологією (ІР без лікування) спостерігалось прогресуюче зростання показника летальності піддослідних тварин, який через добу після ІР склав 65 %. У подальшому, впродовж наступних 48, 72 та 96 годин експерименту летальних випадків

тварин не реєстрували в жодній із досліджуваних груп. Найбільша за величиною захисна дія на головний мозок щурів з ІР відмічена при трансплантації hWJ-MSCs в дозі  $10^6$  клітин/тварину (4-та група). На 12 год спостереження (критичний період у розвитку експериментального гострого порушення мозкового кровообігу) смертність склала лише 10 % проти 45 % у тварин із контрольною патологією ( $p < 0,05$ ). Застосування ЕФЩ зменшило летальність тварин відносно контрольної групи в середньому на 25 % ( $p < 0,05$ ). Через добу від початку спостереження летальність щурів з ІР достовірно знизилась як на тлі застосування різних видів МСК й ЕФЩ, так і лізату та референс-препарату порівняно з групою контрольної патології. За величиною церебропротекторного ефекту в критичний період ІР (12 год) досліджувані засоби можна розташувати у такій послідовності: hWJ-MSCs ( $10^6$  клітин/тварину) > ЕФЩ ( $10^6$  клітин/тварину) > цитиколін (250 мг/кг, в/в) > rADMSCs ( $10^6$  клітин/тварину) = l from WJ-MSCs (0,2 мл/тварину, в/в) > hADMSCs ( $10^6$  клітин/тварину). При подальшому спостереженні (до 14-ї доби експерименту) летальність щурів з ІР у цих групах не реєструвалась. Але слід зазначити, що за спроможністю підвищувати виживаність піддослідних тварин практично в усі періоди спостереження hWJ-MSCs переважали ЕФЩ та rADMSCs та hADMSCs, а також l from WJ-MSCs і цитиколін.

Інтегральним показником, який дозволяє оцінити величину захисного впливу досліджуваних МСК й ЕФЩ на головний мозок з ішемічно-реперфузійним ураженням поряд зі зменшенням показника летальності, є позитивна динаміка змін у неврологічному статусі піддослідних тварин (рис. 1).



**Рис. 1.** Вплив внутрішньовенного введення стовбурових клітин різного походження (1 млн. клітин/тварину) та цитиколіну (250 мг/кг) на динаміку неврологічного дефіциту за шкалою Stroke-index McGraw ( $M \pm m$ ,  $n=7$ ). На осі абсцис відкладено експериментальні групи (2-9). \* – статистично достовірна відмінність порівняно з псевдооперованими тваринами ( $p < 0,05$ ); # – статистично достовірна відмінність порівняно з тваринами групи ІР ( $p < 0,05$ ); @ – статистично достовірна відмінність порівняно з групою цитиколіну ( $p < 0,05$ )

Так, у зазначеному періоді експерименту в групі тварин із контрольною патологією, яким вводили лише 0,9 % розчин NaCl, середній бал за шкалою

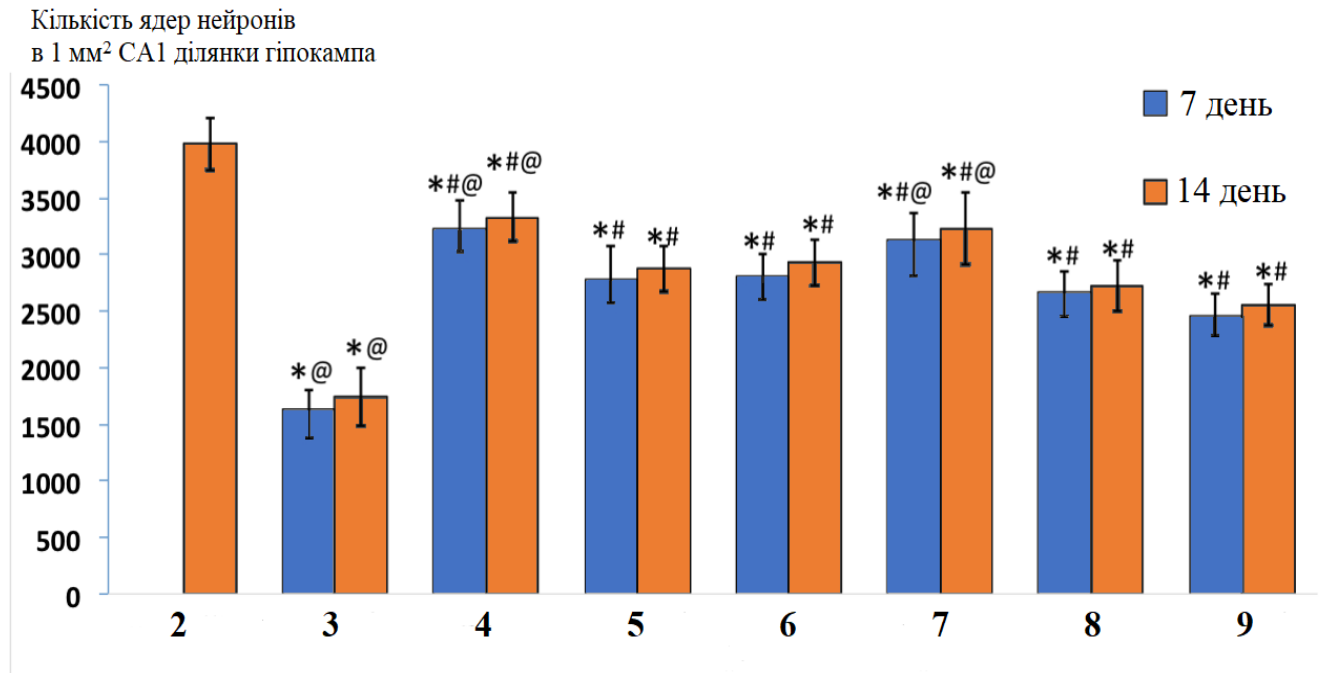
Stroke-index McGraw дорівнював  $11,79 \pm 0,48$  балу, що свідчить про важкі неврологічні порушення. На 14-ту добу спостереження неврологічний дефіцит у цій групі складав  $9,14 \pm 0,30$  балу, що вказує на відсутність повного відновлення втрачених функцій ЦНС. Лікувальна в/в трансплантація МСК різного походження, ЕФЩ і 1 from WJ-MSCs як і цитиколіну, зменшувала прогресування неврологічного дефіциту в досліджувані періоди експерименту. Аналіз динаміки регресу неврологічного дефіциту дозволяє стверджувати що й за цією ознакою досліджувані стовбурові клітини та 1 from WJ-MSCs у підгострий період ІР достовірно переважали цитиколін (див. рис. 1). У відновному періоді ІР hWJ-MSCs ембріональні фібробласти та rADMSCs продемонстрували кращу спроможність знижувати неврологічну симптоматику за референс-препарат – середній бал за шкалою Stroke-index McGraw становив відповідно 4,86, 5,14 та 5,43 балу ( $p < 0,05$ ). Найкращий результат був отриманий при в/в трансплантації hWJ-MSCs. Аналіз даних, які були отримані при дослідженні впливу МСК різного генезу, ЕФЩ і 1 from WJ-MSCs та цитиколіну на динаміку показників летальності щурів та неврологічного дефіциту зі змодельованою ІР, вказує на те, що hWJ-MSCs демонструють наявність у них виразних церебропротекторних властивостей.

У наших дослідженнях було оцінено вплив трансплантації МСК різного цитологічного походження, ЕФЩ і 1 from WJ-MSCs, як і цитиколіну на адаптивну поведінку та емоційну реактивність тварин, а також локомоторну стереотипію за тестом «відкрите поле». Так, на 7-му добу після ІР у тварин групи з контрольною патологією тривалість епізодів амбуляції периферійних та центральних квадратів зменшувалась у середньому на 35,8 % та 56,3 % ( $p < 0,05$ ) порівняно з групою псевдооперованих щурів. Терапевтична корекція ІР ураження з трансплантацією ЕФЩ та rADMSCs, а також використанням 1 from WJ-MSCs не мала позитивного впливу на горизонтальну рухову активність піддослідних тварин, що спостерігалось у вірогідному зниженні тривалості епізодів горизонтальної локомоторної активності в середньому відповідно на 24,4 %, 39,7 % та 34,5 %, порівняно з групою псевдооперованих щурів. Застосування цитиколіну, як і трансплантація hWJ-MSCs в досліджуваній період, виявились найбільш ефективними методами лікування щурів із ІР ураженням головного мозку при дослідженні поведінкових реакцій у «відкритому полі», що проявилось у збільшенні тривалості епізодів горизонтальної локомоторної активності в середньому відповідно на 70,0 % та 54,1 % ( $p < 0,05$ ), порівняно з контролем. На 14-ту добу експерименту відмічалась тенденція до зниження показників горизонтальної рухової активності в досліджуваних групах щурів за тестуванням тварин у «відкритому полі» у порівнянні з отриманими результатами на 7-му добу спостереження. Також спостерігали зниження горизонтальної локомоторної активності з перетином периферійних квадратів у групах тварин, що отримали hADMSCs та rADMSCs, а також 1 from WJ-MSCs у середньому відповідно на 46,6 %, 37,3 %, 31,5 % ( $p < 0,05$ ), порівняно з групою псевдооперованих щурів. Емоційна активність (грумінг) тварин дослідних груп на 14-ту добу спостереження

призвела до зниження тривалості епізодів в середньому в 2–3 рази ( $p < 0,05$ ) порівняно з групою псевдооперованих щурів. Також до вірогідного збільшення кількості епізодів на 7-му та 14-ту добу експерименту в групі тварин, що отримали в якості корекції ЕФЦ в середньому в 2,5 та 2 рази ( $p < 0,05$ ), та на 7-му добу спостереження в групі щурів, яким на тлі ІР трансплантували rADMSCs в середньому в 2,6 рази ( $p < 0,05$ ) відносно показника контрольної патології. Отже, результати наших досліджень показали, що збільшення тривалості епізодів спонтанної горизонтальної рухової активності відбулося при застосуванні цитиколіну та hWJ-MSCs. Внутрішньовенна трансплантація ЕФЦ сприяла підвищенню емоційної активності піддослідних тварин із ІР ураженням головного мозку.

Наведені вище дані щодо наявності у стовбурових клітин виразної захисної дії при ІР ураженні головного мозку в щурів слугували підставою для проведення наступного етапу дослідження, метою якого було охарактеризувати вплив МСК різного походження, ЕФЦ і 1 from WJ-MSCs та цитиколіну на динаміку деструктивних змін соматосенсорної ділянки кори та CA1 ділянки гіпокампа (Ammon's horn region I) головного мозку в щурів з ІР за даними світлової мікроскопії та мікроморфометрії. Морфометричний аналіз соматосенсорної ділянки кори показав, що трансплантація стовбурових клітин або застосування їх лізату чи цитиколіну сприяли достовірно більшій кількості патологічно незмінених ядер нейронів у соматосенсорній корі порівняно з групою тварин із контрольною патологією. Так, у контрольній групі на 7-му добу спостерігали  $58,3 \pm 3,8$  % неушкоджених ядер нейронів, а на 14-ту добу –  $60,4 \pm 4,6$  %. Найбільш позитивний ефект на цитоархітектоніку соматосенсорної кори мала трансплантація hWJ-MSCs, на відміну від решти засобів в/в введених після моделювання ІР головного мозку в щурів. У цій групі тварин був найвищий відсоток неушкоджених ядер нейронів ( $89,0 \pm 2,9$  % на 7-му добу і  $93,1 \pm 1,1$  % на 14-ту добу ( $p < 0,05$ )).

Морфометричний аналіз CA1 ділянки гіпокампа показав, що загальна кількість ядер нейронів у  $1 \text{ мм}^2$  CA1 ділянки гіпокампа тварин із модельованою ІР (без лікування) у порівнянні з псевдооперованими тваринами зменшувалась більш ніж у 2 рази ( $p < 0,05$ ) та становила в середньому відповідно на 7-му добу  $1627,28 \pm 73,06$  ядер, а на 14-ту –  $1739,75 \pm 103,86$  ядер, порівняно з псевдооперованими тваринами –  $3977,38 \pm 82,61$  ядер ( $p < 0,05$ ) (рис. 2). Більша кількість цих ядер піддавалась деструкції, зокрема у підгострий період спостереження  $95,8 \pm 13,70$  % були патологічно змінені (каріорексис і каріопікноз), а під час періоду відновлення –  $91,5 \pm 14,51$  %.



**Рис. 2.** Кількість ядер нейронів в 1 мм<sup>2</sup> CA1 ділянки гіпокампа на 7-му та 14-ту добу після моделювання ІР та лікування. На осі абсцис відкладено експериментальні групи (2-9). \* –  $p < 0,05$  порівняно з псевдооперованими тваринами; # –  $p < 0,05$  порівняно з тваринами з модельованою ІР (група 2); @ –  $p < 0,05$  порівняно з групою цитиколіну.

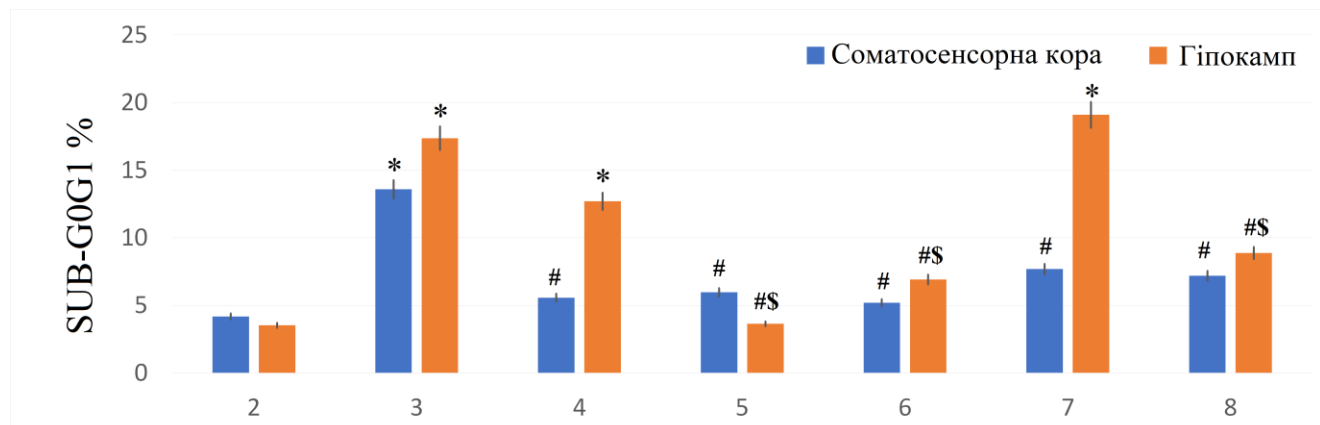
Застосування в якості терапії ішемічно-реперфузійних уражень головного мозку в щурів МСК, ЕФЦ і 1 from WJ-MSCs та цитиколіну сприяли вірогідному зменшенню патологічного пошкодження ядер нейронів у CA1 ділянці гіпокампа, що в свою чергу збільшувало кількість неушкоджених нейронів у порівнянні з групою тварин із контрольною патологією. Ці результати демонструють нейропротекторні властивості досліджуваних речовин, серед яких найкращий захисний вплив на нейрони при церебральній ішемії-реперфузії в щурів мала трансплантація hWJ-MSCs. Кількість ядер нейронів у CA1 ділянці гіпокампа в цій групі тварин наближалася до кількості ядер у групі псевдооперованих тварин і на 7-му добу після трансплантації становила в середньому відповідно  $3226,04 \pm 116,15$  ядер, а на 14-ту добу –  $3329,28 \pm 95,15$  ядер ( $p < 0,05$ ) (див. рис. 2). Причому як на 7-му добу, так і наприкінці терміну спостереження, трансплантація hWJ-MSCs вірогідно перевершує референс-препарат цитиколін за здатністю зменшувати відсоток патологічно змінених ядер у 1,5 рази ( $p < 0,05$ ) при цьому кількість патологічно незмінених ядер значно перевищує кількість ядер з ознаками деструкції. На нашу думку, у гострому періоді ІР hWJ-MSCs завдяки покращенню перфузії головного мозку сприяли збереженню площі та щільності неушкоджених нейронів. Це може відбуватись за рахунок наявності модулювального впливу МСК на процеси некрозу та нейроапоптозу в ділянці ішемічної напівтіні.

Групою дослідників під керівництвом С. J. Cunningham (Cunningham C. J. Et al., 2018) було встановлено, що МСК покращують кровопостачання головного мозку та послаблюють деструктивні зміни, що дозволяє зменшити вторинне церебральне ураження при ІР. Покращення

церебрального кровообігу, окрім позитивної дії на перебіг формування ділянки пенумбри, може мати принаймні один негативний ефект – активувати процес нейроапоптозу, оскільки саме відновлення кровопостачання ішемізованої ділянки мозку (наприклад, після проведення тромболізу) є головним чинником для ініціації цього процесу (Aravanan A. Chakkarapani et al., 2021). Відомо, що після відновлення кровотоку в оклюзованій судині (наприклад внаслідок тромболізу) загибель клітин шляхом апоптозу превалює над некротичним процесом, оскільки реперфузія може індукувати всі чинники, які мають місце при вторинному ушкодженні нейронів.

Одним із маркерів нейроапоптозу є рівень фрагментованої ядерної ДНК (Knight R.A. et al., 2011). Зважаючи на це, доцільним було в умовах ІР ураження головного мозку в щурів на моделі ІР охарактеризувати вплив МСК різного походження на нейроапоптичні зміни в соматосенсорній корі та гіпокампі методом проточної цитометрії, яка є загально визнаним та одним із найкращих методів для оцінки фрагментації ДНК нейронів.

Наступним етапом дослідження було встановлено достовірно більший рівень фрагментованої ДНК у соматосенсорній корі в групі тварин контрольної патології (ІР без лікування) у 3,25 рази ( $p < 0,05$ ) через 7 діб після змодельованої ІР (рис. 3), у порівнянні з псевдооперованими щурами.



**Рис. 3.** Вплив стовбурових клітин різного походження та лізату МСК Вартонових драглів на фрагментацію ядерної ДНК нейронів соматосенсорної кори та гіпокампа щурів із церебральною ішемією-реперфузією через 7 діб ( $M \pm SEM$ ,  $n=5$ ). На осі абсцис відкладено експериментальні групи (2-8). SUB-G0G1 % – ділянки на ДНК-гістограмах – RN1 перед піком G0G1, яка вказує на ядра клітин з вмістом ДНК  $< 2c$ ; \* – статистично вірогідна відмінність порівняно з псевдооперованими тваринами ( $p < 0,05$ ); # – статистично вірогідна відмінність порівняно з ішемізованими тваринами ( $p < 0,05$ ); \$ – статистично вірогідна відмінність порівняно з групою IP+rADMSCs ( $p < 0,05$ ).

Така динаміка вказує на формування вогнища ішемічної напівтіні саме за рахунок нейронів, які перебувають у стані апоптозу. Проведене лікування показало, що в групах із трансплантованими МСК різного походження, ЕФЩ та 1 from WJ-MSCs інтенсивність фрагментації ДНК в ядрах нейронів

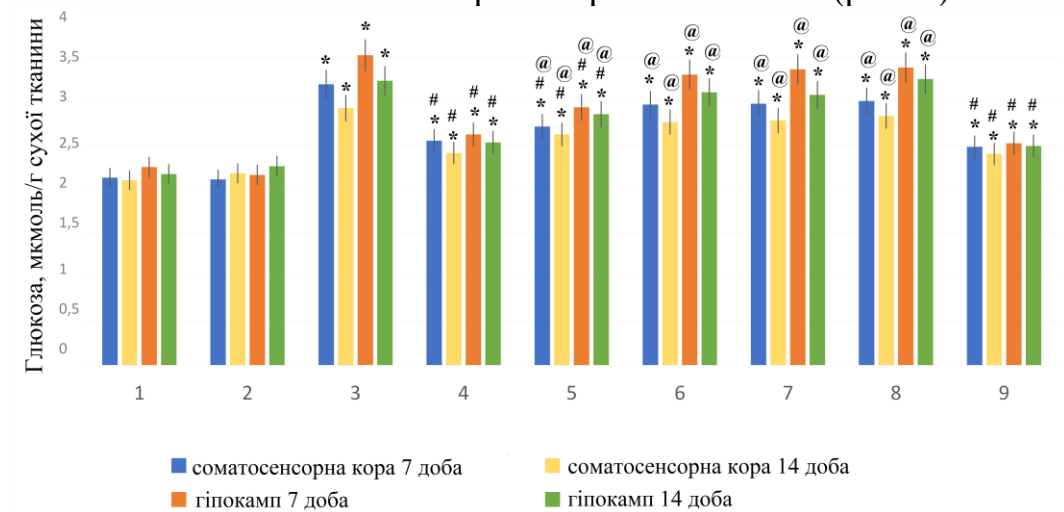
соматосенсорної кори головного мозку щурів у порівнянні з групою контрольної патології (ІР без лікування) через 7 діб після моделювання церебральної 20-хвилинної ІР вірогідно зменшилась від 1,8 до 2,6 разів ( $p < 0,05$ ) (див. рис. 3). Трансплантація досліджуваних стовбурових клітин щурам із ІР чинила позитивний за спрямованістю та силою церебропротекторний ефект, на що вказувало вірогідне зменшення (відносно контрольної патології) фрагментації ДНК в ядрах нейронів соматосенсорної кори головного мозку в досліджуваному періоді в середньому: hWJ-MSCs на 58,98 % ( $p < 0,05$ ), ЕФЦ на 56,11 % ( $p < 0,05$ ), hADMSCs на 61,78 % ( $p < 0,05$ ), rADMSCs на 43,45 % ( $p < 0,05$ ) та 1 from WJ-MSCs на 47,13 % ( $p < 0,05$ ) (див. рис.3). Також нами встановлено статистично достовірне зростання рівня фрагментованої ДНК у гіпокампі в групі тварин з ІР у 4,9 рази ( $p < 0,05$ ) через 7 діб після модельної ІР, у порівнянні з групою псевдооперованих щурів (див. рис. 3)

Трансплантація досліджуваних стовбурових клітин щурам з ІР чинила позитивний за спрямованістю та силою церебропротекторний ефект, на що вказувало вірогідне зменшення (відносно контрольної патології) фрагментації ДНК в ядрах нейронів гіпокампа в досліджуваному періоді в середньому: ЕФЦ на 79,1 % ( $p < 0,05$ ), hADMSCs на 60,2 % ( $p < 0,05$ ), та 1 from WJ-MSCs – 48,9 % ( $p < 0,05$ ) (див. рис. 3). Отже, пригнічення інтенсивності нейроапоптозу в гіпокампі та ділянці соматосенсорної кори головного мозку щурів під дією МСК різного походження, ЕФЦ та 1 from WJ-MSCs свідчить про зменшення вогнища ішемічної напівтіні через збереження числа морфологічно непошкоджених нейроцитів і є одним із механізмів церебропротекторної дії при постреперфузійних пошкодженнях головного мозку. Ми вважаємо, що введення МСК в нашому експерименті безпосередньо після ІР сприяло нейропротекції як за рахунок активації проліферації нейрональних попередників, так і за рахунок запобігання їх пошкодження і загибелі.

За результатами проведеного кореляційного аналізу встановлено сильні прямі та зворотні лінійні залежності між показниками проточної цитометрії з кількістю ушкоджених ядер нейронів на 7-му та 14-ту добу після модельної ІР, як у соматосенсорній корі, так і в гіпокампі. Підтверджено, що субтотальна оборотна ішемія головного мозку в щурів викликала раннє пошкодження нейронів гіпокампа шляхом активації нейроапоптозу. Використання в якості терапії ішемічно-реперфузійного пошкодження структур головного мозку МСК різного походження, ЕФЦ та 1 from WJ-MSCs показало різноспрямовані кореляційні залежності, як прямі, так і зворотні, між показниками проточної цитометрії з кількістю ушкоджених ядер нейронів у досліджуванні періоди експерименту. Так, в/в трансплантація hWJ-MSCs в гіпокампі щурів з ІР викликала позитивні кореляційні зв'язки, направлені на ендогенне нейровідновлення та переключення некротичної загибелі нейронів на апоптичну. Трансплантація ЕФЦ на 14-ту добу після модельної ІР в щурів виявила сильні прямі кореляційні залежності направлені на нейрогенез як у соматосенсорній корі, так і в гіпокампі. В/в трансплантація hADMSCs

викликала сильні прямі кореляційні залежності, направлені на активацію нейрогенезу в гіпокампі на 7-му добу після модельної ІР в щурів. У цілому в/в трансплантація rADMSCs після ІР викликала появу сильної прямої кореляційної залежності, спрямовані на захист нейронів соматосенсорної кори від ішемічно-реперфузійного пошкодження в щурів. Уведення в/в 1 from WJ-MSCs після ІР викликала сильні прямі кореляційні залежності, направлені на захист нейронів соматосенсорної кори від ішемічно-реперфузійного ушкодження та активацію ендogenous нейрогенезу в гіпокампі.

На наступному етапі дослідження доцільним було встановити можливі біохімічні механізми захисної дії МСК різного цитологічного походження, ЕФЦ і 1 from WJ-MSCs та цитиколіну при церебральній ішемії-реперфузії в щурів. На моделі ІР в щурів нами було встановлено, що при ішемічному ушкодженні відбулися порушення енергетичного гомеостазу тканин мозку, а саме дисбаланс глюкози в соматосенсорній корі та гіпокампі (рис. 4).

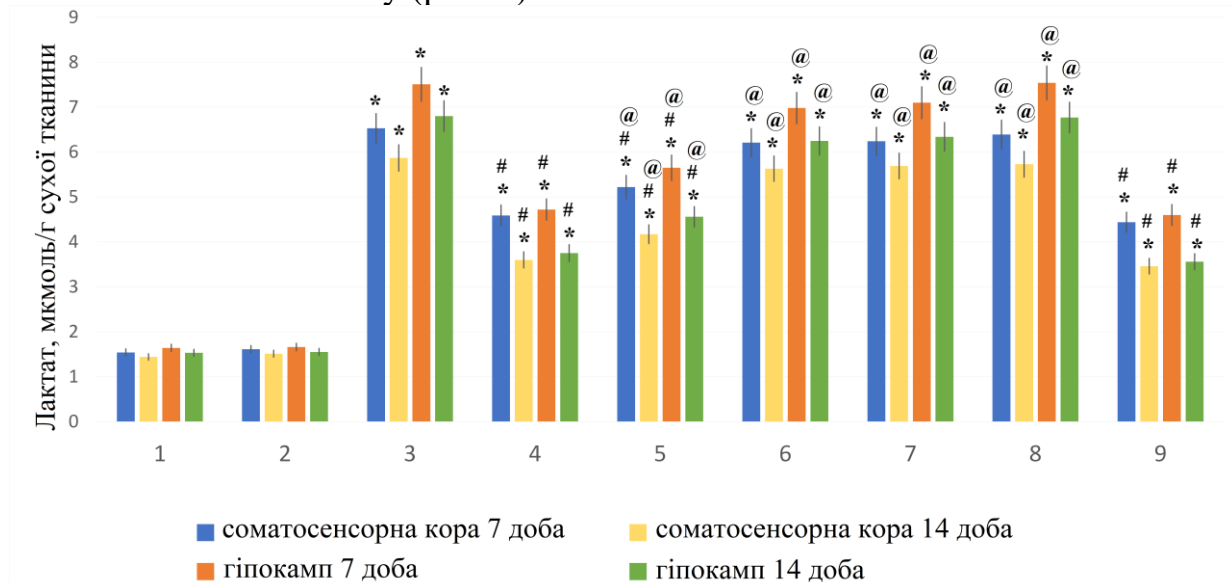


**Рис. 4.** Показники обміну глюкози в соматосенсорній корі та гіпокампі щурів при ішемії-реперфузії (ІР) головного мозку й на тлі корекції. На осі абсцис відкладено експериментальні групи (1-9). \* – статистично достовірна відмінність порівняно з псевдооперованими тваринами ( $p < 0,05$ ); # – статистично достовірна відмінність порівняно з тваринами групи ІР ( $p < 0,05$ ); @ – статистично достовірна відмінність порівняно з групою цитиколіну ( $p < 0,05$ ).

Основним енергетичним субстратом для головного мозку є глюкоза. Отже, на 7-му та 14-ту добу експерименту спостерігалось достовірне зростання вмісту глюкози в досліджуваних структурах головного мозку в групах щурів із ІР ураженням. Так, у нещодавньому дослідженні J. Inderhees et al. (Inderhees J. et al., 2024) було встановлено, що під час ІР порушення регуляторних механізмів в ендокринній та автономній нервовій системах, а також вивільнення прозапальних медіаторів із головного мозку, активують імунну відповідь та системне запалення. При цьому печінка, як головний метаболічний орган, сприяє не тільки імуносупресії після інсульту, але й спричиненій стресом гіперглікемії. Системна гіперглікемія, пов'язана з інфарктом, може сприяти надходженню глюкози в уражені ішемією тканини головного мозку. Терапевтична в/в трансплантація hWJ-MSCs, ЕФЦ та лікувальне введення

цитиколіну мало коригувальний вплив на рівень глюкози в соматосенсорній корі в щурів із ІР, де це зростання глюкози достовірно було меншим у середньому на 20,1 %, 15,1 %, 22,3 % ( $p < 0,05$ ) 7-ма доба та на 17,5 %, 10,3 %, 17,8 % ( $p < 0,05$ ) 14-та доба експерименту відносно тварин із контрольною патологією (див. рис. 4). Слід зауважити, що застосування hWJ-MSCs та цитиколіну найбільшою мірою та практично однаково зменшували пертурбації в метаболізмі глюкози в соматосенсорній корі в щурів при ІР і її вміст у середньому становив на 7-му добу –  $2,55 \pm 0,07$  та  $2,48 \pm 0,07$  мкмоль/г сухої тканини; на 14-ту добу –  $2,41 \pm 0,05$  та  $2,40 \pm 0,06$  мкмоль/г сухої тканини (див. рис.4). У гіпокампі кількісні зміни глюкози більш чітко виявлялись також при трансплантації hWJ-MSCs, ЕФЦ та використанні цитиколіну, що вірогідно зменшували вміст у гіпокампі глюкози порівняно з групою тварин із контрольною патологією в середньому на 25,6 %, 16,8 %, 28,4 % ( $p < 0,05$ ) – 7-ма доба та на 21,7 %, 11,8 % та 22,9 % – 14-та доба експерименту (див. рис. 4). При порівнянні з показниками групи щурів, які отримували цитиколін на тлі ІР, було встановлено, що терапія з трансплантацією hWJ-MSCs не поступалася цьому референс-препарату.

На стадії енергетичних зрушень це компенсаторно активує анаеробний шлях обміну глюкози й посилює утворення лактату та іонів водню, що обумовлює розвиток метаболічного ацидозу (Arnberg F. et al., 2015). Лактат є додатковим енергетичним субстратом для нейронів. Шляхом аналізу вмісту лактату, пірувату та їх співвідношення встановлено, що за умов ішемії пригнічувався процес аеробного окислення глюкози, посилювався анаеробний гліколіз, що супроводжувалось розвитком декомпенсованого лактат-ацидозу в тканинах головного мозку (рис. 5).

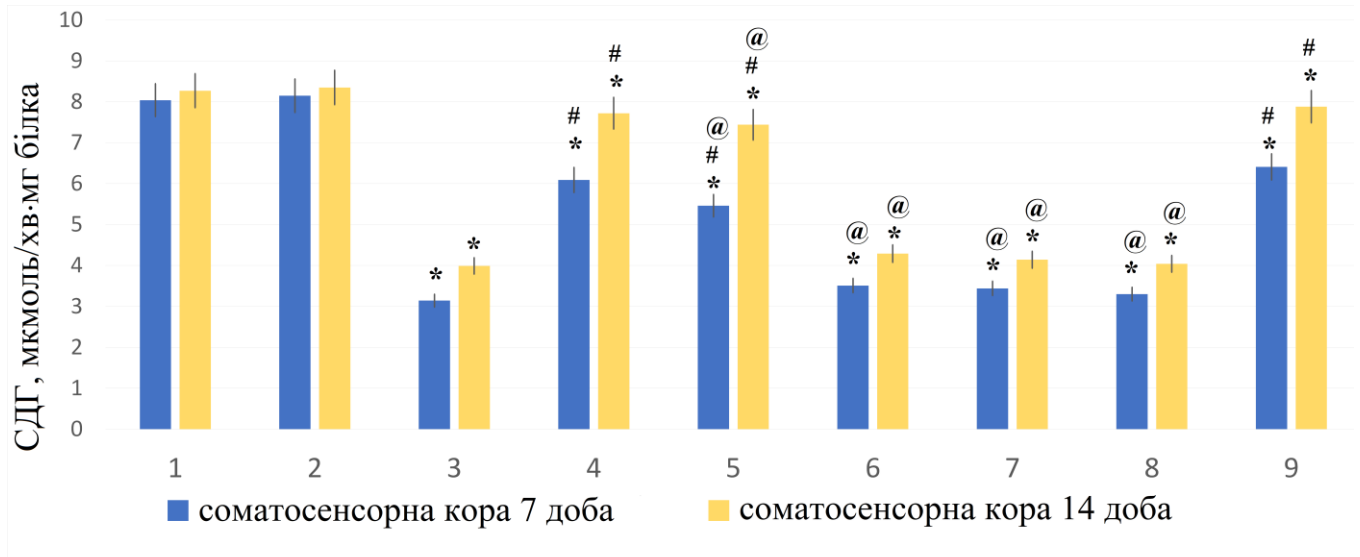


**Рис. 5.** Показники обміну лактату в соматосенсорній корі та гіпокампі щурів при ішемії-реперфузії (ІР) головного мозку й на тлі корекції. На осі абсцис відкладено експериментальні групи (1-9). \* – статистично достовірна відмінність порівняно з псевдооперованими тваринами ( $p < 0,05$ ); # – статистично достовірна відмінність порівняно з тваринами групи ІР ( $p < 0,05$ );

@ – статистично достовірна відмінність порівняно з групою цитиколіну ( $p < 0,05$ ).

Так, у досліджувані періоди в щурів із змодельованою ІР головного мозку, а також із ІР на тлі терапевтичної корекції в соматосенсорній корі спостерігалось достовірне збільшення рівня лактату, зменшення вмісту пірувату та збільшення співвідношення лактат/піруват, порівняно з псевдооперованими тваринами. Трансплантація hWJ-MSCs, ЕФЩ та введення цитиколіну викликало на тлі ІР у соматосенсорній корі щурів вірогідне зниження зростання вмісту лактату в середньому на 7-му добу на 29,7 %, 20,1 % та 32,0 % ( $p < 0,05$ ), на 14-ту добу – на 38,7 %, 29,0 %, 41,1 % ( $p < 0,05$ ); підвищення рівня пірувату на 7-му добу на 52,5 %, 41,1 % та 43,7 % ( $p < 0,05$ ), на 14-ту добу – 42,8 %, 26,7 %, 34,2 % ( $p < 0,05$ ); і зменшення зростання співвідношення лактат / піруват на 7-му добу на 54,0 %, 43,2 %, 53,0 % ( $p < 0,05$ ), на 14-ту добу – 57,1 %, 44,2 %, 55,9 % ( $p < 0,05$ ), порівняно з групою тварин із контрольною патологією (див. рис. 5). Корекція ІР ураження головного мозку в щурів з використанням hWJ-MSCs, ЕФЩ та цитиколіну вірогідно зменшувала вміст лактату в тканинах гіпокампа відносно такого в групі щурів контрольної патології в середньому на 7-му добу експерименту на 37,2 %, 24,8 % та 38,7 % ( $p < 0,05$ ) та на 14-ту добу – на 44,8 %, 32,9 % та 47,6 % ( $p < 0,05$ ) (див. рис. 5). Отже, в/в трансплантація hWJ-MSCs за умов ІР головного мозку мала кращий терапевтичний вплив за решту МСК, ЕФЩ та 1 from WJ-MSCs, а порівняно з цитиколіном, не поступалася, а в деяких випадках чинила більш виразну дію на процеси аеробного та анаеробного окислення вуглеводів і, як наслідок, ефективніше підвищували енергетичний фонд нейронів.

СДГ є ключовим ферментом циклу Кребса для аеробного окислення сукцинату в мітохондріях і комплексом електрон-транспортного ланцюга. Ішемія з подальшою реперфузією головного мозку в щурів викликала мітохондріальну дисфункцію, що супроводжувалось вірогідним зниженням рівня СДГ у соматосенсорній корі головного мозку в щурів у досліджувані періоди (рис. 6).

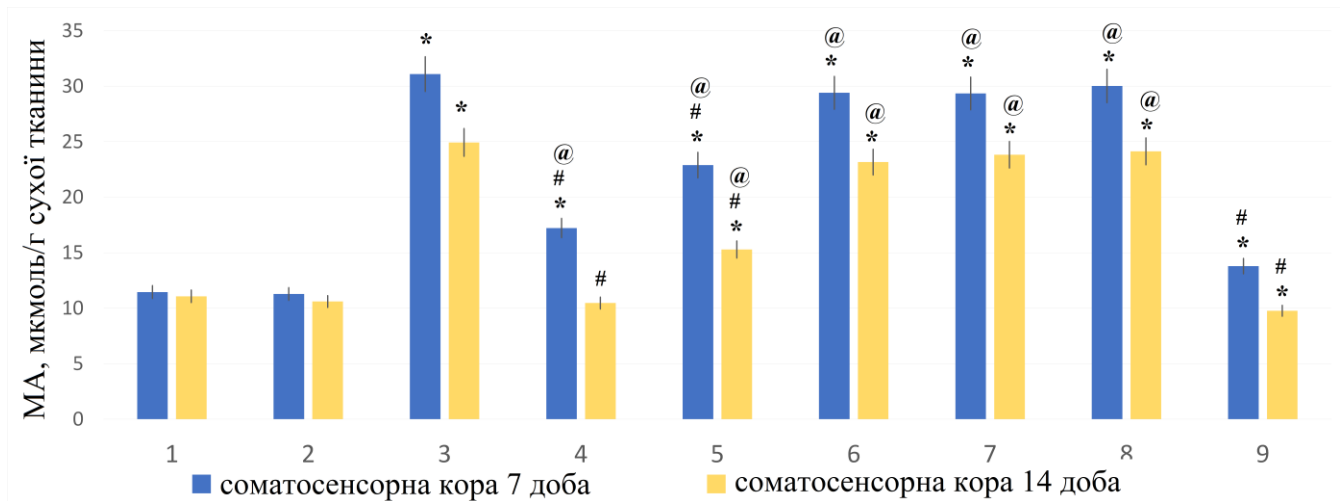


**Рис. 6.** Показники вмісту СДГ у соматосенсорній корі щурів при ішемії-реперфузії (ІР) головного мозку й на тлі корекції. На осі абсцис відкладено експериментальні групи (1-9). \* – статистично достовірна відмінність порівняно з псевдооперованими тваринами ( $p < 0,05$ ); # – статистично достовірна відмінність порівняно з тваринами групи ІР ( $p < 0,05$ ); @ – статистично достовірна відмінність порівняно з групою цитиколіну ( $p < 0,05$ ).

Трансплантація hWJ-MSCs, ЕФЦ та застосування цитиколіну підвищувало вміст СДГ у середньому на 7-му добу на 93,9 %, 74,2 %, 104,1 % ( $p < 0,05$ ), на 14-ту добу – на 93,5 %, 86,5 %, 97,5 % ( $p < 0,05$ ), у порівнянні з групою тварин із контрольною патологією (див. рис. 6).

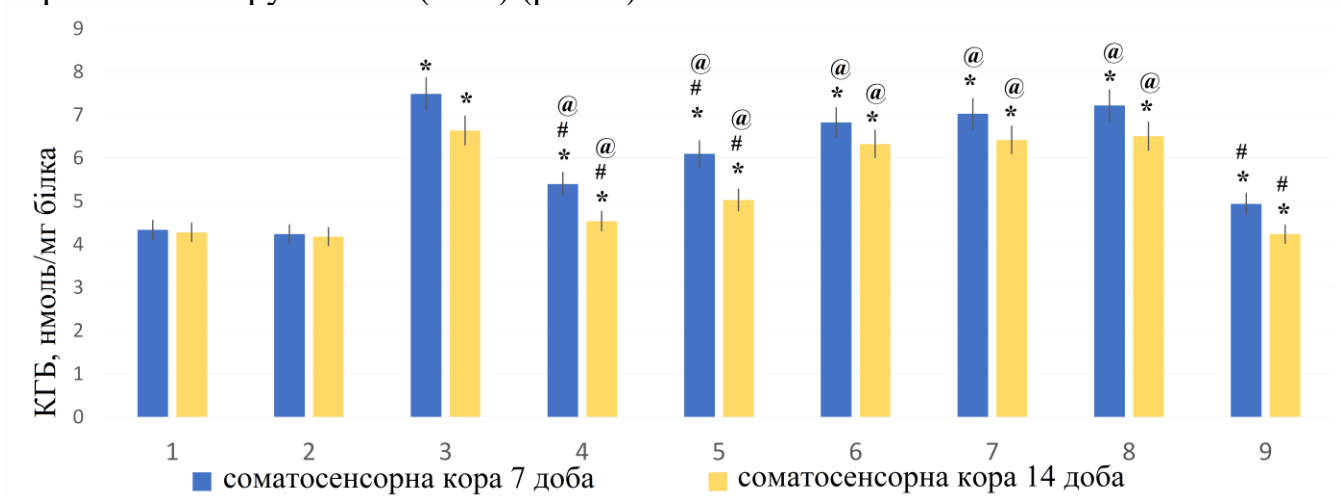
На підставі отриманих результатів слід зазначити, що лікувальна в/в трансплантація щурам з ІР головного мозку hWJ-MSCs сприяла кращому за решту стовбурових клітин та 1 from WJ-MSCs відновленню порушених енергетичних процесів у соматосенсорній корі й гіпокампі та усувала метаболічний ацидоз на рівні цитиколіну або ліпше за нього, що є однією з ланок механізму церебропротекторної дії МСК. За ефективністю ЕФЦ дещо поступалися цитиколіну та hWJ-MSCs, що свідчить про більш високу церебропротекторну активність ксенотрансплантації. Водночас 1 from WJ-MSCs мав найменшу здатність серед досліджуваних речовин нормалізувати вуглеводний обмін у тканинах головного мозку щурів за умов ІР ураження.

Однією з провідних ланок у патобіохімічному каскаді, що спричиняє пошкодження тканин мозку за умов гострої ішемії-реперфузії, окрім енергодефіциту та метаболічного ацидозу, є продукування АФК, що формує оксидативний стрес, який відбувається на тлі пригнічення активності власних антиоксидантних ферментів. Крім того, оксидативний стрес при реперфузії, індукує процеси окисної модифікації білків (ОМБ) та ПОЛ, що може призвести клітини мозку до апоптозу, аутофагії та некрозу (Orellana-Urzuá S. et al., 2020). Під час проведеного нами дослідження було встановлено, що змодельована ІР супроводжувалась розвитком у соматосенсорній корі головного мозку в щурів оксидативного стресу, що відображалось вірогідним зростанням рівня МА (рис. 7).



**Рис. 7.** Показники перекисного окислення ліпідів у соматосенсорній корі щурів за умов ішемії-реперфузії (ІР) головного мозку й на тлі корекції. На осі абсцис відкладено експериментальні групи (1-9). \* – статистично достовірна відмінність порівняно з псевдооперованими тваринами ( $p < 0,05$ ); # – статистично достовірна відмінність порівняно з тваринами групи ІР ( $p < 0,05$ ); @ – статистично достовірна відмінність порівняно з групою цитиколіну ( $p < 0,05$ ).

Трансплантація в/в hWJ-MSCs та ЕФЩ, як і введення цитиколіну сприяло достовірному зниженню вмісту МА в соматосенсорній корі головного мозку в щурів на 7-му добу експерименту в середньому на 44,6 %, 26,4 %, 55,6 % ( $p < 0,05$ ) та на 14-ту добу – в середньому на 58,0 %, 38,7 %, 60,8 % ( $p < 0,05$ ) відносно групи тварин із контрольною патологією (див. рис. 7). Інтенсифікація вільнорадикального окислення при ІР відбулась поряд з активацією ОМБ у структурах головного мозку, що супроводжувалось збільшенням вмісту карбонільних груп білків (КГБ) (рис. 8).

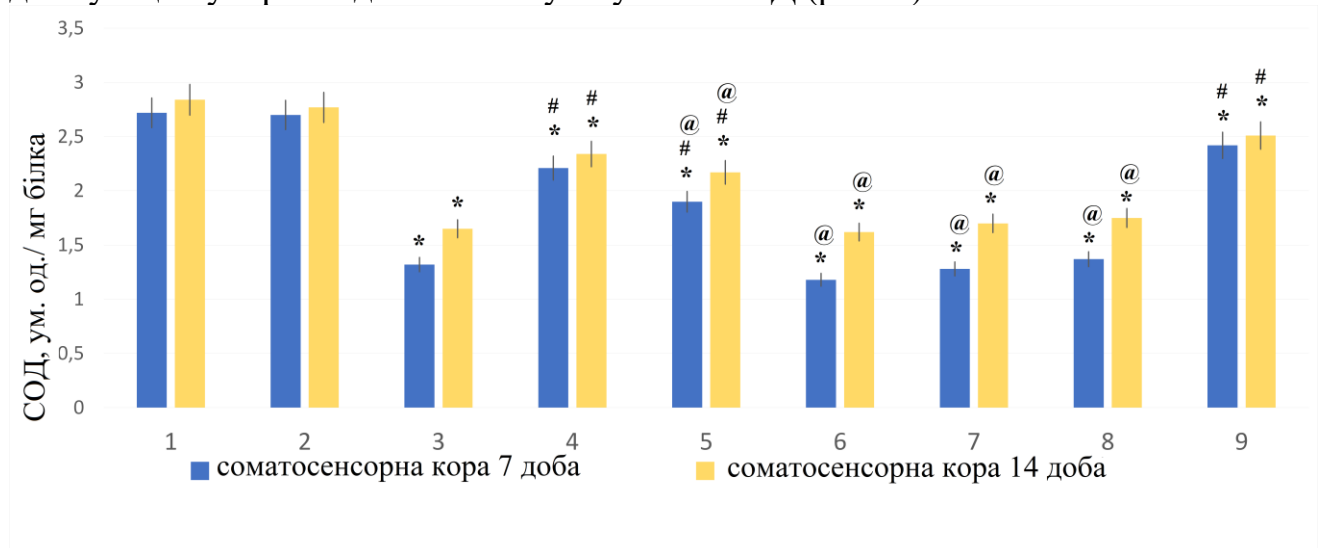


**Рис. 8.** Показники окисної модифікації білків у соматосенсорній корі щурів за умов ішемії-реперфузії (ІР) головного мозку й на тлі корекції. На осі абсцис відкладено експериментальні групи (1-9). \* – статистично достовірна відмінність порівняно з псевдооперованими тваринами ( $p < 0,05$ ); # –

статистично достовірна відмінність порівняно з тваринами групи ІР ( $p < 0,05$ ); @ – статистично достовірна відмінність порівняно з групою цитиколіну ( $p < 0,05$ ).

Вміст КГБ у гомогенаті мозку тварин груп, що на тлі ІР яким в якості терапевтичної корекції в/в трансплантували hWJ-MSCs, ЕФЩ та ввели цитиколін, вірогідно був меншим на 7-му добу дослідження в середньому на 27,9 %, 18,6 %, 34,1 % ( $p < 0,05$ ), а на 14-ту добу – в середньому на 31,6 %, 24,3 %, 36,1 % ( $p < 0,05$ ), порівняно з групою тварин із контрольною патологією (див. рис. 8).

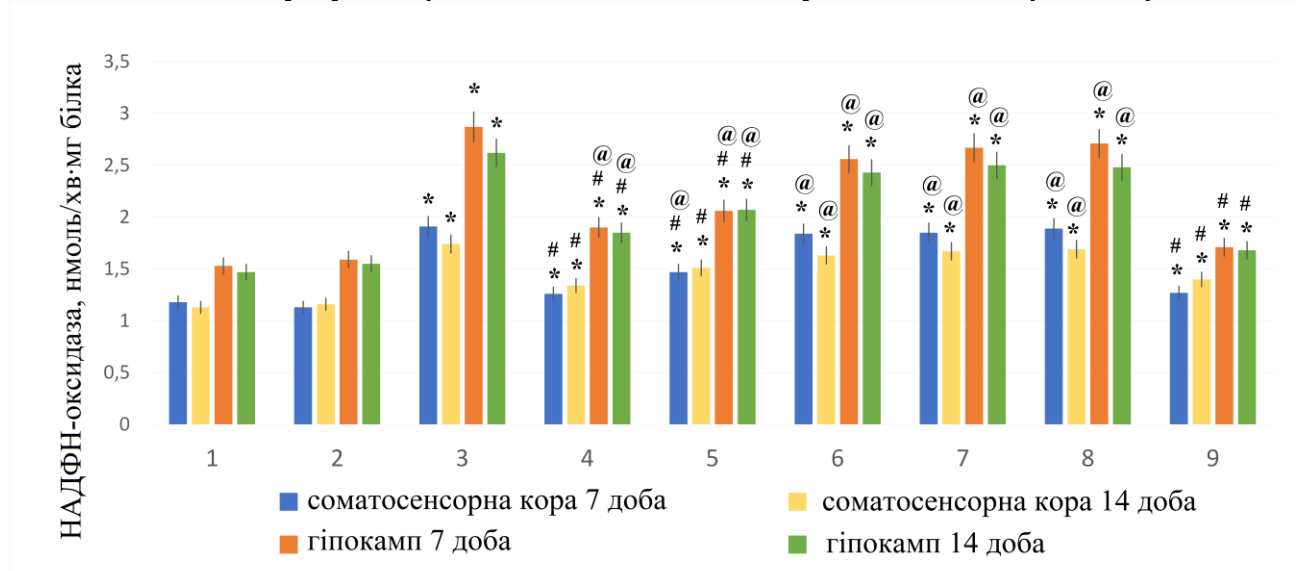
Реалізація процесів оксидативного стресу відбулась на тлі суттєвого зниження активності антиоксидантних ензимів. З'ясовано, що за умов ішемії з подальшою реперфузією в головному мозку щурів знижувалась здатність до дисмутації супероксидного-аніону за участі СОД (рис. 9).



**Рис. 9.** Показники активності СОД у соматосенсорній корі щурів за умов ішемії-реперфузії (ІР) головного мозку й на тлі корекції. На осі абсцис відкладено експериментальні групи (1-9). \* – статистично достовірна відмінність порівняно з псевдооперованими тваринами ( $p < 0,05$ ); # – статистично достовірна відмінність порівняно з тваринами групи ІР ( $p < 0,05$ ); @ – статистично достовірна відмінність порівняно з групою цитиколіну ( $p < 0,05$ ).

Відзначено також позитивний вплив в/в трансплантації hWJ-MSCs, ЕФЩ та застосування цитиколіну на стан антиоксидантного ферменту СОД, що вірогідно зменшувало падіння рівня його активності в соматосенсорній корі головного мозку в щурів на 7-му добу експерименту в середньому на 67,4%, 43,9% та 83,3% ( $p < 0,05$ ), а на 14-ту добу – в середньому на 41,8 %, 31,5 %, 52,1 % ( $p < 0,05$ ) відносно групи тварин із контрольною патологією (див. рис. 9). Зменшення активності антиоксидантних ензимів може бути ще однією з причин активації процесів окисної дегградації ліпідів та білків у мозку щурів. При цьому за величиною антирадикальної активності (спроможністю зменшувати активацію ПОЛ та ОМБ у корі головного мозку) та здатністю зберігати пул ферментів антиоксидантного захисту hWJ-MSCs людини не поступалися референс-препарату.

Однією з причин накопичення активних кисневих інтермедіатів та активації процесів ПОЛ та ОМБ за умов ІР пошкодження мозку є неповне відновлення електронами молекулярного кисню та порушення роботи дихального ланцюга. Ішемічне ураження з подальшим реперфузійним пошкодженням головного мозку супроводжується вірогідним зростанням активності НАДФН-оксидази – потужної прооксидантної ферментативної системи (рис. 10), у соматосенсорній корі та гіпокампі головного мозку в щурів у досліджувані періоди експерименту, але в гіпокампі це збільшення рівня активності ензиму було вірогідно більшим, а ніж у соматосенсорній корі.

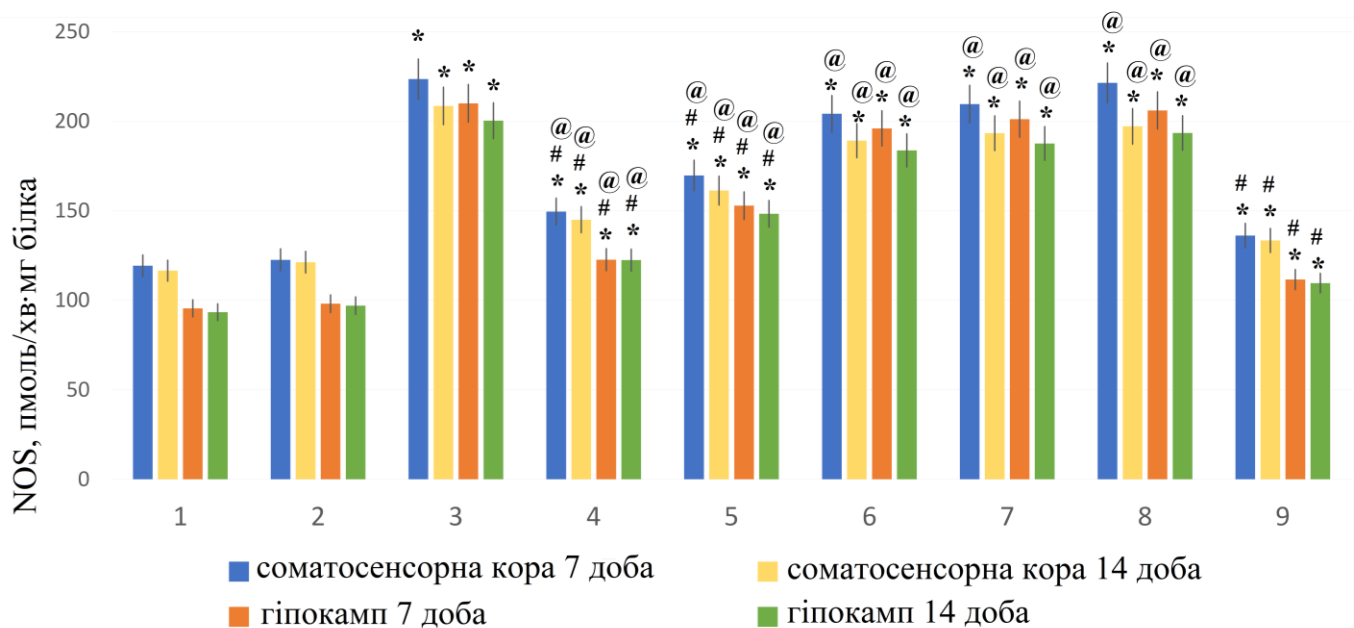


**Рис. 10.** Показники активності НАДФН-оксидази в соматосенсорній корі та гіпокампі щурів за умов ішемії-реперфузії (ІР) головного мозку й на тлі корекції. На осі абсцис відкладено експериментальні групи (1-9). \* – статистично достовірна відмінність порівняно з псевдооперованими тваринами ( $p < 0,05$ ); # – статистично достовірна відмінність порівняно з тваринами групи ІР ( $p < 0,05$ ); @ – статистично достовірна відмінність порівняно з групою цитиколіну ( $p < 0,05$ ).

Призначена терапія мала депримуєчий вплив на активність НАДФН-оксидази в соматосенсорній корі та гіпокампі головного мозку щурів із модельованою ІР, однак в/в трансплантація hWJ-MSCs, ЕФЦ та застосування цитиколіну достовірно зменшувало зростання активності ензиму на 7-му добу експерименту в середньому на 34,0 %, 23,0 %, 33,5 % ( $p < 0,05$ ) та на 33,8 %, 28,2 % та 40,4 % ( $p < 0,05$ ), а на 14-ту добу – в середньому на 23,0 %, 13,2 % та 19,5 % ( $p < 0,05$ ), на 29,4 %, 21,0 % та 35,9 % ( $p < 0,05$ ), порівняно з показниками групи з контрольною патологією (див. рис. 10). Отже, результати проведеного дослідження свідчать, що в/в трансплантація hWJ-MSCs за умов змодельованої ІР головного мозку в щурів, на відміну від інших досліджуваних стовбурових клітин та l from WJ-MSCs, не поступалася референс-препарату та володіла кращим позитивним модулюючим впливом на оксидантно-антиоксидантний баланс, що ймовірно є одним із механізмів їх нейропротекторної дії.

NO та пероксинітрит ( $\text{ONOO}^-$ ) є основними видами активних форм азоту, що беруть участь у процесі ішемічно-реперфузійного пошкодження та являють собою головні фактори реалізації нітрозуючого стресу. Останні дані вказують на те, що цитотоксична дія NO скоріше пов'язана з пероксинітритом, який утворюється в результаті реакції, обмеженої дифузією між NO та іншим вільним радикалом, супероксид-аніоном (Ramdial K. et al., 2017). Пероксинітрит взаємодіє з ліпідами, ДНК і білками через прямі окислювальні реакції або через непрямі, опосередковані радикалами, що спричиняє значне окислювальне пошкодження, яке призводить до некрозу чи апоптозу клітин (Piacenza L. et al., 2022).

Нами встановлено, що ІР головного мозку в щурів призводить до підвищення в соматосенсорній корі та гіпокампі сумарної активності NOS у середньому в 1,8 та 2,0 рази ( $p < 0,05$ ) (рис. 11).



**Рис. 11.** Показники нітрозуючого стресу в соматосенсорній корі та гіпокампі щурів за умов ішемії-реперфузії (ІР) головного мозку й на тлі корекції ( $M \pm m$ ,  $n=7$ ). На осі абсцис відкладено експериментальні групи (1-9). \* – статистично достовірна відмінність порівняно з псевдооперованими тваринами ( $p < 0,05$ ); # – статистично достовірна відмінність порівняно з тваринами групи ІР ( $p < 0,05$ ); @ – статистично достовірна відмінність порівняно з групою цитиколіну ( $p < 0,05$ ).

Можливо, активація NOS відбувається за рахунок індукцйбельної ізоформи, адже експресія останньої зростає під час запалення. Експериментальна терапія щурів із ІР ураженням головного мозку цитиколіном (250 мг/кг, в/в) та, меншою мірою, трансплантацією hWJ-MSCs ( $10^6$  клітин/тварину суспендовані в 0,2 мл фізіологічного розчину, в/в) і ще меншою – ЕФЦ ( $10^6$  клітин/тварину суспендовані в 0,2 мл фізіологічного розчину, в/в) чинило позитивний модулюючий вплив на сумарну активність NOS і сприяло зниженню ступеня активності в соматосенсорній корі та гіпокампі на 7-му добу експерименту в середньому на 39,1 %, 33,1 %, 24,1 %

( $p < 0,05$ ) та 46,9 %, 41,6 %, 27,2 % ( $p < 0,05$ ), а на 14-ту добу – в середньому на 36,0 %, 30,5 %, 22,7 % ( $p < 0,05$ ) та 45,3 %, 38,9 %, 26,0 % ( $p < 0,05$ ) (див. рис. 11). hWJ-MSCs ліпше за решту досліджуваних стовбурових клітин і 1 from WJ-MSCs та подібно до референс-препарату цитиколіну сприяли відновленню в ішемізованому головному мозку щурів нормального функціонування циклу NO як у підгострому, так й у відновлювальному періоді ІР. Подібний коригувальний вплив досліджуваних засобів на сумарну активність NOS вірогідно був вищим у гіпокампі, ніж у соматосенсорній корі в середньому відповідно на 18,1 % та 17,9 % (група цитиколіну) і на 18,0 % та 15,6 % (група hWJ-MSCs) (див. рис. 11).

Отже, результати проведених досліджень демонструють наявність у hWJ-MSCs церебропротекторних властивостей в умовах модельної ІР. Провідними механізмами, що забезпечують захисну дію hWJ-MSCs при ішемічно-реперфузійному ураженні головного мозку, є спроможність попереджати розвиток змішаного ацидозу, енергодефіциту, оксидативного та нітрозуючого стресів, що гальмує ініціацію процесів нейродеструкції. Відповідно до отриманих результатів hWJ-MSCs в умовах ІР головного мозку краще за решту стовбурових клітин та цитиколін чинили виразну дію на процеси аеробного та анаеробного окислення вуглеводів, антирадикальну активність та здатність до збереження пулу ферментів антиоксидантного захисту мозку. У наших дослідженнях встановлено також, що лікувальна в/в трансплантація щурам з ІР головного мозку hWJ-MSCs сприяла кращому відновленню порушених енергетичних процесів у соматосенсорній корі, що є однією з ланок механізму церебропротекторної дії МСК. За ефективністю ЕФЦ дещо поступалися цитиколіну та hWJ-MSCs, що свідчить про більш високу церебропротекторну активність ксенотрансплантації.

Наступним етапом дослідження став імуногістохімічний аналіз змін у соматосенсорній корі та гіпокампі при ішемії-реперфузії головного мозку в щурів і на тлі терапевтичної корекції. За допомогою флуоресцентної імуногістохімії з використанням маркерів нейронів (антитіл проти NeuN), астроцитів (антитіл проти GFAP), мікрогліальних клітин (антитіл проти Iba1) та олігодендроцитів (антитіл проти Rip – Receptor Interacting Protein) було встановлено, що найбільш чутливою до ішемічного ураження виявилася CA1 ділянка гіпокампа. Зміни в соматосенсорній корі та інших ділянках головного мозку не були статистично достовірними. Тому в подальших імуногістохімічних дослідженнях ми зосередили свою увагу на CA1 ділянці гіпокампа. На 7-му та 14-ту добу після ІР інтенсивність флуоресценції NeuN-позитивних нейронів у CA1 ділянці гіпокампа значно знижувалася, а GFAP-позитивних астроцитів та Iba1-позитивних мікрогліальних клітин – збільшувалася.

Інтенсивність флуоресценції переважної більшості NeuN-позитивних нейронів у пірамідному шарі CA1 ділянки гіпокампа була значно меншою, ніж у контрольній групі псевдооперованих тварин. Кількість інтактних NeuN-позитивних пірамідних клітин, які демонстрували максимальне флуоресцентне

забарвлення, була незначною.

Завдяки імуногістохімічному дослідженню фронтальних зрізів головного мозку з використанням антитіл проти GFAP виявлено, що після ІР у щурів спостерігалось збільшення інтенсивності забарвлення GFAP-позитивних астроцитів у порівнянні з контрольною групою псевдооперованих тварин.

GFAP-позитивні астроцити набували гіпертрофованої форми, відростки ставали коротшими та товстішими, спостерігалось скупчення астроцитів у пірамідному шарі CA1 ділянки гіпокампа, в місці загибелі нейронів. Тобто спостерігався виражений реактивний астрогліоз в CA1 ділянці гіпокампа.

Аналогічна реакція на ІР спостерігалася з боку мікрогліальних клітин. Імуногістохімічний аналіз із використанням маркера мікрогліальних клітин Iba1 дозволив виявити, що інтенсивність Iba1-позитивного сигналу значно збільшувалася в CA1 ділянці гіпокампа, зокрема в пірамідному шарі.

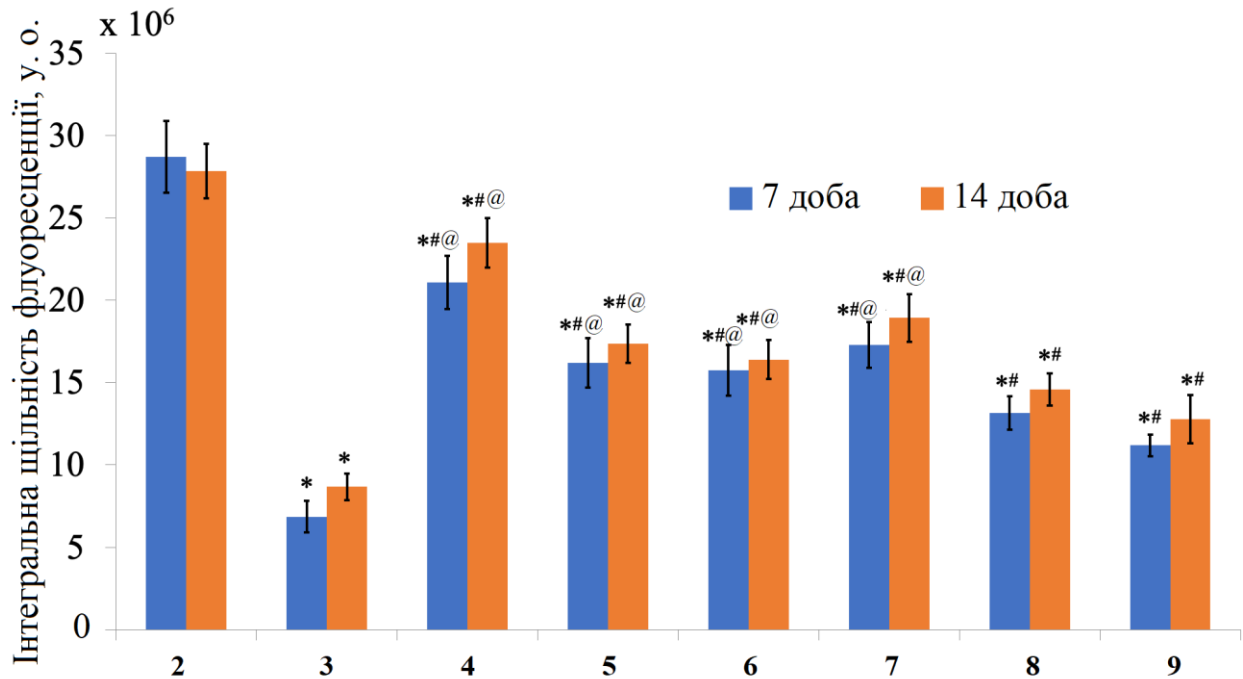
Iba1-позитивні мікрогліальні клітини після ІР змінювали свій фенотип "спокою" (resting phenotype) на амебоїдний або паличкоподібний, що свідчило про реактивний гліоз у CA1 ділянці гіпокампа. Iba1-позитивна мікроглія з амебоїдним фенотипом спостерігалася в основному в пірамідному шарі гіпокампа, а паличкоподібна розташовувалася паралельно до апікальних дендритів пірамідних нейронів.

ІР суттєво не впливала на Rip-імунореактивність зрізів головного мозку, різниця інтенсивності флуоресценції Rip-позитивних олігодендроцитів порівняно з контрольною групою псевдооперованих тварин не була статистично достовірною. Тому цей маркер (Rip) не брався до розгляду при подальшому імуногістохімічному аналізі.

Наступним етапом імуногістохімічного аналізу було дослідження впливу трансплантації стовбурових клітин різного генезу, 1 from WJ-MSCs та застосування цитиколіну (референс-препарат) після ІР головного мозку на стан нервової тканини. На 7-му та 14-ту добу після ІР усі варіанти експериментального лікування сприяли збільшенню інтенсивності забарвлення NeuN-позитивних нейронів у порівнянні з групою тварин із змодельованою ІР без лікування, але не сягали контрольного значення флуоресценції у псевдооперованих щурів.

Для кількісної оцінки отриманих результатів використовували показник – інтегральна щільність флуоресценції. Інтегральна щільність флуоресценції представлена в умовних одиницях (у.о.) і дорівнює інтенсивності флуоресценції, помноженій на площу флуоресценції (без урахування інтегральної щільності фонові флуоресценції). Інтенсивність та площу флуоресцентного маркера вимірювали шляхом автоматичного розрахунку середнього значення сірого в межах порогу вимірювання.

Інтегральна щільність флуоресценції NeuN-позитивних нейронів на фронтальних зрізах головного мозку щура різних експериментальних груп представлена на рис. 12.

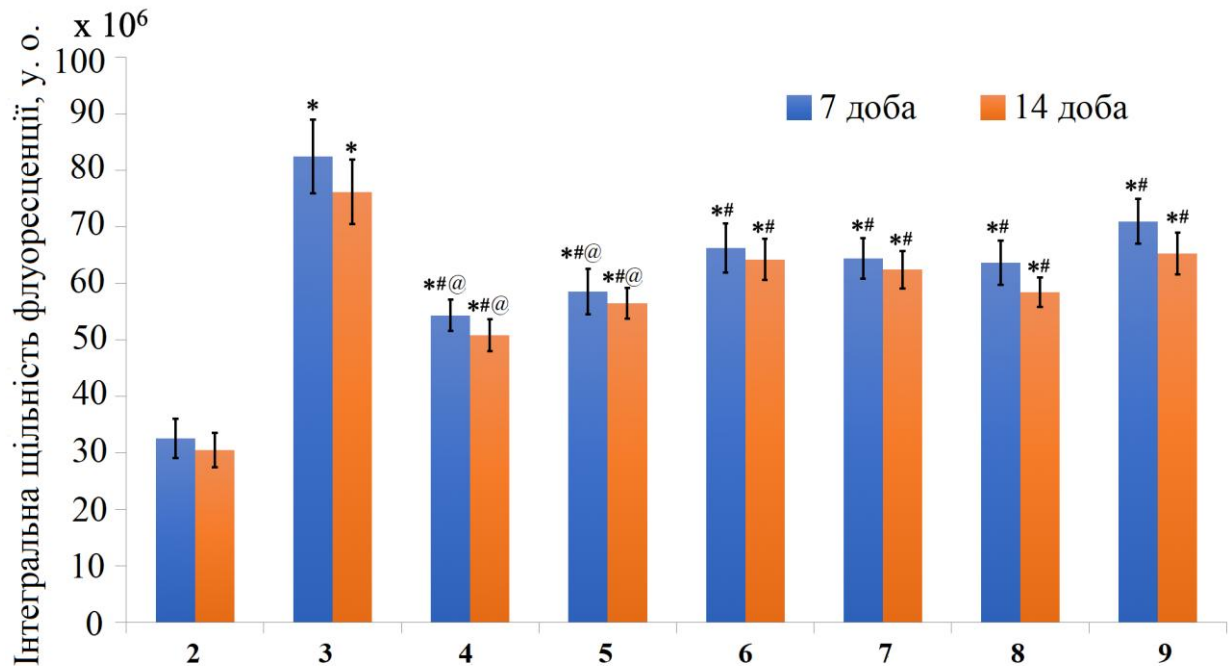


**Рис. 12.** Інтегральна щільність флуоресценції NeuN-позитивних нейронів на фронтальних зрізах СА1 ділянки гіпокампа. На осі абсцис відкладено експериментальні групи (2-9). \* – статистично достовірна відмінність порівняно з псевдооперованими тваринами ( $p < 0,05$ ); # – статистично достовірна відмінність порівняно з тваринами групи ІР ( $p < 0,05$ ); @ – статистично достовірна відмінність порівняно з групою цитиколіну ( $p < 0,05$ ); у.о. – умовні одиниці.

Статистичний аналіз інтегральної щільності флуоресценції NeuN-позитивних нейронів продемонстрував, що ішемія-реперфузія зменшувала інтенсивність флуоресценції в 4,2 (7-ма доба) і 3,2 рази (14-та доба) порівняно з групою 2 (псевдооперовані тварини) і становила  $6,86 \times 10^6 \pm 0,96$  у.о. та  $8,67 \times 10^6 \pm 0,82$  у.о. (див. рис. 12).

Усі варіанти лікування (групи 4-9) демонстрували статистично достовірне збільшення інтенсивності флуоресценції порівняно із 3-ю групою тварин (група ІР без лікування). Застосування hWJ-MSCs (4-та група) продемонструвало найкращий результат й інтегральна щільність флуоресценції NeuN-позитивних нейронів у цій групі становила  $21,07 \times 10^6 \pm 1,62$  у.о. (7-ма доба) та  $23,48 \times 10^6 \pm 1,52$  у.о. (14-та доба), але не сягала значень контрольної групи псевдооперованих щурів:  $28,79 \times 10^6 \pm 2,17$  у.о. (7-ма доба) та  $27,84 \times 10^6 \pm 1,64$  у.о. (14-та доба). Також інтегральна щільність флуоресценції NeuN-позитивних нейронів у групі 4 була статистично достовірно вищою порівняно із цитиколіном (референс-препаратом) як на 7-му, так і на 14-ту доби дослідження (див. рис. 12).

При оцінці інтегральної щільності флуоресценції GFAP-позитивного сигналу встановлено, що ІР призводила до збільшення GFAP-імунофлуоресценції і становила на 7-му добу  $82,45 \times 10^6 \pm 6,52$  у.о., на 14-ту добу –  $76,21 \times 10^6 \pm 5,72$  у.о. порівняно з контрольною групою псевдооперованих тварин ( $32,58 \times 10^6 \pm 3,49$  у.о. і  $30,48 \times 10^6 \pm 3,06$  у.о. відповідно) (рис. 13).

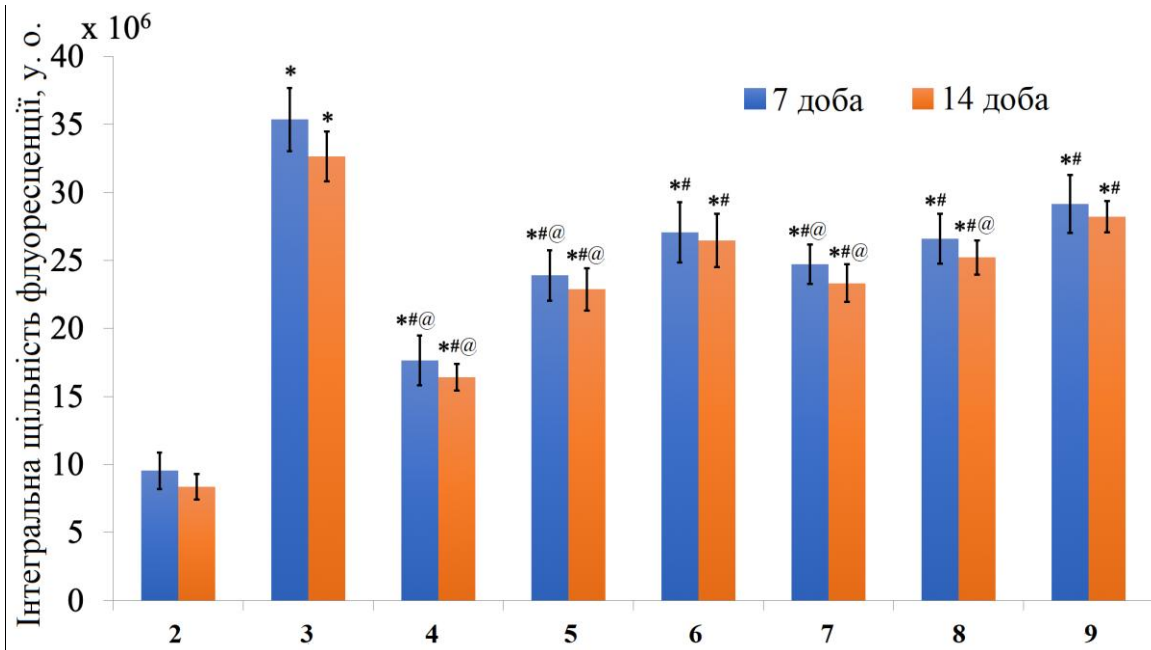


**Рис. 13.** Інтегральна щільність флуоресценції GFAP-позитивних астроцитів на фронтальних зрізах CA1 ділянки гіпокампа. На осі абсцис відкладено експериментальні групи (2-9). \* – статистично достовірна відмінність порівняно з псевдооперованими тваринами ( $p < 0,05$ ); # – статистично достовірна відмінність порівняно з тваринами групи ІР ( $p < 0,05$ ); @ – статистично достовірна відмінність порівняно з групою цитиколіну ( $p < 0,05$ ); у.о. – умовні одиниці.

Інтенсивність GFAP-флуоресценції достовірно зменшувалася в усіх варіантах лікування (групи 4-9) порівняно з 3-ю групою тварин (група ІР без лікування). Найкращий результат продемонструвала 4-та група (трансплантація hWJ-MSCs), інтегральна щільність флуоресценції GFAP-позитивних астроцитів у цій групі становила  $54,32 \times 10^6 \pm 2,78$  у.о. (7-ма доба) та  $50,82 \times 10^6 \pm 2,83$  у.о. (14-та доба), але не сягала значень контрольної групи псевдооперованих щурів. Також інтегральна щільність флуоресценції GFAP-позитивних астроцитів у цій групі була статистично достовірно нижчою порівняно з референс-препаратом цитиколіном як на 7-му, так і на 14-ту доби дослідження (див. рис. 13).

При імуногістохімічному аналізі фронтальних зрізів головного мозку на наявність маркера мікрогліальних клітин Iba1 встановлено, що на 7-му та 14-ту доби після ІР в групах 4-9 експериментальних тварин спостерігалось зменшення реактивного гліозу порівняно з 3-ю групою тварин (ІР без лікування), але не сягало контрольного значення Iba1-імунофлуоресценції у псевдооперованих щурів (група 2).

Кількісним аналізом інтенсивності флуоресценції виявлено, що в групі 3 (група ІР) збільшувалася інтегральна щільність флуоресценції Iba1-позитивних мікрогліальних клітин і становила на 7-му добу  $35,36 \times 10^6 \pm 2,07$  у.о., на 14-ту добу –  $32,64 \times 10^6 \pm 1,87$  у.о. порівняно з контрольною групою псевдооперованих тварин ( $9,54 \times 10^6 \pm 1,32$  у.о. і  $8,36 \times 10^6 \pm 1,35$  у.о. відповідно) (рис. 14).



**Рис. 14.** Інтегральна щільність флуоресценції Iba1-позитивних мікрогліальних клітин на фронтальних зрізах CA1 ділянки гіпокампа. На осі абсцис відкладено експериментальні групи (2-9). \* – статистично достовірна відмінність порівняно з псевдооперованими тваринами ( $p < 0,05$ ); # – статистично достовірна відмінність порівняно з тваринами групи IP ( $p < 0,05$ ); @ – статистично достовірна відмінність порівняно з групою цитиколіну ( $p < 0,05$ ); у.о. – умовні одиниці.

Інтенсивність Iba1-імунофлуоресценції достовірно зменшувалася в усіх варіантах лікування (групи 4-9) порівняно з 3-ю групою експериментальних тварин (група IP). Найкращий результат продемонструвала 4-та група (hWJ-MSCs), інтегральна щільність флуоресценції Iba1-позитивних мікрогліальних клітин у цій групі становила  $17,65 \times 10^6 \pm 1,97$  у.о. (7-ма доба) та  $16,42 \times 10^6 \pm 0,90$  у.о. (14-та доба), але не сягала значень контрольної групи псевдооперованих щурів. Також інтегральна щільність флуоресценції Iba1-позитивних мікрогліальних клітин у цій групі була статистично достовірно нижчою порівняно з референс-препаратом цитиколіном як на 7-му, так і на 14-ту доби дослідження.

Для дослідження можливих ангіопротекторних властивостей трансплантованих стовбурових клітин був проведений імуногістохімічний аналіз ендотеліальних клітин CA1 ділянки гіпокампа з використанням маркера RECA-1 (rat endothelial cell antigen). Встановлено, що антитіла проти RECA-1 добре профарбовували кровоносні судини гіпокампа, чітко візуалізувалися межі окремих ендотеліальних клітин RECA-1-позитивних кровоносних судинах. Не було виявлено реактивності RECA-1 з іншими клітинами, наприклад фібробластами, лейкоцитами й неендотеліальними стромальними клітинами. Оскільки попередніми імуногістохімічними дослідженнями виявлено найкращий результат лікування в групі 4 (hWJ-MSCs), було порівняно лише цю групу експериментальних тварин із псевдооперованими тваринами (2-га група) і 3-ю групою (IP без лікування) і референсним препаратом

цитиколіном.

Імуногістохімічним аналізом RECA-1-позитивних кровоносних судин на 14-ту добу після ІР та трансплантації hWJ-MSCs виявлено інтенсивну RECA-1-імунофлуоресценцію в усіх шарах CA1 зони гіпокампа, але найбільш розвиненою була кровоносна мережа в шарі *stratum lacunosum-moleculare*.

При кількісному аналізі RECA-1-імунофлуоресценції не виявлено статистично достовірної різниці інтенсивності флуоресценції RECA-1-позитивних кровоносних судин між досліджуваними групами.

Шляхом імуногістохімічного аналізу з використанням широкої панелі антитіл проти нейронів, трьох типів гліальних клітин та ендотеліальних клітин встановлено, що ІР призводила до загибелі NeuN-позитивних нейронів у CA1 ділянці гіпокампа, а також спричиняла реактивний гліоз – збільшення інтенсивності флуоресценції та гіпертрофію GFAP та Iba1-позитивних гліальних клітин в усіх шарах гіпокампа.

Під час проведених досліджень виявлено, що застосування усіх варіантів лікування (трансплантація МСК різного генезу, ЕФЦ, 1 from WJ-MSCs та референс-препарату цитиколіну) мало нейропротекторний ефект і зменшувало реактивний астро- та мікрогліози. Також встановлено, що найкращий результат лікування забезпечувало застосуванням hWJ-MSCs, яке також мало статистично достовірно кращий результат порівняно з референс-препаратом цитиколіном як на 7-му, так і на 14-ту доби дослідження.

Виявлені нейропротекторні властивості в/в трансплантації hWJ-MSCs можуть свідчити про перспективу їх використання в клітинній терапії гострої ішемії головного мозку.

Наступним етапом дослідження було встановлення кореляційних зв'язків між біохімічними показниками в соматосенсорній корі й гіпокампі (у різні терміни розвитку ішемічного процесу) та морфо-функціональними параметрами ЦНС у щурів зі змодельованою ІР і на тлі її терапевтичної корекції.

Отже, у групі щурів з оборотною субтотальною церебральною ішемією, яким в/в трансплантували hWJ-MSCs при аналізі кореляційних зв'язків були встановлені сильні прямі ( $r_s =$  від 0,76,  $p < 0,05$  до 0,96,  $p < 0,01$ ) та зворотні ( $r_s =$  від -0,76,  $p < 0,05$  до -0,90,  $p < 0,05$ ) лінійні залежності. Привертають нашу увагу однакові достовірні множинні прямі зв'язки між показниками вмісту білка в соматосенсорній корі та гіпокампі на 7-му та 14-ту добу після ІР із кількістю, тривалістю епізодів і тривалістю латентного періоду горизонтальних та вертикальних локомоторних реакцій, що є позитивною залежністю між цілісністю нервової тканини (на яку впливали hWJ-MSCs) та функціональною ефективністю в щурів із церебральною ІР. Також встановлено наявність однакових сильних прямих кореляційних зв'язків між показниками вмісту глюкози в соматосенсорній корі та гіпокампі з інтегральною щільністю флуоресценції Iba+мікроглії на фронтальних зрізах CA1 ділянки гіпокампа ( $r_s =$  0,90,  $p < 0,05$ ), що вказує на пряму кореляційну залежність між енергодефіцитом у нервовій тканині (на який впливали hWJ-MSCs) та

мікрогліальною активацією в СА1 ділянці гіпокампа на 7-му добу після ІР. Під впливом hWJ-MSCs встановлено однакові, з групою псевдооперованих тварин, вірогідні прямі кореляційні зв'язки між показником активності NADPH у соматосенсорній корі на 14-ту добу з інтегральною щільністю флуоресценції GFAP+астроцитів на фронтальних зрізах СА1 ділянки гіпокампа на 14-ту добу після ІР ( $r_s = 0,90$ ,  $p < 0,05$ ). У своєму дослідженні A. Verkhatsky із своїми колегами (Verkhatsky A. et al., 2014) звернули увагу на патологічні реакції глії як на складні та багатоетапні захисні процеси. Астро- та мікрогліоз був визнаний основним патологічним компонентом і головною ознакою нейрозапалення у дослідженні R. Gualtierotti (Gualtierotti R. et al., 2017).

На теперішній час існують різні способи оцінки нейрозапалення. Ми визначали шляхом імуногістохімічного фарбування специфічними маркерами астроцитарної відповіді (GFAP) і мікрогліальної активації (Iba-1). Отже, посилення енергетичного метаболізму під час церебральної ішемії шляхом трансплантації hWJ-MSCs є важливим кроком у запобіганні гліальній активації, що, на нашу думку, є позитивним фактором у зменшенні реактивного гліозу. Однакові сильні зворотні кореляційні залежності виявлені між показниками вмісту глюкози в соматосенсорній корі та гіпокампі з відсотковим співвідношенням клітин фази G0G1 до всіх клітин клітинного циклу в соматосенсорній корі (вміст ДНК = 2с) та з відсотковим співвідношенням фази G2 + М до всіх клітин клітинного циклу в гіпокампі (ДНК = 4с) 7-ма доба спостереження ( $r_s = -0,90$  в обох випадках,  $p < 0,05$ ). Специфічним для щурів зі змодельованою ІР, яким в/в трансплантували hWJ-MSCs, є також виникнення прямих кореляційних зв'язків між показником вмісту глюкози в соматосенсорній корі на 14-ту добу дослідження з кількістю неушкоджених ядер у гіпокампі на 7-му та 14-ту добу після ІР ( $r_s = 0,90$  в обох випадках,  $p < 0,05$ ). Це вказує на наявність кореляції між рівнем глюкози в нервовій тканині та нейропротекторною ефективністю hWJ-MSCs в соматосенсорній корі та гіпокампі щурів із церебральною ІР. Наші дані узгоджуються з висновками інших дослідників про те, що нейропротекція та нейрогенез МСК опосередковані секрецією різноманітних цитокінів, хемокінів, факторів росту та трофіки, оскільки при парентеральній трансплантації не можуть потрапити безпосередньо до вогнища ішемічно-реперфузійного ураження головного мозку (Mukhamedshina Y.O. et al., 2019, Namestnikova D.D. et al., 2021). Вміст МА в соматосенсорній корі щурів на тлі в/в трансплантації hWJ-MSCs на 7-му добу після ІР демонструє подібний до групи псевдооперованих тварин прямий лінійний зв'язок з кількістю неушкоджених ядер у гіпокампі (на 7-му та 14-ту добу після ІР,  $r_s = 0,90$  в обох випадках,  $p < 0,05$ ), що може свідчити про пряму наявність кореляції між антирадикальною активністю (спроможність зменшувати вміст МА, на яку впливали МСК) та церебропротекторною ефективністю в щурів із церебральною ішемією-реперфузією.

У групі щурів із оборотною субтотальною церебральною ішемією, яким в/в трансплантували ЕФЩ, при аналізі кореляційних зв'язків між функціональними, морфологічними параметрами, неврологічним дефіцитом та

біохімічними показниками в соматосенсорній корі й гіпокампі були встановлені сильні прямі ( $r_s =$  від 0,81,  $p < 0,05$  до 0,97,  $p < 0,01$ ) та зворотні ( $r_s =$  від -0,76,  $p < 0,05$  до -0,97,  $p < 0,01$ ) кореляційні залежності. Встановлено однакові достовірні множинні прямі зв'язки між показниками вмісту білка в соматосенсорній корі та гіпокампі на 7-му добу після ІР із кількістю та тривалістю епізодів амбуляції через центральні квадрати на 14-ту добу експерименту, з фазою S клітинного циклу в гіпокампі (відсоткове співвідношення фази синтезу ДНК до всіх клітин клітинного циклу ((вміст ДНК  $> 2c$  та  $< 4c$ ) 7-ма доба), а також між показниками вмісту білка в соматосенсорній корі та гіпокампі на 14-ту добу після ІР із кількістю ушкоджених ядер (каріопікноз, каріорексис) у гіпокампі на 14-ту добу після ІР, з відсотковим співвідношенням фази G2 + M до всіх клітин клітинного циклу в гіпокампі (ДНК = 4c) на 7-му добу спостереження ( $r_s =$  від 0,85,  $p < 0,05$  до 0,97,  $p < 0,01$ ). Отже, доведено пряму залежність між активацією відновлення нервової тканини (на яку впливали ембріональні фібробласти щура) в гіпокампі, особливо чутливому до церебральної ішемії, та функціональною активністю в щурів з ІР ураженням головного мозку, що, на нашу думку, є позитивним результатом експериментальної терапії. Аналогічно встановлено однакові достовірні сильні прямі кореляційні зв'язки між показником вмісту лактату в соматосенсорній корі та гіпокампі на 14-ту добу після ІР з тривалістю епізодів амбуляції через периферійні квадрати на 14-ту добу експерименту, з інтегральною щільністю флуоресценції NeuN+нейронів на фронтальних зрізах СА1 ділянки гіпокампа (7-ма доба після ІР), із SUB-G0G1 ділянками на ДНК-гістограмах – RN1 перед піком G0G1, яка вказує на ядра клітин з вмістом ДНК  $< 2c$  у гіпокампі ( $r_s =$  від 0,89,  $p < 0,05$  до 0,90,  $p < 0,05$ ). Це свідчить про наявність кореляції між рівнем метаболічного лактатацидозу в нервовій тканині та нейропротекторною ефективністю ембріональних фібробластів щура запобігати пошкодженню нейронів у гіпокампі, а також поліпшувати функціональне відновлення на 14-ту добу після модельної церебральної ІР у щурів. Також виявлено однакові достовірні множинні зв'язки між показниками активності NADFH у соматосенсорній корі та гіпокампі на 7-му добу після ІР з фазою S клітинного циклу в соматосенсорній корі (відсоткове співвідношення фази синтезу ДНК до всіх клітин клітинного циклу (вміст ДНК  $> 2c$  та  $< 4c$ ) 7-ма доба) ( $r_s =$  0,90,  $p < 0,05$ ), із інтегральною щільністю флуоресценції NeuN+нейронів на фронтальних зрізах СА1 ділянки гіпокампа 7-ма доба після ІР ( $r_s =$  -0,90,  $p < 0,05$ ). Як стало відомо з літературних джерел, ішемічний інсульт може викликати надмірне накопичення іонів  $Ca^{2+}$  всередині мітохондрій, що призводить до мітохондріальної дисфункції, яка виникає внаслідок перетворення матричного  $NAD^+$  на NADH і при цьому утворюється надмірна кількість АФК, активується мітохондріально-індукований апоптоз та мітофагія (Shao Z. et al., 2020, Zhang Y. et al., 2020).

Отже, нами встановлено, що зміни активності NADFH у соматосенсорній корі та гіпокампі під впливом в/в трансплантації ЕФЩ в підгострий період ІР

високоспецифічно корелюють з морфологічними показниками, визначеними в гіпокампі та соматосенсорній корі.

При аналізі впливу в/в трансплантації ЕФЩ на оксидантно-антиоксидантний баланс виявлено однакові достовірні множинні прямі зв'язки між показниками активності NOS у соматосенсорній корі та гіпокампі на 7-му добу після ІР із тривалістю латентного періоду та епізодів грумінгу на 14-ту добу експерименту, з тривалістю латентного періоду амбуляції через периферійні квадрати на 14-ту добу спостереження, з кількістю неушкоджених ядер у соматосенсорній корі на 7-му добу після ІР ( $r_s$  = від 0,81,  $p < 0,05$  до 0,97,  $p < 0,01$ ), а також між показниками активності NOS у соматосенсорній корі та гіпокампі на 14-ту добу після ІР із кількістю та тривалістю епізодів кламбінгу на 14-ту добу експерименту, з кількістю епізодів амбуляції через периферійні квадрати на 14-ту добу спостереження ( $r_s$  = від 0,83,  $p < 0,05$  до 0,94,  $p < 0,01$ ).

Отже, терапія щурів із модельною ІР головного мозку шляхом в/в трансплантації ЕФЩ, на нашу думку, чинила позитивний модельючий вплив на цикл NO, що проявилось прямою кореляційною залежністю з емоційно-поведінковими реакціями в піддослідних тварин у досліджуванні періоди експерименту. Також виявлено зміну напрямку кореляційного зв'язку з прямого на зворотній між показниками активності NOS у соматосенсорній корі та гіпокампі на 7-му (прямий) та 14-ту добу (зворотній) після ІР з кількістю неушкоджених ядер у соматосенсорній корі на 7-му добу після ІР ( $r_s$  = -0,90,  $p < 0,05$ ), що вказує на наявність кореляції між розвитком у тканинах головного мозку нітрозуючого стресу (на який впливали ембріональні фібробласти щура) та цілісністю нейронів у соматосенсорній корі на 7-му добу після ІР.

При аналізі кореляційних зв'язків між функціональними, морфологічними параметрами, неврологічним дефіцитом та біохімічними показниками в соматосенсорній корі й гіпокампі щурів із оборотною субтотальною церебральною ішемією, яким в/в трансплантували hADMSCs, встановлено сильні прямі ( $r_s$  = від 0,78,  $p < 0,05$  до 0,97,  $p < 0,01$ ) та зворотні ( $r_s$  = від -0,77,  $p < 0,05$  до -0,97,  $p < 0,01$ ) залежності. Виявлено однакові достовірні зворотні зв'язки між показниками вмісту білка в соматосенсорній корі та гіпокампі на 7-му добу після ІР із неврологічним дефіцитом за шкалою Stroke-index McGrow на 7-му добу експерименту, з кількістю епізодів грумінгу на 7-му добу експерименту ( $r_s$  = від -0,83,  $p < 0,05$  до -0,94,  $p < 0,01$ ); між показниками вмісту білка в соматосенсорній корі та гіпокампі на 14-ту добу після ІР із тривалістю латентного періоду грумінгу на 7-му добу експерименту ( $r_s$  = -0,81,  $p < 0,05$ ). Це вказує на залежність між вмістом білка в тканинах головного мозку щурів (на який впливали hADMSCs) та позитивною динамікою змін у неврологічному статусі й емоційній реактивності піддослідних тварин. Також виявлено однакові достовірні зв'язки між показниками активності NADFH у соматосенсорній корі та гіпокампі на 7-му добу після ІР з тривалістю латентного періоду грумінгу на 14-ту добу експерименту ( $r_s$  = 0,82,  $p < 0,05$ ), з відсотковим співвідношенням клітин фази G0G1 до всіх клітин клітинного циклу в соматосенсорній корі (вміст ДНК = 2с) 7-ма доба дослідження ( $r_s$  = -

0,90,  $p < 0,05$ ), з кількістю епізодів грумінгу на 7-му добу спостереження ( $r_s = -0,90$ ,  $p < 0,05$ ). Це вказує на кореляційну залежність між показниками активності NADFH в тканинах досліджуваних структур головного мозку щурів (на який впливали hADMSCs) та динамікою змін у морфологічних показниках в соматосенсорній корі та емоційній реакції тварин. Суттєвим фактом є виявлені однакові достовірні сильні зв'язки між показником активності NOS у соматосенсорній корі та гіпокампі на 7-му добу після IP із фазою S клітинного циклу в гіпокампі (відсоткове співвідношення фази синтезу ДНК до всіх клітин клітинного циклу (вміст ДНК  $> 2c$  та  $< 4c$ ) 7-ма доба) ( $r_s = 0,97$ ,  $p < 0,01$ ); між показником активності NOS у соматосенсорній корі та гіпокампі на 14-ту добу після IP із кількістю та тривалістю епізодів амбуляції через центральні квадрати на 14-ту добу спостереження, з тривалістю латентного періоду амбуляції через периферійні квадрати на 14-ту добу після IP, з відсотковим співвідношенням клітин фази G0G1 до всіх клітин клітинного циклу в соматосенсорній корі (вміст ДНК =  $2c$ ) 7-ма доба експерименту ( $r_s =$  від 0,90,  $p < 0,05$  до 0,97,  $p < 0,01$ ), з тривалістю латентного періоду амбуляції через периферійні квадрати на 7-му добу дослідження ( $r_s = -0,84$ ,  $p < 0,05$ ). Це вказує на сильну наявну кореляцію між розвитком в тканинах головного мозку нітрозуючого стресу (на який впливали hADMSCs) та орієнтовно-дослідницькою активністю (функціональне відновлення ЦНС) і морфологічно неушкоджених нейронів у досліджуваних структурах.

При аналізі результатів наших експериментів у групі щурів із оборотною субтотальною церебральною ішемією, яким в/в трансплантували rADMSCs, встановлено сильні прямі ( $r_s =$  від 0,81,  $p < 0,05$  до 0,97,  $p < 0,01$ ) та зворотні ( $r_s =$  від -0,75,  $p < 0,05$  до -0,97,  $p < 0,01$ ) кореляційні зв'язки між функціональними, морфологічними параметрами, неврологічним дефіцитом та біохімічними показниками в соматосенсорній корі й гіпокампі.

Встановлено важливий факт однакової сильної кореляції між вмістом білка (на який впливали rADMSCs) в соматосенсорній корі та гіпокампі в досліджувані періоди експерименту з орієнтовно-дослідною активністю та грумінгом. Відмічено сильний зворотній кореляційний зв'язок між сумарною активністю NOS у досліджуваних структурах головного мозку на 7-му добу після IP з відсотковим співвідношенням фази G2 + M до всіх клітин клітинного циклу в соматосенсорній корі (ДНК =  $4c$ ) на 7-му добу після IP ( $r_s = -0,97$ ,  $p < 0,01$ ), що є, на нашу думку, негативним результатом у постреперфузійному відновленні соматосенсорної кори. Але на 14-ту добу після IP відмічено пряму кореляцію між показником активності NOS у соматосенсорній корі та гіпокампі з відсотковим співвідношенням фази G2 + M до всіх клітин клітинного циклу в гіпокампі (ДНК =  $4c$ ) на 7-му добу після IP і з інтегральною щільністю флуоресценції GFAP+астроцитів на фронтальних зрізах CA1 ділянки гіпокампа на 7-му добу дослідження ( $r_s = 0,90$  в обох випадках,  $p < 0,05$ ), що є показником відновлення нервової тканини в гіпокампі на тлі терапії. Також встановлено однаковий зворотній кореляційний зв'язок між показником активності NOS у соматосенсорній корі та гіпокампі на 14-ту добу після IP із SUB-G0G1

ділянками на ДНК-гістограмах – RN1 перед піком G0G1, яка вказує на ядра клітин з вмістом ДНК  $< 2c$  у соматосенсорній корі ( $r_s = -0,90$ ,  $p < 0,05$ ), що, на наш погляд, є показником переключення з некротичної загибелі нейронів у соматосенсорній корі щурів на апоптотичну. Виявлено також однакові сильні кореляційні зв'язки між показником активності NOS у соматосенсорній корі та гіпокампі на 14-ту добу після ІР з латентним періодом амбуляції через периферійні квадрати на 7-му та 14-ту добу експерименту ( $r_s = 0,83$  в обох випадках,  $p < 0,05$ ). Отримані нами факти вказують на сильну кореляційну залежність між результатом сумарної активності NOS у досліджуваних структурах головного мозку, тобто розвитком в тканинах головного мозку нітрозуючого стресу (на який впливали МСК із жирової тканини щура) та орієнтовно-дослідною активністю (функціональні дані) і морфологічними показниками.

При аналізі результатів наших експериментів у групі щурів із оборотною субтотальною церебральною ішемією, яким в/в вводили лізат МСК Вартонових драглів пуповини людини (l from WJ-MSCs), встановлено сильні прямі ( $r_s =$  від  $0,80$ ,  $p < 0,05$  до  $0,94$ ,  $p < 0,01$ ) та зворотні ( $r_s =$  від  $-0,77$ ,  $p < 0,05$  до  $-0,93$ ,  $p < 0,01$ ) кореляційні зв'язки між функціональними, морфологічними параметрами, неврологічним дефіцитом та біохімічними показниками в соматосенсорній корі й гіпокампі.

Виявлено однакові достовірні сильні прямі кореляційні зв'язки між показниками вмісту білка в соматосенсорній корі та гіпокампі після ІР з тривалістю епізодів і латентного періоду грумінгу на 7-му добу експерименту та з кількістю епізодів амбуляції через центральні квадрати на 14-ту добу спостереження, з інтегральною щільністю флуоресценції NeuN+нейронів на фронтальних зрізах CA1 ділянки гіпокампа на 7-му добу дослідження ( $r_s =$  від  $0,87$ ,  $p < 0,05$  до  $0,93$ ,  $p < 0,01$ ). Виявлено також однакові сильні зворотні кореляційні зв'язки між показниками вмісту білка в соматосенсорній корі та гіпокампі на 7-му та 14-ту добу після ІР з кількістю ушкоджених ядер (каріопікноз, каріорексис) у соматосенсорній корі на 7-му та 14-ту добу експерименту ( $r_s = -0,90$  в обох випадках,  $p < 0,05$ ). Зокрема, встановлено щільні лінійні зв'язки між гіпокампом і корою, які вказують на взаємодію цих відділів мозку. Отже, це свідчить про сильну кореляційну залежність між показниками вмісту білка (на які впливав l from WJ-MSCs) в досліджуваних структурах на 7-му та 14-ту добу після ІР з орієнтовно-дослідною та емоційною активністю, а також нейрозахистом у головному мозку, що, на нашу думку, є досить позитивно. Також виявлено однаковий сильний зворотній кореляційний зв'язок між показниками активності NADFH у соматосенсорній корі та гіпокампі на 7-му добу після ІР з кількістю ядер нейронів в  $1 \text{ мм}^2$  CA1 ділянки гіпокампа на 7-му добу дослідження ( $r_s = -0,81$ ,  $p < 0,05$ ). Аналогічно виявлено однаковий сильний зворотній кореляційний зв'язок між показниками активності NADFH у соматосенсорній корі та гіпокампі на 14-ту добу після ІР з кількістю ядер нейронів в  $1 \text{ мм}^2$  CA1 ділянки гіпокампа на 14-ту добу дослідження ( $r_s = -0,83$ ,  $p < 0,05$ ). Отже, це вказує, що отримані нами факти свідчать про зворотню

кореляційну залежність між показниками активності NADPH (прооксидантна система, на яку впливав 1 from WJ-MSCs) в досліджуваних структурах на 7-му та 14-ту добу після ІР з кількістю ядер нейронів в 1 мм<sup>2</sup> СА1 ділянки гіпокампа у відповідні терміни спостереження, що є позитивним у захисті нейронів гіпокампа, особливо чутливому до церебральної ішемії. Привертає нашу увагу однаковий сильний кореляційний зв'язок між показниками активності NOS у соматосенсорній корі та гіпокампі на 14-ту добу після ІР з інтегральною щільністю флуоресценції GFAP+астроцитів на фронтальних зрізах СА1 ділянки гіпокампа на 14-ту добу дослідження ( $r_s = 0,90$ ,  $p < 0,05$ ). Це вказує на пряму кореляційну залежність між розвитком нітрозуючого стресу в нервовій тканині (на який впливав 1 from WJ-MSCs) та активацією астрогліозу в гіпокампі.

У тварин, яким провели 20-хвилинну субтотальну ішемію головного мозку з наступним відновленням кровопостачання та в/в введенням цитиколіну з метою зменшення ушкодження нейронів в ішемізованій ділянці при аналізі кореляційних зв'язків між функціональними, морфологічними параметрами, неврологічним дефіцитом та біохімічними показниками в соматосенсорній корі й гіпокампі були встановлені сильні прямі ( $r_s =$  від 0,78,  $p < 0,05$  до 0,94,  $p < 0,01$ ) та зворотні ( $r_s =$  від -0,81,  $p < 0,05$  до -0,97,  $p < 0,01$ ) лінійні залежності. Так, відмічено множинні зворотні зв'язки між показниками вмісту білка в соматосенсорній корі та гіпокампі на 7-му добу після ІР і введення цитиколіну та кількістю й тривалістю епізодів грумінгу на 14-ту добу експерименту ( $r_s = -0,88$ ,  $p < 0,05$  для обох показників), а також з кількістю епізодів та тривалістю латентного періоду амбуляції через центральні квадрати на 14-ту добу спостереження ( $r_s =$  від -0,88,  $p < 0,05$  до -0,89,  $p < 0,05$ ); подібні зв'язки мають місце між показниками вмісту білка в соматосенсорній корі на 14-ту добу та тривалістю епізодів кламбінгу ( $r_s = -0,83$ ,  $p < 0,05$ ), тоді як вміст білка в соматосенсорній корі на 14-ту добу прямо корелює з тривалістю епізодів амбуляції через периферійні квадрати на 7-му добу експерименту ( $r_s = 0,87$ ,  $p < 0,05$ ). Водночас (тобто на 14-ту добу після ІР та введення цитиколіну) у гіпокампі щурів простежується зворотній лінійний зв'язок між вмістом білка та кількістю ушкоджених ядер (каріопікноз, каріорексис) ( $r_s = -0,87$ ,  $p < 0,05$ ), а також між вмістом білка та тривалістю епізодів кламбінгу на 7-му добу експерименту ( $r_s = -0,90$ ,  $p < 0,05$ ), тоді як прямий зв'язок має місце між вмістом білка та тривалістю епізодів амбуляції через периферичні квадрати на 7-му добу експерименту ( $r_s = 0,87$ ,  $p < 0,05$ ). Отже, використання цитиколіну одразу після проведення експериментальної ІР не викликає суттєвих змін у кореляційних залежностях між вмістом білка в тканині соматосенсорної ділянки (а також гіпокампа) та функціональними показниками ЦНС, хоча позитивний вплив на морфологічні зміни у тканині мозку в ділянці соматосенсорної кори та гіпокампа був нами виявлений.

Однак нами виявлені зворотня кореляційна залежність між показником активності NOS у соматосенсорній корі та гіпокампі на 7-му добу після ІР та тривалістю епізодів грумінгу на 14-ту добу експерименту, а також між показником активності NOS та інтегральною щільністю флуоресценції

GFAP+астроцитів на фронтальних зрізах CA1 ділянки гіпокампа (7-ма доба дослідження,  $r_s$  = від -0,81,  $p < 0,05$  до -0,97,  $p < 0,01$ ); між показником активності NOS у соматосенсорній корі та гіпокампі на 14-ту добу після ІР і введення цитиколіну та кількістю й тривалістю епізодів кламбінгу на 14-ту добу експерименту ( $r_s$  = від 0,81,  $p < 0,05$  до 0,94,  $p < 0,05$ ), а також кількістю неушкоджених ядер у соматосенсорній корі на 14-ту добу дослідження ( $r_s$  = -0,90,  $p < 0,05$ ). Нами встановлено, що введення цитиколіну після ІР не викликало появи високоспецифічних кореляційних залежностей або зникнення вже наявних, хоча безпосередній вплив на морфологію, функціональний стан тварин був однозначно позитивний.

**Узагальнюючи отримані результати досліджень** та аналізуючи дані літератури, можна сформулювати концепцію щодо церебропротективного впливу стовбурових клітин різного цитологічного походження при ішемічно-реперфузійному ураженні головного мозку в щурів. Отже, під час проведеного комплексного дослідження впливу в/в трансплантації стовбурових клітин різного цитологічного походження та в/в введення 1 from WJ-MSCs на гіпокамп і ділянку соматосенсорної кори в умовах експериментальної ІР головного мозку в щурів було встановлено залежність церебропротекторних ефектів від цитологічного походження стовбурових клітин. За динамікою показника летальності щурів з оборотною ішемією головного мозку кращою виявилась в/в трансплантація hWJ-MSCs за решту МСК, ЕФЦ, 1 from WJ-MSCs та референс-препарат цитиколін.

Інтегральним показником, який дозволяє оцінити величину церебропротекторного впливу стовбурових клітин різного походження та 1 from WJ-MSCs при ІР ушкоджені головного мозку в щурів, поряд зі зменшенням показника летальності, є позитивна динаміка змін у неврологічному статусі тварин. Трансплантація hWJ-MSCs значно зменшувала неврологічний дефіцит у підгострому та відновлювальному періодах ГПМК, перевершуючи при цьому цитиколін.

Також встановлено вплив досліджуваних стовбурових клітин, 1 from WJ-MSCs та референс-препарату цитиколіну на системні поведінкові реакції, локомоторну стереотипію з використанням тесту «відкрите поле». Так, використання цитиколіну та трансплантація hWJ-MSCs збільшували тривалість епізодів горизонтальної рухової активності, а трансплантація rADMSCs та ЕФЦ сприяла підвищенню емоційної активності піддослідних тварин зі змодельованою церебральною ІР.

За результатами морфологічного та морфометричного дослідження, в досліджувані періоди встановлено, що в/в трансплантація hWJ-MSCs виявляла більш виражений нейропротекторний ефект на ділянку соматосенсорної кори та гіпокамп головного мозку в щурів за решту стовбурових клітин, перевершуючи при цьому цитиколін. Також встановлено, що в підгострому періоді церебральної ішемії терапія з в/в трансплантацією стовбурових клітин різного цитологічного походження та 1 from WJ-MSCs сприяла зменшенню інтенсивності фрагментації ДНК в ядрах нейронів досліджуваних структур

головного мозку щурів. Це може відбуватись за рахунок наявності модулюючого впливу стовбурових клітин на процеси некрозу та нейроапоптозу в ділянці ішемічної напівтіні.

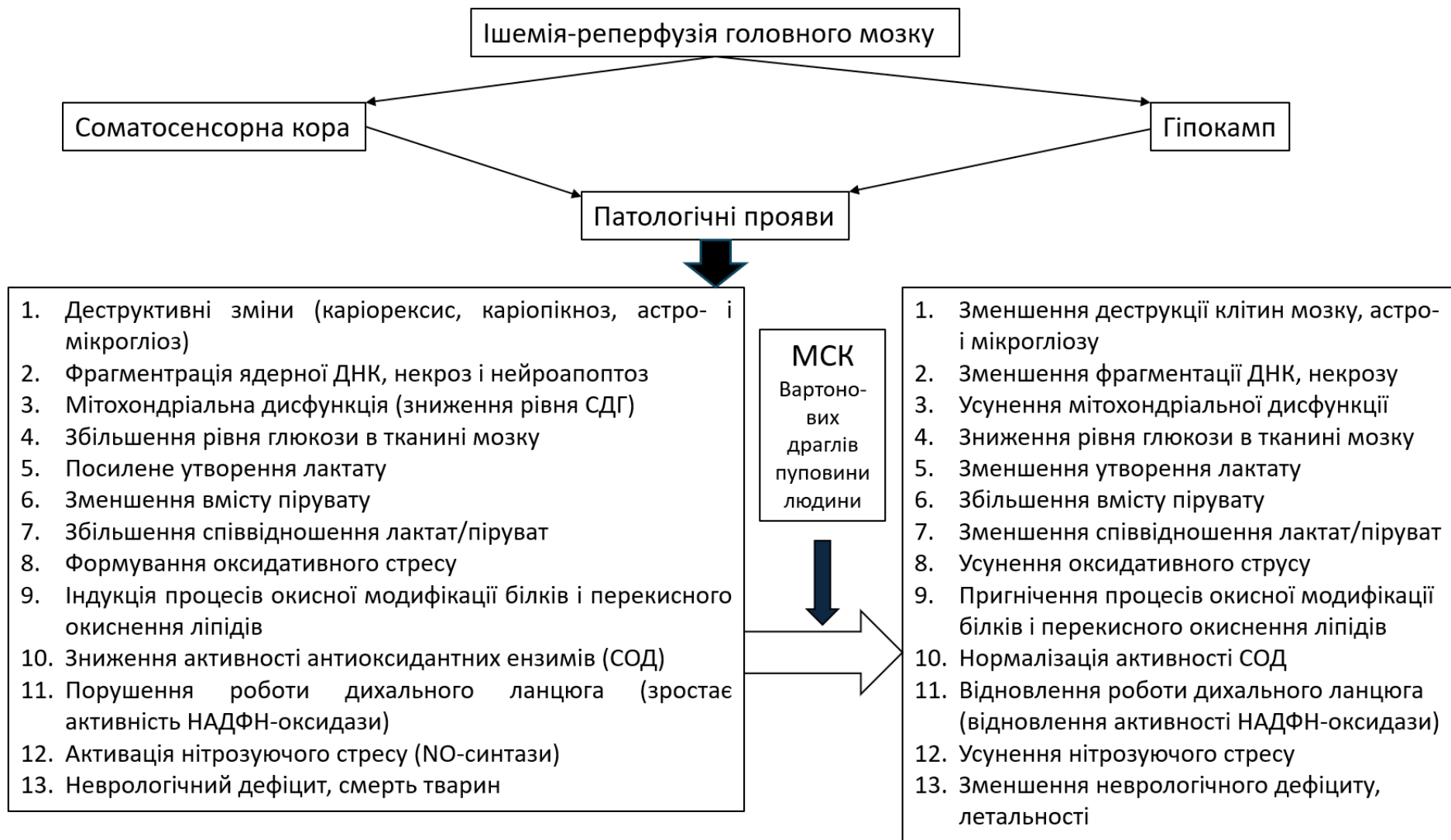
Встановлено, що hWJ-MSCs перевершували решту МСК різного цитологічного походження, ЕФЩ та 1 from WJ-MSCs й не поступалися референс-препарату цитиколіну в коригувальній дії на внутрішньоклітинний нейрональний метаболізм, а саме в зменшенні енергодефіциту, зниження вмісту лактату та усунення метаболічного ацидозу, а також коригувальним впливом на активність НАДФН-оксидази та NOS, зниженням інтенсивності перекисного окислення ліпідів й окисної модифікації білків, активацією ферментативної ланки антиоксидантного захисту мозку.

Встановлено, що в/в трансплантація МСК різного походження, ЕФЩ та введення 1 from WJ-MSCs і референс-препарату цитиколіну при змодельованій оборотній гострій церебральній ішемії в щурів мала виражений нейропротекторний ефект і зменшувала реактивний астро- та мікрогліози. Серед досліджуваних стовбурових клітин в/в трансплантація hWJ-MSCs мала кращий терапевтичний ефект на ішемічно-реперфузійне пошкодження головного мозку, який перевершував референс-препарат цитиколін.

Також нами встановлено, що за церебропротективним ефектом ЕФЩ дещо поступалися hWJ-MSCs, що свідчить про більш високу церебропротекторну активність ксенотрансплантації.

Уперше доведено, що за величиною церебропротекторної дії hWJ-MSCs в умовах гострої церебральної ішемії зіставляються, а за низкою показників переважають референс-препарат цитиколін.

Продемонстровані церебропротекторні властивості трансплантації hWJ-MSCs можуть свідчити про перспективу їх використання в клітинній терапії гострої ішемії головного мозку. Отримані дані будуть використані для пошуку нових шляхів лікування ішемічно-реперфузійного ураження головного мозку. Отримані результати експериментально обґрунтовують доцільність клінічних випробувань ін'єкційного препарату на основі hWJ-MSCs за новим призначенням, а саме в якості цитопротектора у хворих на ішемічний інсульт.



**Рис. 15.** Інтегративна схема патологічних проявів при ішемії-реперфузії головного мозку у щурів та їх змін внаслідок церебропротекторного впливу трансплантованих МСК Вартонових драглів пуповини людини.

## ВИСНОВКИ

Сукупність отриманих результатів дала змогу вирішити важливу наукову проблему, що полягає у встановленні нових закономірностей та механізмів реалізації церебропротекторного потенціалу мезенхімальних стромальних клітин різного походження в умовах ішемічно-реперфузійного ушкодження головного мозку. Позитивний вплив стовбурових клітин на перебіг патологічних процесів у головному мозку при неповній глобальній ішемії пов'язаний не лише з їхньою здатністю до заміщення ушкоджених клітинних елементів, а й з активною регуляцією мікрооточення в осередку ураження. Зокрема, стовбурові клітини сприяють підтриманню тканинного гомеостазу, послабленню запальної відповіді, активації репаративних процесів, відновленню мікроциркуляції та підвищенню виживаності нервових клітин. З огляду на це було запропоновано комплексний підхід до вивчення церебропротекторних властивостей клітинних препаратів у моделі ішемічно-реперфузійного ушкодження головного мозку. Використання широкого спектра функціональних, морфологічних та біохімічних показників дало можливість встановити відмінності в ефективності досліджуваних клітин залежно від їхнього джерела походження, а також визначити особливості їх впливу на структурно-функціональний стан окремих церебральних утворень. Результати дослідження обґрунтовують доцільність створення нового лікарського засобу на основі найбільш активної культури стовбурових клітин.

1. Досліджені стовбурові клітини різного походження та лізат мезенхімальних стромальних клітин Вартонових драглів проявляють церебропротекторні властивості та підвищують виживаність щурів у моделі оборотної 20 хвилинної ішемії головного мозку шляхом білатеральної оклюзії внутрішніх сонних артерій. У критичний період після ішемії-реперфузії ефективність мезенхімальних стромальних клітин, отриманих із Вартонових драглів пуповини людини, вища, ніж ефективність інших досліджуваних стовбурових клітин, лізату мезенхімальних стромальних клітин Вартонових драглів людини (0,2 мл/тварину, внутрішньовенно) та референсного препарату цитиколіну (250 мг/кг, внутрішньовенно) за здатністю знижувати показник летальності щурів.
2. Лікувальна внутрішньовенна трансплантація стовбурових клітин різного цитологічного походження, лізату мезенхімальних стромальних клітин Вартонових драглів людини, як і цитиколіну, достовірно зменшує прогресування неврологічного дефіциту в досліджувані періоди експерименту. Найкращий моделювальний вплив на неврологічний дефіцит, порівняно з рештою досліджуваних стовбурових клітин та цитиколіном, чинили мезенхімальні стромальні клітини, отримані з Вартонових драглів пуповини людини.
3. Дослідження впливу експериментальної 20-хвилинної ішемії з подальшою реперфузією головного мозку на поведінку щурів у тесті «відкрите поле» виявило достовірне зменшення тривалості епізодів амбуляції периферичних (на 35,8 %, ( $p < 0,05$ )) і центральних (на 56,3 %, ( $p < 0,05$ )) квадратів на 7-му добу експерименту, що супроводжується зменшенням проявів тривожності й

страху порівняно з групою псевдооперованих щурів. Найефективнішими методами лікування виявилися застосування цитиколіну та трансплантація мезенхімальних стромальних клітин, отриманих із Вартонових драглів пуповини людини, про що свідчить збільшення тривалості епізодів горизонтальної рухової активності в середньому відповідно на 70,0 % та 54,1 % ( $p < 0,05$ ) відносно групи тварин із контрольною патологією. Застосування ембріональних фібробластів щура, як терапевтичної корекції, сприяло підвищенню емоційної активності піддослідних тварин із церебральним ішемічно-реперфузійним ураженням зі збільшенням кількості епізодів грумінгу у 2,5 раза; при введенні мезенхімальних стромальних клітин, отриманих із жирової тканини щура, – у 2,6 раза відносно показника групи контрольної патології ( $p < 0,05$ ).

4. Гостре ішемічно-реперфузійне ушкодження головного мозку в щурів призводить до суттєвої дегенерації соматосенсорної кори та пірамідного шару СА1 гіпокампа. У соматосенсорній корі найчутливішими до ішемічно-реперфузійного впливу є пірамідні нейрони, тоді як зірчасті нейрони майже не зазнають структурних змін. Статистично достовірно зменшується кількість нейрональних ядер у соматосенсорній корі та в СА1 гіпокампа, більшість яких демонструють ознаки патології. Застосування стовбурових клітин різного походження, лізату мезенхімальних стромальних клітин, отриманих із Вартонових драглів пуповини людини, або цитиколіну як терапевтичних засобів, призводить до суттєвого збільшення кількості нейронів із незмінними ядрами в досліджуваних структурах головного мозку щурів.
5. У реперфузійному періоді гострого порушення церебрального кровотоку внутрішньовенна терапія із застосуванням стовбурових клітин різного походження та лізату мезенхімальних стромальних клітин, отриманих із Вартонових драглів пуповини людини, достовірно зменшує інтенсивність фрагментації ДНК (маркер нейроапоптозу) в ядрах нейронів соматосенсорної кори щурів порівняно з ішемією-реперфузією головного мозку без лікування у 1,8 - 2,6 раза ( $p < 0,05$ ). У ядрах нейронів гіпокампа зниження фрагментації ДНК було особливо суттєвим при використанні ембріональних фібробластів щура (у 4,8 раза), мезенхімальних стромальних клітин жирової тканини людини (у 2,5 раза) та лізату з мезенхімальних стромальних клітин, отриманих із Вартонових драглів пуповини людини (у 2 раза) ( $p < 0,05$ ), що підтверджує антиапоптотичні властивості досліджуваних препаратів.
6. Біохімічні механізми церебропротекторної дії стовбурових клітин різного цитологічного походження при гострій церебральній ішемії-реперфузії в соматосенсорній корі та гіпокампі характеризуються зменшенням енергодефіциту (підвищенням рівня глюкози та пірувату), зниженням концентрації лактату та усуненням метаболічного ацидозу, а також коригувальним впливом на активність НАДФН-оксидази та NO-синтази, зменшенням інтенсивності перекисного окислення ліпідів і окисної модифікації білків та активацією ферментативної ланки антиоксидантного захисту. Внутрішньовенна трансплантація мезенхімальних стромальних

клітин, отриманих із Вартонових драглів пуповини людини, у щурів із ішемією-реперфузією головного мозку сприяла більш ефективному відновленню порушених енергетичних процесів у соматосенсорній корі, що є однією із головних ланок механізму їх церебропротекторної дії. За здатністю нормалізувати біохімічні показники в соматосенсорній корі та гіпокампі мезенхімальні стромальні клітини Вартонових драглів пуповини людини перевершували інші стовбурові клітини різного походження та лізат мезенхімальних стромальних клітин Вартонових драглів пуповини людини, і не поступалися ефективністю референтному препарату цитиколіну. Ембріональні фібробласти щура мали дещо нижчу ефективність порівняно з цитиколіном і мезенхімальними стромальними клітинами Вартонових драглів пуповини людини, що свідчить про більш високу церебропротекторну активність ксенотрансплантації.

7. Трансплантація стовбурових клітин різного походження, лізату мезенхімальних стромальних клітин Вартонових драглів людини та референсного препарату цитиколіну в щурів із моделлю ішемії-реперфузії головного мозку виявила суттєвий нейропротекторний ефект, зменшуючи реактивний астро- та мікрогліоз. Серед досліджуваних стовбурових клітин внутрішньовенна трансплантація мезенхімальних стромальних клітин, отриманих із Вартонових драглів пуповини людини, демонструє кращу ефективність при ішемії-реперфузії головного мозку, яка достовірно перевершує результативність референсного препарату цитиколіну.
8. Виявлено численні достовірні кореляційні зв'язки між біохімічними показниками (зокрема рівнями лактату та глюкози, активністю малонового альдегіду, сукцинатдегідрогенази, супероксиддисмутази і NO-синтази) у тканині гіпокампа, соматосенсорної кори та функціональними показниками ЦНС (за результатами тесту «відкрите поле» й оцінкою неврологічного дефіциту за шкалою Stroke-index McGraw), а також морфологічними (мікроморфометрія, проточна цитометрія) і імуногістохімічними показниками в щурів з ішемією мозку та без неї. Множинні кореляції між біохімічними та морфологічними параметрами соматосенсорної кори і гіпокампа свідчать про тісну функціональну взаємодію цих структур, що спостерігається у всіх групах щурів. На 7-му добу після гострої ішемії мозку (підгострий період) формуються специфічні прямі кореляції між вмістом білка у тканинах мозку та морфологічними показниками, а також між рівнем білка, неврологічним дефіцитом у соматосенсорній корі та гіпокампі. На 14-ту добу (період відновлення) після ішемії з'являється високоспецифічний зворотний кореляційний зв'язок між активністю малонового альдегіду в соматосенсорній корі та морфологічними показниками гіпокампа. Внутрішньовенна трансплантація мезенхімальних стромальних клітин Вартонових драглів пуповини людини одразу після початку реперфузії призводила до зникнення частини кореляційних залежностей, зокрема між активністю NO-синтази у мозковій тканині та показниками проточної цитометрії.

9. Комплексний механізм церебропротекторної дії мезенхімальних стромальних клітин Вартонових драглів пуповини людини при ішемії-реперфузії, зумовлений гострим порушенням мозкового кровообігу, пов'язаний з усуненням енергодефіциту та метаболічного ацидозу, зменшенням оксидантного ушкодження нейронів, регуляцією обміну монооксиду азоту, модулюванням активності астро- і мікроглії, а також збереженням цитоархітекτονіки соматосенсорної кори та гіпокампа, зокрема через зниження апоптозу. За рівнем церебропротекторного ефекту мезенхімальні стромальні клітини Вартонових драглів пуповини людини в умовах гострої церебральної ішемії зіставляються, а за низкою показників перевершують референс-препарат цитиколін. Ембріональні фібробласти щура мали дещо нижчу ефективність порівняно з мезенхімальними стромальними клітинами Вартонових драглів пуповини людини, що свідчить про вищу церебропротекторну активність ксенотрансплантації. Отримані результати експериментально обґрунтовують доцільність розробки ін'єкційної лікарської форми на основі мезенхімальних стромальних клітин Вартонових драглів пуповини людини для терапії гострої церебральної ішемії з перспективою проведення клінічних випробувань.

### Список публікацій за темою дисертації

#### I. *Наукові праці в яких опубліковані основні наукові результати дисертації*

1. Konovalov S, Moroz V, Konovalova N, Deryabina O, Shuvalova N, Toporova O, Tochylovsky A, Kordium V. The effect of mesenchymal stromal cells of various origins on mortality and neurologic deficit in acute ischemia-reperfusion in rats. *Cell and Organ Transplantation*. 2021;9(2), 104–108. Available from: <https://doi.org/10.22494/cot.v9i2.132> (**Фахове видання, кат. А, індексація в Scopus, кuartиль Q4.**) ((Здобувачем створено концепцію та дизайн дослідження; аналіз результатів; участь у написанні; фінальне схвалення версії статті, що подається до публікації; готовність нести відповідальність за роботу та її доброчесність)).
2. Konovalov S, Moroz V, Deryabina O, Klymenko P, Tochylovsky A, Kordium V. The effect of mesenchymal stromal cells of various origins on morphology of hippocampal CA1 area of rats with acute cerebral ischemia. *Cell and Organ Transplantation*. 2022;10(2), 98–106. Available from: <https://doi.org/10.22494/cot.v10i2.144> (**Фахове видання, кат. А, індексація в Scopus, кuartиль Q4.**) (Здобувачем здійснено планування та проведення дослідження; аналіз результатів та написання статті; готовність нести відповідальність за роботу та її доброчесність).
3. Konovalov S, Moroz V, Deryabina O, Shuvalova N, Tochylovsky A, Klymenko P, Kordium V. 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*. 2023;11(1), 46–52. Available from: <https://doi.org/10.22494/cot.v11i1.149> (**Фахове видання, кат. А, індексація в**

- Scopus, кuartиль Q4.)** (Здобувачем створено концепцію та дизайн дослідження; виконано експериментальну частину роботи; участь у написанні; фінальне схвалення версії статті; готовність нести відповідальність за роботу та її доброчесність).
4. Konovalov S, Moroz V, Husakova I, Deryabina O, Tochilovskyi A. Comparative influence of mesenchymal stromal cells of different origin on DNA fragmentation of neuronal nuclei during ischemia-reperfusion of the somatosensory cortex of the rat brain. *Advances in Tissue Engineering & Regenerative Medicine: Open Access*. 2023;9(1), 29–33. Available from: <https://doi.org/10.15406/atroa.2023.09.00138> (Здобувачем проведено планування та проведення дослідження; аналіз результатів та написання статті; готовність нести відповідальність за роботу та її доброчесність)
  5. Konovalov S, Konovalova N, Moroz V, Deryabina O, Toporova O, Tochylovsky A, Kordium V. Multipotent mesenchymal stromal cells of various origins reduce reactive gliosis in the hippocampal CA1 area during acute ischemia-reperfusion of the rat brain. *Cell and Organ Transplantology*. 2023;11(2), 122–129. Available from: <https://doi.org/10.22494/cot.v11i2.159> (**Фахове видання, кат. А, індексація в Scopus, кuartиль Q4.)** (Здобувачем створено концепцію та дизайн дослідження; виконано експериментальну частину роботи; участь у написанні; фінальне схвалення версії статті; готовність нести відповідальність за роботу та її доброчесність).
  6. Konovalov S, Moroz V, Yoltukhivskyi M, Gadzhula N, Stelmashchuk A. The influence of mesenchymal stromal cells of different genesis on energy metabolism in the rat somatosensory cortex during ischemia-reperfusion. *Eastern Ukrainian Medical Journal*. 2024;12(3), 642–650. Available from: [https://doi.org/10.21272/eumj.2024;12\(3\):642-650](https://doi.org/10.21272/eumj.2024;12(3):642-650) (**Фахове видання, кат. А, індексація в Scopus, кuartиль Q4.)** (Здобувачем створено концепцію та дизайн дослідження; виконано експериментальну частину роботи; участь у написанні; фінальне схвалення версії статті; готовність нести відповідальність за роботу та її доброчесність).
  7. Konovalov S, Moroz V, Yoltukhivskyu M, Gadzhula N. Influence of mesenchymal stromal cells of different origins on behavioural reactions of rats with cerebral ischemia-reperfusion. *Bulletin of Medical and Biological Research*. 2024;6(2), 16–24. Available from: <https://doi.org/10.61751/bmbr/2.2024.16> (**Фахове видання, кат. Б.)** (Здобувачем створено концепцію та дизайн дослідження; виконано експериментальну частину роботи; участь у написанні; фінальне схвалення версії статті; готовність нести відповідальність за роботу та її доброчесність)
  8. Konovalov SV, Moroz VM, Yoltukhivskyu MV, Gadzhula NG, Gusakova IV, Deryabina OG, Kordium VA. Therapeutic potential of mesenchymal stromal cells on morphological parameters in the hippocampus of rats with brain ischemia-reperfusion modeling. *Reports of Morphology*. 2024;30(3), 52–62. Available from: [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30\(3\)-06](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30(3)-06) (**Фахове видання, кат. А, індексація в Scopus, кuartиль Q4.)** (Здобувачем проведено

- дослідження; написання оригінального тексту; візуалізація даних; пошук літературних джерел; готовність нести відповідальність за роботу та її доброчесність)
9. Konovalov SV, Moroz VM, Yoltukhivskyi MV, Gadzhula NG. 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. *Reports of Vinnytsia National Medical University*. 2024;28(3), 389–394. Available from: [https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2024-28\(3\)-04](https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2024-28(3)-04) (**Фахове видання, кат. Б**) (Здобувачем створено концепцію та дизайн дослідження; виконано експериментальну частину роботи; участь у написанні; фінальне схвалення версії статті; готовність нести відповідальність за роботу та її доброчесність).
  10. Konovalov S. Correlation peculiarities between morphometric and flow cytometric indexes in the rat hippocampus and somatosensory cortex afterward cerebral ischemia-reperfusion and its correction. *Bull Med Biol Res* 2024;8–15. Available from: <https://doi.org/10.63341/bmbr/4.2024.08> (**Фахове видання, кат. Б**).
  11. Konovalov S, Moroz V, Yoltukhivskyi M, Gadzhula N, Deryabina O, Kordium V. Comparative effects of mesenchymal stromal cells of various origins and sources on biochemical parameters in the hippocampus of rats during cerebral ischemia-reperfusion. *Cell and Organ Transplantology*. 2024;12(2), 118–125 (e2024122169). Available from: <https://doi.org/10.22494/cot.v12i2.169> (**Фахове видання, кат. А, індексація в Scopus, квартиль Q4.**) (Здобувачем створено концепцію та дизайн дослідження; виконано експериментальну частину роботи; участь у написанні; фінальне схвалення версії статті; готовність нести відповідальність за роботу та її доброчесність).
  12. Konovalov SV, Moroz VM, Yoltukhivskyi MV, Gusakova IV. Correlations between biochemical indicators determined in the somatosensory cortex and hippocampus and morphological indicators, functional state of the central nervous system and neurological deficit in rats. *Reports of Vinnytsia National Medical University*. 2024;28(4), 590–604. Available from: [https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2024-28\(4\)-04](https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2024-28(4)-04) (**Фахове видання, кат. Б**) (Здобувачем створено концепцію та дизайн дослідження; виконано експериментальну частину роботи; участь у написанні; фінальне схвалення версії статті; готовність нести відповідальність за роботу та її доброчесність).
  13. Konovalov S, Moroz V, Yoltukhivskyi M, Gusakova I, Tochilovskyi A, Deryabina O. Correlation between morphological, biochemical and functional indicators in acute ischemia reperfusion rat brain. *Journal of Stem Cell Research & Therapeutics*. 2025;10(1), 53–60. Available from: <https://doi.org/10.15406/jsrt.2025.10.00183> (Здобувачем створено концепцію та дизайн дослідження; виконано експериментальну частину роботи; участь у написанні; фінальне схвалення версії статті; готовність нести відповідальність за роботу та її доброчесність)

14. Konovalov S, Yoltukhivsky M, Gadzhula N. Effect of mesenchymal stromal cell transplantation on nitric oxide metabolism in rat cortex during ischemia-reperfusion. *International Journal of Medicine and Medical Research*. 2025;78–84. Available from: <https://doi.org/10.63341/ijmmr/1.2025.78> (**Фахове видання, кат. Б**) (Здобувачем створено концепцію та дизайн дослідження; виконано експериментальну частину роботи; участь у написанні; фінальне схвалення версії статті; готовність нести відповідальність за роботу та її доброчесність).
15. Konovalov S, Moroz V, Yoltukhivsky M, Husakova I, Deryabina O, Tochilovskyi A, Kordium V. Effect of mesenchymal stromal cells of different origin on DNA fragmentation in rat hippocampal neuronal nuclei after ischemia-reperfusion. *Innovative Biosystems and Bioengineering*. 2025;9(1), 54–64. Available from: <https://doi.org/10.20535/ibb.2025.9.1.315490> (**Фахове видання, кат. А, індексація в Scopus, квартиль Q3.**) (Здобувачем створено концепцію та дизайн дослідження; виконано експериментальну частину роботи; участь у написанні; фінальне схвалення версії статті; готовність нести відповідальність за роботу та її доброчесність).
16. Konovalov SV, Konovalova NV, Gusakova IV. Protective effect of citicoline in acute reversible cerebral ischemia in rats. *Bukovinian Medical Herald*. 2025;29(2 (114)), 16–21. Available from: <https://doi.org/10.24061/2413-0737.29.2.114.2025.3> (**Фахове видання, кат. Б**) (Здобувачем створено концепцію та дизайн дослідження; виконано експериментальну частину роботи; участь у написанні; фінальне схвалення версії статті; готовність нести відповідальність за роботу та її доброчесність).
17. Konovalov SV, Moroz VM, Yoltukhivskyi MV, Stelmashchuk AO, Deryabina OG, Kordium VA. Mesenchymal stromal cells from umbilical Wharton's jelly provide cerebroprotection in acute ischemic stroke: Evidence from a rat study. *Neurophysiology*. 2025 Available from: <https://doi.org/10.1007/s11062-025-09952-2> (**Фахове видання, кат. А, індексація в Scopus, квартиль Q4.**) (Здобувачем створено концепцію та дизайн дослідження; виконано експериментальну частину роботи; участь у написанні; фінальне схвалення версії статті; готовність нести відповідальність за роботу та її доброчесність).
18. Konovalov SV, Moroz VM, Yoltukhivskyi MV, Husakova IV, Deryabina OG, Tochilovskyi AA, Kordium VA. Morphological changes in the somatosensory cortex of a rat brain after acute ischemia-reperfusion modelling followed by administration of mesenchymal stem cells of various origins, rat embryonic fibroblasts and Wharton's jelly MSCs lysate. *Biopolymers and Cell*. 2025;41(2), 110. Available from: <https://doi.org/10.7124/bc.000b17> (**Фахове видання, кат. А, індексація в Scopus, квартиль Q4.**) (Здобувачем створено концепцію та дизайн дослідження; виконано експериментальну частину роботи; участь у написанні; фінальне схвалення версії статті; готовність нести відповідальність за роботу та її доброчесність).

19. Konovalov SV, Moroz VM, Yoltukhivskiy MV, Gusakova IV, Stelmashchuk AO, Deryabina OG, Kordium VA. Transplantation of mesenchymal stromal cells in experimental acute reversible cerebral ischemia (comparative analysis). *Biotechnologia Acta*. 2025;18(4), 36–45. Available from: <https://doi.org/10.15407/biotech18.04.036> **(Фахове видання, кат. Б)** (Здобувачем створено концепцію та дизайн дослідження; виконано експериментальну частину роботи; участь у написанні; фінальне схвалення версії статті; готовність нести відповідальність за роботу та її доброчесність).
20. Konovalov SV, Moroz VM, Yoltukhivskyy MV, Gusakova IV. Study and treatment of brain ischemic-reperfusion injury. *Fiziologichnyi Zhurnal*. 2025; 71(4), 104-116. Available from: <https://doi.org/10.15407/fz71.04.104> **(Фахове видання, кат. А, індексація в Scopus, кuartиль Q4.)** (Здобувачем створено концепцію та дизайн дослідження; виконано експериментальну частину роботи; участь у написанні; фінальне схвалення версії статті; готовність нести відповідальність за роботу та її доброчесність).
21. Konovalov S, Moroz V, Yoltukhivskiy M, Gadzhula N, Cherepakha O. Cerebroprotective potential of transplantation of rat embryonic fibroblasts in the treatment of experimental acute ischemic stroke. *Eastern Ukrainian Medical Journal*. 2026; 14(1), 79-88. Available from: <https://eumj.med.sumdu.edu.ua/index.php/journal/article/view/1035> **(Фахове видання, кат. А, індексація в Scopus, кuartиль Q4.)** (Здобувачем створено концепцію та дизайн дослідження; виконано експериментальну частину роботи; участь у написанні; фінальне схвалення версії статті; готовність нести відповідальність за роботу та її доброчесність).

## II. *Наукові праці, які засвідчують апробацію результатів дисертації*

22. Мороз ВМ, Коновалов СВ, Ходаківський ОА, Черешнюк ІЛ, Коновалова НВ. Патогенетична доцільність використання трансплантації мезенхімальних стовбурових клітин при лікуванні ішемічного інсульту. Сучасна клінічна фармакологія в фармакотерапії та профілактиці захворювань з позицій доказової медицини / *Матеріали X Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, 7-8 листопада 2019 року.* – Вінниця, Нілан- ЛТД, 2019 – С. 148-150. ISBN 978-966-949-188-6 Усна доповідь та публікація тез (Здобувачем проведено планування та проведення дослідження, аналіз результатів та написання тез)
23. Deryabina O, Moroz V, Konovalov S, Toporova O, Shuvalova N, Tochylovski A, Kordium V. Therapeutic efficacy of human umbilical cord mesenchymal stem cells in the treatment of experimental ischemic stroke in rats. 15 - 19 November 2021 in the MECC in Maastricht, The Netherlands. №1814. *Tissue Engineering Part A: Research Advances*. 2022;28(1\_suppl):P. 510. <https://dspace.vnmu.edu.ua/123456789/11676> Індексація в WoS. Усна доповідь

- та публікація тез. *(Здобувачем проведено планування та проведення дослідження, аналіз результатів та написання тез)*
24. Konovalov S, Moroz V, Deryabina O, Tochilovski A, Kordium V. Comparison of cerebroprotective action of mesenchymal stromal cells of different origin and lysate from human Wharton jelly MSC in post-perfusion lesion of the sensorimotor cortex of rats. Program and Abstracts. 28.June - 01. July 2022 *Tissue Engineering Part A*, 29(11-12), 1347-1348. <https://dspace.vnmu.edu.ua/123456789/11677> Індексція в WoS. Стендова доповідь та публікація тез. *(Здобувачем проведено планування та проведення дослідження, аналіз результатів та написання тез)*
  25. Коновалов СВ, Мороз ВМ, Дерябіна ОГ, Шувалова НС. Вплив МСК різного походження на летальність та неврологічні показники у щурів при гострій ішемії – реперфузії /*Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції «Біотехнологія та її роль в забезпеченні здоров'я людей та тварин» 20 грудня 2023 р : Зб. наук. пр. /Редкол.: Головка А.М. (голова) та ін. – Ніжин : ПП Лисенко М.М., 2023. – С. 128-129. ISBN 978-617-640-599-3 доповідь та публікація тез. (Здобувачем проведено планування та проведення дослідження, аналіз результатів та написання тез)*
  26. Deryabina O, Toporova O, Konovalov S, Moroz V, Tochilovski A, Krokhina T, Kordium V. Restoration of the nervous system in acute ischemia-reperfusion of rat brain by transplantation of mesenchymal stromal/stem cells of different origin // *Матеріали XXV Національного конгресу кардіологів України «Український кардіологічний журнал» 24-27 вересня 2024 /Редкол.: О.М. Пархоменко(голова) та ін. – Київ. 2024. 31(1) - С.24-25. ISSN 2664-4479 доповідь та публікація тез. (Здобувачем проведено планування та проведення дослідження, аналіз результатів та написання тез)*
  27. Стельмахук АО, Коновалов СВ. Вплив трансплантації мезенхімальних стромальних клітин різного походження на показники летальності та динаміку неврологічного дефіциту при експериментальній ішемії-реперфузії головного мозку в щурів // *Матеріали IX Національного Конгресу патофізіологів України з міжнародною участю «Патологічна фізіологія-охороні здоров'я України» 19-21 вересня 2024 р. - Івано-Франківськ. 2024 С.191-193 DOI:10.21802/ifnmu.2024.3704352 Публікація тез. (Здобувачем проведено планування та проведення дослідження, аналіз результатів та написання тез)*
  28. Коновалов СВ, Мороз ВМ, Йолтухівський МВ, Стельмахук АО, Кордюм ВА, Дерябіна ОГ. Обґрунтування використання трансплантації мезенхімальних стромальних клітин Вартонових драглів людини в терапії експериментального гострого ішемічного інсульту // *Тези доповідей Міжнародної конференції з нейронауки та наукових читань, присвячених вісцеральній фізіології та патофізіології, 19-21 листопада 2024 р. – Київ– С. 49-50 DOI: <https://doi.org/10.15407/fz70.05S.001> Усна доповідь та публікація тез. (Здобувачем проведено планування та проведення дослідження, аналіз результатів та написання тез)*

29. Коновалов СВ, Дерябіна ОГ, Йолтухівський МВ, Стельмахук АО, Гусакова ІВ, Шувалова НС, Топорова ОК, Кордюм ВА. Порівняння ефектів трансплантації мезенхімальних стромальних клітин різного походження в терапії експериментального гострого ішемічного інсульту // *Abstract Book of the Congress on Advanced Regenerative Technologies, Kyiv, November 27-28, 2025. Cell Organ Transpl.* 2025; 13(2 Suppl.):e2025132-A#### Р. 51-52. <https://doi.org/10.22494/cot.v13-2.suppl> Індексція в Scopus. Усна доповідь та публікація тез. (Здобувачем проведено планування та проведення дослідження, аналіз результатів та написання тез)

### III. Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації

30. Konovalov S, Moroz V, Deryabina O, Konovalova N, Toporova O, Tochilovskyi A, Kordium V. Restoration of the nervous system in acute ischemia-reperfusion of the rat brain by intravenous administration of mesenchymal stromal cells of different origin. *Advances in Tissue Engineering & Regenerative Medicine: Open Access.* 2023;9(1), 60–65. Available from: <https://doi.org/10.15406/atroa.2023.09.00142> (Здобувачем проведено опрацювання літературних джерел, порівняльний аналіз та узагальнення матеріалів, написання статті).
31. Мороз, В. М., Коновалов, С. В., Ходаківський, О. А., Черешнюк, І. Л., Дерябіна, О. Г., Шувалова, Н. С., Кордюм, В. А., Точилівський, А. А. (2021). Патент України на винахід №123557, МПК:А61К 35/28, А61К 35/48, С12N 5/077, А61Р 25/00, . Спосіб лікування гострої ішемії головного мозку із використанням парентеральної трансплантації стовбурових клітин різного походження. Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова (UA); Товариство з обмеженою відповідальністю «BIOTEXCOM» (UA). а201903602; 21.04.2021, бюл. № 16. <https://sis.nipo.gov.ua/uk/search/detail/1589378/>
32. Мороз В. М.; Коновалов С. В.; Йолтухівський М. В.; Черешнюк І. Л., Дерябіна О. Г.; Шувалова Н. С.; Кордюм В. А.; Точилівський А. А. Спосіб лікування гострої оборотної ішемії головного мозку в щурів із використанням внутрішньовенної трансплантації стовбурових клітин різного походження. Перелік наукової (науково-технічної) продукції, призначеної для впровадження досягнень медичної науки у сферу охорони здоров'я (Випуск 11) Київ, 2025 Реєстр № 68/11/25 [https://www.testcentr.org.ua/docs/NMF/%D0%9F%D0%B5%D1%80%D0%B5%D0%BB%D1%96%D0%BA\\_11\\_2025.pdf](https://www.testcentr.org.ua/docs/NMF/%D0%9F%D0%B5%D1%80%D0%B5%D0%BB%D1%96%D0%BA_11_2025.pdf)

## АНОТАЦІЯ

**Коновалов С. В. Патогенетичне обґрунтування доцільності використання стовбурових клітин різного походження при терапії гострої ішемії головного мозку (експериментальне дослідження) – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.04 “патологічна фізіологія” – Буковинський державний медичний університет МОЗ України, Чернівці, 2026.

У дисертаційному експериментальному дослідженні на лабораторних щурах встановлено патогенетичні механізми реалізації церебропротекторного потенціалу мезенхімальних стромальних клітин, отриманих із Вартонових драглів пуповини людини та їх лізату, жирової тканини й ембріональних фібробластів щура на моделі ішемічно-реперфузійного ураження соматосенсорної кори та гіпокампа головного мозку. Встановлено переваги внутрішньовенної трансплантації мезенхімальних стромальних клітин Вартонових драглів пуповини людини над такими із жирової тканини та лізатом із Вартонових драглів пуповини людини, що мали кращий результат впливу на різні відділи ішемізованого головного мозку в щурів і не поступалися, а в деяких випадках перевершували референс-препарат цитиколін. Встановлено, що за церебропротекторним ефектом ембріональні фібробласти щура дещо поступалися мезенхімальним стромальним клітинам Вартонових драглів пуповини людини, що свідчить про більш високу церебропротекторну активність ксенотрансплантації.

Практична цінність отриманих результатів полягає в експериментальному обґрунтуванні доцільності клінічних випробувань ін'єкційного препарату на основі мезенхімальних стромальних клітин Вартонових драглів пуповини людини за новим призначенням, а саме в якості цитопротектора у хворих на ішемічний інсульт. Впровадження результатів дослідження в практику може забезпечити соціальний (зменшення смертності населення від гострої ішемії головного мозку, покращення якості життя неврологічних хворих, зниження показників первинної інвалідності), медичний (експериментальне вивчення змін, які відбуваються у вогнищі ішемічної напівтіні та вплив на неї внутрішньовенно трансплантованих мезенхімальних стромальних клітин різного походження, що стане основою при розробці методів клітинної терапії) та економічний (у перспективі пов'язаний зі скороченням часу та підвищенням ефективності лікування неврологічних хворих) ефекти.

**Ключові слова:** мезенхімальні стромальні клітини, цитиколін, церебропротекція, ішемія-реперфузія головного мозку, соматосенсорна кора, гіпокамп, щури.

## ABSTRACT

**Konovalov S. V. Pathogenetic justification of the feasibility for using stem cells with various origins in acute cerebral ischemia therapy (experimental study) –**  
*Qualification scientific work in the form of a manuscript.*

Dissertation for the degree of Doctor of Medical Sciences in the specialty 14.03.04 “Pathological Physiology” – Bukovinian State Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Chernivtsi, 2026.

The dissertation presents the results of an experimental study in laboratory rats that elucidated the pathogenetic mechanisms mediating the cerebroprotective effects of mesenchymal stromal cells derived from human umbilical cord Wharton’s jelly, their lysate, adipose tissue-derived mesenchymal stromal cells, and embryonic rat fibroblasts in ischemia–reperfusion injury of the somatosensory cortex and hippocampus. The advantages for intravenous transplantation of mesenchymal stromal cells from human umbilical cord Wharton’s jelly over those from adipose tissue and lysate from human umbilical cord Wharton’s jelly were established, which had a better result in different parts of the ischemic brain in rats and were not inferior to, and in some cases, outperformed the reference drug citicoline. It was found that rat embryonic fibroblasts were somewhat inferior to human umbilical cord Wharton’s jelly mesenchymal stromal cells in terms of cerebroprotective effect, which indicates a higher cerebroprotective activity of xenotransplantation.

The practical value of the results obtained is in the experimental substantiation of the feasibility for clinical trials of an injectable medicament based on mesenchymal stromal cells of human umbilical cord Wharton’s jelly for a new purpose, namely as a cytoprotector in patients with ischemic stroke. The implementation of the research results into practice can provide social (reducing mortality from acute cerebral ischemia, improving the quality of life for neurological patients, reducing primary disability rates), medical (experimental study of changes occurring in the ischemic penumbra and the effect on it of intravenously transplanted mesenchymal stromal cells having various origins, which will become the basis for the development of cell therapy methods) and economic (in the long term, associated with reducing time and increasing the efficiency of neurological patients treatment) effects.

**Keywords:** mesenchymal stromal cells, citicoline, cerebroprotection, cerebral ischemia-reperfusion, somatosensory cortex, hippocampus, rats.

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

|                 |                                                                                                                                          |
|-----------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ДНК             | – дезоксирибонуклеїнова кислота                                                                                                          |
| ЕФЩ             | – ембріональні фібробласти щура                                                                                                          |
| ІР              | – ішемія-реперфузія                                                                                                                      |
| ІР ВСА          | – ішемія реперфузія шляхом білатерального накладання лігатур на внутрішні сонні артерії                                                  |
| КГБ             | – карбонільні групи білків                                                                                                               |
| МА              | – малоновий альдегід                                                                                                                     |
| МСК             | – мезенхімальні стромальні клітини                                                                                                       |
| НАДФН           | – нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат Н                                                                                                   |
| НДР             | – науково-дослідна робота                                                                                                                |
| ОМБ             | – окисна модифікація білків                                                                                                              |
| ПОЛ             | – перекисне окислення ліпідів                                                                                                            |
| СДГ             | – сукцинатдегідрогеназа                                                                                                                  |
| СК              | – стовбурові клітини                                                                                                                     |
| СОД             | – супероксиддисмутаза                                                                                                                    |
| ЦНС             | – центральна нервова система                                                                                                             |
| GFAP            | – glial fibrillary acidic protein, гліальний фібрилярний кислий білок                                                                    |
| hADMSCs         | – human adipose-derived mesenchymal stem cells, мезенхімальні стромальні клітини жирової тканини людини                                  |
| hUCB-MSC        | – human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells, мезенхімальні стромальні клітини пуповинної крові людини                    |
| hWJ-MSCs        | – human Wharton's jelly mesenchymal stem cells, мезенхімальні стромальні клітини Вартонових драглів пуповини людини                      |
| l from hWJ-MSCs | – lysate from human Wharton's jelly mesenchymal stem cells, лізат з мезенхімальних стромальних клітин Вартонових драглів пуповини людини |
| NOS             | – синтаза оксид азоту                                                                                                                    |
| rADMSCs         | – rats adipose-derived mesenchymal stem cells, мезенхімальні стромальні клітини жирової тканини щура                                     |
| RIP1            | – receptor interacting protein 1, рецепторно-взаємодіюча протеїнкіназа 1                                                                 |