

ВПЛИВ КЛІТИННОЇ ТЕРАПІЇ НА ПРОЯВИ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ В ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ ЗА УМОВ КРАНІОСКЕЛЕТНОЇ ТРАВМИ

Вступ. Поєднана краніоскелетна травма (КСТ) належить до актуальних проблем сьогодення і трапляється в людей усіх вікових груп. У стратегії лікування краніоскелетної травми в післяшочковий період на перший план виступає профілактика вторинного ураження мозку та внутрішніх органів. У його патогенезі провідне місце належить оксидативному стресу (ОС). З метою корекції оксидативного стресу останніми роками активно вивчають клітинну терапію.

Мета дослідження – з'ясувати вплив клітинної терапії на розвиток оксидативного стресу в щурів різного віку за умов експериментальної краніоскелетної травми.

Методи дослідження. Дослідження проведено на білих щурах самцях лінії Вістар трьох вікових груп: статевонезрілих віком 100–120 днів, статевозрілих віком 6–8 місяців і старих віком 19–23 місяців. Щурам кожної вікової групи під тіопенталонатрієвим наркозом моделювали краніоскелетну травму. Щурів контрольної групи тільки вводили в наркоз. З метою корекції внутрішньовенно вводили суспензію кріоконсервованих клітин нейробластів (NBC) окремо та в поєднанні із внутрішньоочеревинним введенням мезенхімальних стовбурових клітин (MSC). Через 14 діб експерименту в печінці, нирках і легенях щурів різного віку визначали каталазну активність і вміст реагентів до тіобарбітурової кислоти, за відношенням яких розраховували антиоксидантно-прооксидантний індекс (АПІ), ступінь зниження якого свідчить про тяжкість оксидативного стресу.

Результати й обговорення. Під впливом краніоскелетної травми через 14 діб посттравматичного періоду в печінці, нирках і легенях щурів незалежно від віку величина антиоксидантно-прооксидантного індексу була статистично вірогідно меншою, порівняно з контролем. Після застосування монотерапії NBC порівняно зі щурами без корекції в піддослідних щурів відмічали зростання величини антиоксидантно-прооксидантного індексу у внутрішніх органах, проте в печінці результат був статистично значущий лише у статевозрілих щурів, у нирці та легенях – у статевозрілих і статевонезрілих щурів. Застосування комбінації NBC та MSC порівняно зі щурами без корекції супроводжувалося зростанням величини антиоксидантно-прооксидантного індексу в усіх досліджуваних органах статевонезрілих і статевозрілих щурів. Порівняно з результатом монотерапії NBC результат виявився статистично вірогідно більшим лише у статевозрілих щурів.

Висновки. Існують вікові особливості впливу клітинної терапії на розвиток оксидативного стресу у внутрішніх органах щурів за умов краніоскелетної травми. Ефективність монотерапії NBC і комбінованої терапії NBC та MSC суттєво вища у статевозрілих щурів, порівняно зі щурами інших вікових груп.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: травма; печінка; нирка; легені; оксидативний стрес; клітинна терапія; вік.

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

ВСТУП. Поєднана краніоскелетна травма (далі – КСТ) належить до актуальних проблем сьогодення. Щороку КСТ трапляється в мільйонів людей усіх вікових груп. Тяжкий перебіг, висока летальність і стійкі неврологічні розлади тих, хто вижив, стають серйозним медичним і соціальним тягарем для суспільства [1].

Унаслідок механічного впливу значної сили виникає руйнування нервових і судинних структур, м'яких тканин і кісток опорно-рухового апарату. За цих умов у гострий період (1–2 доби) настає первинне ураження нейронів і глії, відмічають розвиток гіповолемічного або травматичного шоку. Згодом виникає вторинна дегенерація нервових структур (2–14 днів), а також вторинне ураження тканин і органів з формуванням поліорганної

недостатності. У їх патогенезі провідну роль відіграє утворення активних форм кисню, активізація вільнорадикального окиснення, вивільнення проапоптичних цитокінів з розвитком оксидативного стресу (далі – ОС) та синдрому системної відповіді на запалення [2; 3]. Навіть успішне виведення постраждалого із шоку не гарантує його подальше виживання та зменшення неврологічного дефіциту, що пов'язано з фізіологічно низьким постнатальним нейрогенезом та високою ймовірністю ускладнень, зумовлених вторинним ураженням внутрішніх органів [4; 5].

Як зазначає більшість авторів, у стратегії лікування КСТ після виведення постраждалого із шоку на перший план виступає профілактика вторинного ураження мозку та поліорганної дисфункції, стимуляція нейрогенезу та репаративних процесів у внутрішніх

органах [6; 7]. Із цією метою останніми роками активно вивчають клітинну терапію. Уважають, що трансплантовані стовбурові клітини можуть диференціюватися у функціональні нейрони та гліальні клітини, замінюючи втрачену тканину [8], або здатні виділяти чинники для зменшення вторинної дегенерації нервових клітин і паренхіматозних структур внутрішніх органів завдяки зменшенню інтенсивності процесів ліпідної пероксидації, порушень імунних реакцій і цитокиногенезу з вираженим тканинопротекторним ефектом, доведеним на світлооптичному та субмікроскопічному рівнях [9; 10]. Однак функціональна спроможність стовбурових клітин залежить від віку і зменшується зі старінням організму [11], що потребує дослідження терапевтичної ефективності клітинної терапії за умов КСТ у віковому аспекті.

Мета дослідження – з'ясувати вплив клітинної терапії на розвиток ОС в щурів різного віку за умов експериментальної КСТ.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Для проведення експериментів випадковим методом на віварії Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського було відібрано 129 білих щурів самців лінії Вістар трьох вікових груп: статевонезрілих віком 100–120 днів і масою 90–110 г; статевозрілих віком 6–8 місяців і масою 180–200 г та старих віком 19–23 місяців і масою 300–320 г. Усіх щурів утримували на стандартному раціоні віварію з постійним доступом до води.

У кожній віковій групі (по 36 щурів) під тіопенталонатрієвим наркозом ($40 \text{ мг} \cdot \text{кг}^{-1}$) моделювали КСТ за методикою, описаною в роботі [12]. У статевонезрілих (молодих) щурів спершу по лівому стегну завдавали дозованого механічного удару твердим предметом із клиновидною насадкою й енергією 0,320 Дж, досягаючи закритого перелому стегнової кістки. Далі предметом із тупим кінцем завдавали дозованого удару по черепу з енергією 0,226 Дж у точці на 3 мм до переду від міжвушної лінії. У статевозрілих (дорослих) щурів для отримання перелому стегнової кістки завдавали аналогічного удару з енергією 0,637 Дж та дозованого удару по черепу в точці на 5 см до переду від міжвушної лінії з енергією 0,375 Дж. У старих щурів перелому стегнової кістки досягали шляхом завдання дозованого удару по стегну з енергією 0,796 Дж, черепно-мозкової травми (далі – ЧМТ) – дозованим ударом по черепу з енергією 0,549 Дж у точці на 6 мм до переду від міжвушної лінії.

Енергія удару в щурів різних вікових груп спричиняла ЧМТ середнього ступеня тяжкості

[6]. В експериментах не використовували щурів, у яких спостерігали проникаюче ураження черепа чи відкритий перелом стегна. У контрольних групах (по 7 щурів) тварин тільки вводили в тіопенталонатрієвий наркоз.

З метою корекції у групах щурів різного віку з КСТ застосовували кріоконсервовані клітини нейробластів (далі – NBC) від щурів лінії Вістар (ASK Health Medical Diagnostic Center Limited Liability Company, м. Харків, Україна) та культивовані до четвертого пасажу мезенхімальні стовбурові клітини (далі – MSC) щурів, виділені з пуповинних канатиків плодів самки лінії Вістар на пізній стадії гестації, отримані в лабораторії клітинних культур Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.

Після розморожування суспензію клітин нейробластів вводили у хвостову вену через 12 годин після моделювання КСТ 7-ми тваринам кожної вікової групи в дозі 0,5 мл, яка вміщувала 10^6 клітин. В іншій піддослідній групі поєднували введення нейробластів і внутрішньоочеревинне введення 0,25 мл суспензії MSC в дозі $5 \cdot 10^5$ клітин на щура [13]. Оцінювали ефективність застосування клітинної терапії через 14 діб. У групах порівняння доведено та внутрішньоочеревинно вводили фізіологічний розчин.

З експериментів щурів виводили в умовах наркозу методом тотального кровопускання із серця. Охолоджену і відмиту від крові печінку, нирки та легені гомогенізували в гомогенізаторі Silent Crasher 75000 (Німеччина). Розвиток ОС в щурів різного віку на тлі КСТ оцінювали за співвідношенням каталазної активності до вмісту реагентів до тіобарбітурової кислоти (антиоксидантно-прооксидантний індекс (далі – АПІ)) [14], які визначали в 10% екстракті гомогенату печінки, нирок і легень за методиками, описаними в роботі [15], з використанням спектрофотометра LabAnalyt SP-V1000 (Granum, Китай).

Під час проведення експериментів дотримувалися «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р.) та узгоджених із положенням «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986 р.), а також висновку комісії з питань біоетики Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України № 72 від 6 січня 2023 р.

Одержаний цифровий матеріал обробляли у програмному пакеті STATISTICA

(StatSoft Inc., США). Визначали медіану (далі – Me), нижній і верхній квартилі (далі – LQ, UQ). Для незалежного порівняння ступеня відхилення показників у тварин різних вікових груп розраховували середнє відношення індивідуальних величин досліджуваних показників до середньої величини контрольної групи [14]. Вірогідність відмінностей оцінювали за непараметричним критерієм Манна – Вітні.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Дослідження показали, що величина АПІ печінки під впливом КСТ у щурів різного віку порівняно з контролем через 14 діб посттравматичного періоду суттєво знижувалася (рис. 1): у статевозрілих щурів – на 80,3% ($p < 0,05$), у статевозрілих щурів – на 77,2% ($p < 0,05$), у старих щурів – на 86,5% ($p < 0,05$). Окрім цього, у старих щурів показник виявився статистично вірогідно меншим, ніж у групах статевонезрілих статевозрілих щурів (відповідно на 48,3 та 42,3%, $p < 0,05$).

Під впливом корекції NBC у статевонезрілих і старих щурів величина АПІ печінки порівняно зі щурами без корекції зростала, проте результат виявився статистично невірогідним ($p > 0,05$). У статевозрілих щурів показник збільшився на 42,3%, що було статистично значущим ($p < 0,05$).

Комбінована терапія NBC + MSC спричинила подальше зростання величини АПІ печінки. У статевонезрілих щурів показник порівняно зі щурами без корекції підвищився на 62,1% ($p < 0,05$), порівняно зі щурами, які отримували лише NBC, – на 38,2% ($p < 0,05$). Аналогічно показник зростав у статевозрілих щурів – відповідно на 42,3 та 29,7% ($p < 0,05$). У старих щурів показник теж зростав, проте результат порівняно зі щурами без корекції та щурами з терапією лише NBC був статистично невірогідний ($p > 0,05$).

З урахуванням наявності вікових відмінностей величини АПІ печінки в щурів із КСТ, з метою оцінювання ефективності клітинної терапії ми розраховували середнє відношення індивідуальних величин АПІ печінки щурів різного віку з КСТ, яким вводили NBC та NBC + MSC, до середньої величини щурів аналогічного віку без корекції (табл. 1).

Було встановлено, що у статевонезрілих і статевозрілих щурів комбінована клітинна терапія супроводжувалася суттєво більшим зростанням величини досліджуваного показника, ніж після застосування лише NBC (відповідно на 37,3 та 29,0%, $p < 0,05$). У старих щурів відмінності показника під впливом різних видів клітинної терапії були статистично невірогідні ($p > 0,05$).

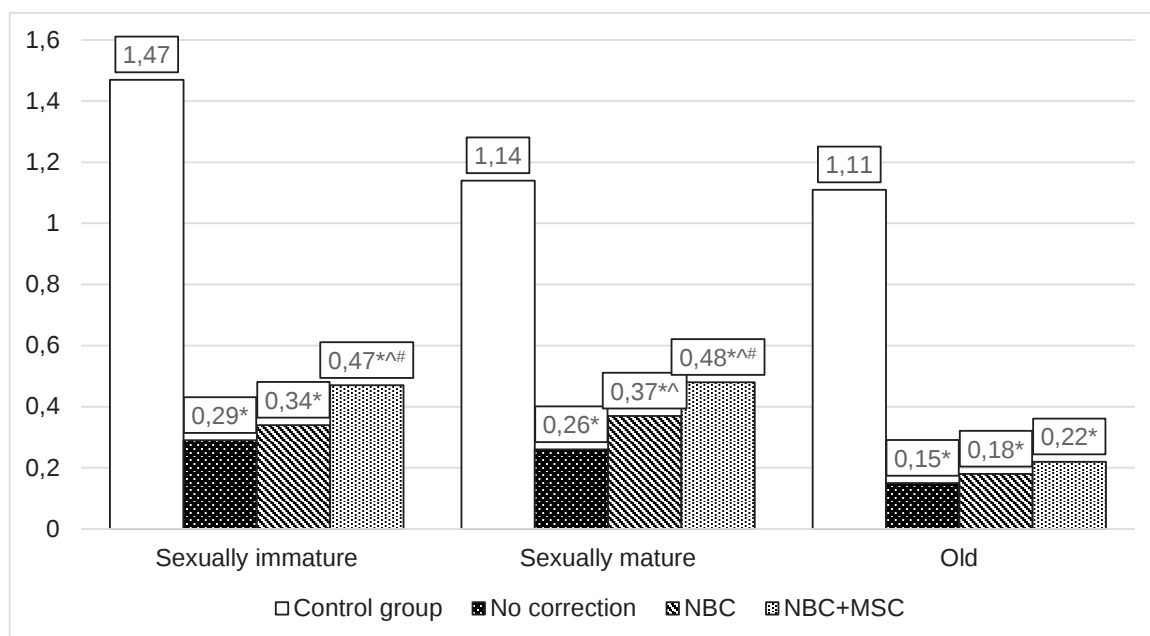


Рис. 1. Вплив клітинної терапії на величину АПІ печінки через 14 діб після завдання краніоскелетної травми в щурів різного віку

Примітки: тут і на рисунках 2 і 3: * – відмінності стосовно контрольної групи статистично вірогідні, $p < 0,05$; ^ – відмінності стосовно травмованих щурів без корекції статистично вірогідні, $p < 0,05$; # – відмінності стосовно травмованих щурів із корекцією NBC статистично вірогідні, $p < 0,05$.

Таблиця 1 – Вплив клітинної терапії на середнє відношення індивідуальних величин АПІ печінки щурів різного віку з КСТ до середньої величини щурів без корекції через 14 діб після завдання краніоскелетної травми, Me (LQ; UQ) – медіана (нижній і верхній квартилі)

Група тварин	NBC	NBC + MSC	p
Статевонезрілі	1,18 (0,94; 1,31)	1,62 (1,55; 1,72)	<0,05
Статевозрілі	1,45 (1,29; 1,47)	1,87 (1,71; 2,04)	<0,05
Старі	1,20 (0,97; 1,34)	1,43 (1,15; 1,58)	>0,05
p ₁₋₂	>0,05	>0,05	
p ₁₋₃	>0,05	>0,05	
p ₂₋₃	>0,05	<0,05	

Примітки: тут і в табл. 2 і 3:
 1) p – вірогідність відмінностей між групами щурів, які отримували NBC та NBC + MSC;
 2) p₁₋₂ – вірогідність відмінностей між групами статевонезрілих і статевозрілих щурів;
 3) p₁₋₃ – вірогідність відмінностей між групами статевонезрілих і старих щурів;
 4) p₂₋₃ – вірогідність відмінностей між групами статевозрілих і старих щурів.

Порівняння впливу NBC у травмованих щурів різного віку виявило, що середнє відношення індивідуальних величин АПІ печінки щурів різного віку з КСТ до середньої величини щурів без корекції у статевозрілих щурів було більшим порівняно зі статевонезрілими та старими щурами – відповідно на 22,9 та на 20,8%, проте результат виявився статистично невірогідним (p₁₋₂ > 0,05; p₂₋₃ > 0,05).

Порівняння комбінованого впливу MBC + MSC теж супроводжувалося більшим зростанням величини досліджуваного показника у статевозрілих щурів. Варто зауважити, що порівняно зі старими щурами показник виявився статистично значущим (на 30,8%, p₂₋₃ < 0,05).
 У нирці через 14 діб після моделювання КСТ (рис. 2) у щурів різного віку величина АПІ була суттєво меншою, ніж у контролі: у статевонезрілих щурів – на 69,7% (p < 0,05), у статевозрілих щурів – на 83,3% (p < 0,05), у старих щурів – на 87,7% (p < 0,05). У старих щурів показник у цей термін дослідження також був істотно меншим, ніж у статевонезрілих і статевозрілих щурів (відповідно на 31,0 та 20,7%, p < 0,05).
 Аналіз ефективності клітинної терапії за величиною АПІ нирки показав (див. рис. 2), що у статевонезрілих і статевозрілих щурів із КСТ застосування NSC викликало статистично вірогідне зростання величини досліджуваного показника порівняно зі щурами аналогічного віку без корекції (відповідно на 80,0% та у 2,30 раза, p < 0,05). У старих щурів із КСТ під впливом NSC показник теж зростав, проте відмінності порівняно із групою щурів без корекції були статистично невірогідними (p > 0,05).
 Комбінована терапія в щурів різного віку з КСТ супроводжувалася подальшим зростанням величини АПІ нирки. У статевонезрілих щурів показник порівняно зі щурами без корекції зростав у 2,0 раза (p < 0,05), порівняно зі щурами

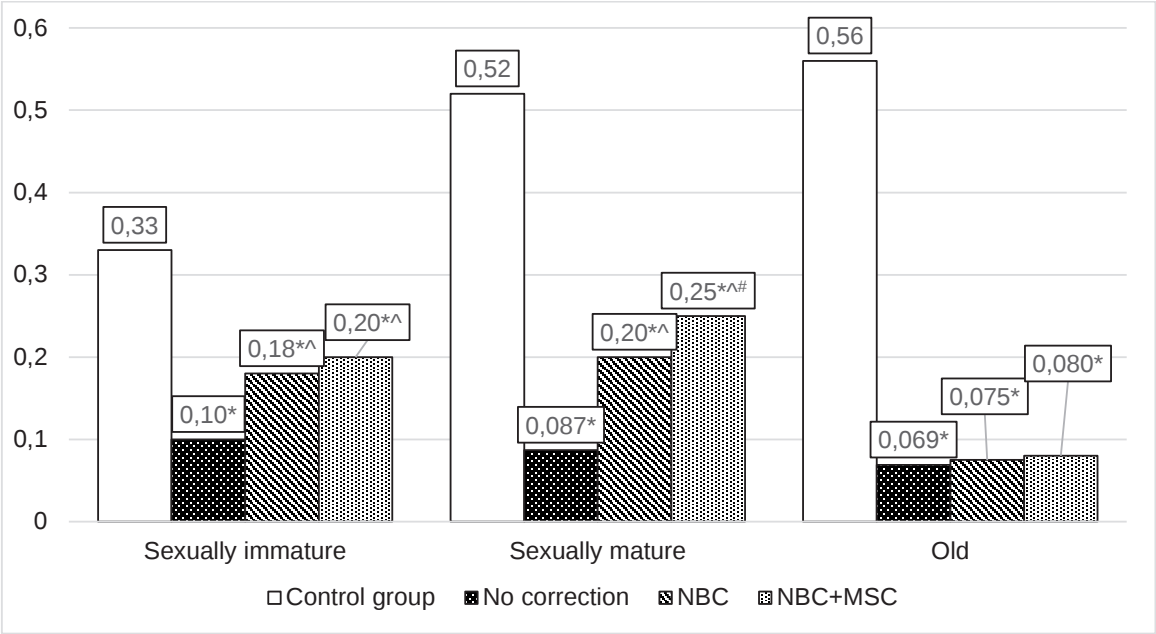


Рис. 2. Вплив клітинної терапії на величину АПІ нирки через 14 діб після завдання краніоскелетної травми в щурів різного віку

з терапією NSC – на 11,1%, проте результат був статистично незначущим ($p > 0,05$). У статевозрілих щурів показник зростав відповідно у 2,87 раза та на 25,0% ($p < 0,05$); у старих щурів – відповідно на 15,9 та 6,7%, що виявилося теж статистично невіргоднім ($p > 0,05$).

Аналіз середнього відношення індивідуальних величин АПІ нирки щурів різного віку з КСТ після корекції NSC та NSC + MSC через 14 діб після завдання КСТ показав (табл. 2), що у статевонезрілих і старих щурів комбінована клітинна терапія супроводжувалася збільшенням величини досліджуваного показника порівняно з монотерапією NBC (відповідно на 12,5 і 6,4%), проте відмінності були неістотними ($p > 0,05$).

Таблиця 2 – Вплив клітинної терапії на середнє відношення індивідуальних величин АПІ нирки щурів різного віку до середньої величини щурів без корекції через 14 діб після завдання краніоскелетної травми, Me (LQ; UQ) – медіана (нижній і верхній кuartили)

Група тварин	NBC	NBC + MSC	p
Статевонезрілі	1,28 (1,04; 1,37)	1,44 (1,23; 1,53)	$>0,05$
Статевозрілі	1,26 (1,09; 1,35)	1,56 (1,54; 1,76)	$<0,05$
Старі	1,09 (0,99; 1,11)	1,16 (1,11; 1,22)	$>0,05$
p_{1-2}	$>0,05$	$<0,05$	
p_{1-3}	$>0,05$	$<0,05$	
p_{2-3}	$>0,05$	$<0,05$	

У статевозрілих щурів показник під впливом NBC + MSC порівняно з монотерапією NBC зростав на 23,8%, що виявилося статистично значущим ($p < 0,05$).

Порівняння ефективності клітинної терапії травмованих щурів різних вікових груп показало, що введення лише NBC не супроводжувалося суттєвими відмінностями показника у щурів різного віку з КСТ ($p_{1-2} > 0,05$, $p_{1-3} > 0,05$, $p_{2-3} > 0,05$). Водночас комбінована терапія у статевозрілих щурів зумовила статистично вірогідне збільшення показника порівняно зі статевонезрілими та старими (відповідно на 8,3%, $p_{1-2} < 0,05$ та на 34,5% ($p_{2-3} < 0,05$). Варто зазначити, що у статевонезрілих щурів показник був істотно більшим, порівняно зі старими (на 24,1%, $p_{1-3} < 0,05$).

Подібною була динаміка величини АПІ в легенях (рис. 3). Порівняно з контрольною групою у статевозрілих щурів із КСТ через 14 діб посттравматичного періоду показник був меншим на 72,0% ($p < 0,05$), у статевозрілих щурів – на 75,5% ($p < 0,05$), у старих щурів – на 79,8% ($p < 0,05$). За цих умов у групі статевозрілих щурів показник виявився статистично вірогідно більшим, ніж у групах статевонезрілих і старих щурів (відповідно на 21,4 та 70,0%, $p < 0,05$). Аналогічно у статевонезрілих щурів показник був істотно більшим порівняно зі старими щурами (на 40,0%, $p < 0,05$).

Під впливом застосування лише NBC у групі статевонезрілих щурів із КСТ через 14 діб

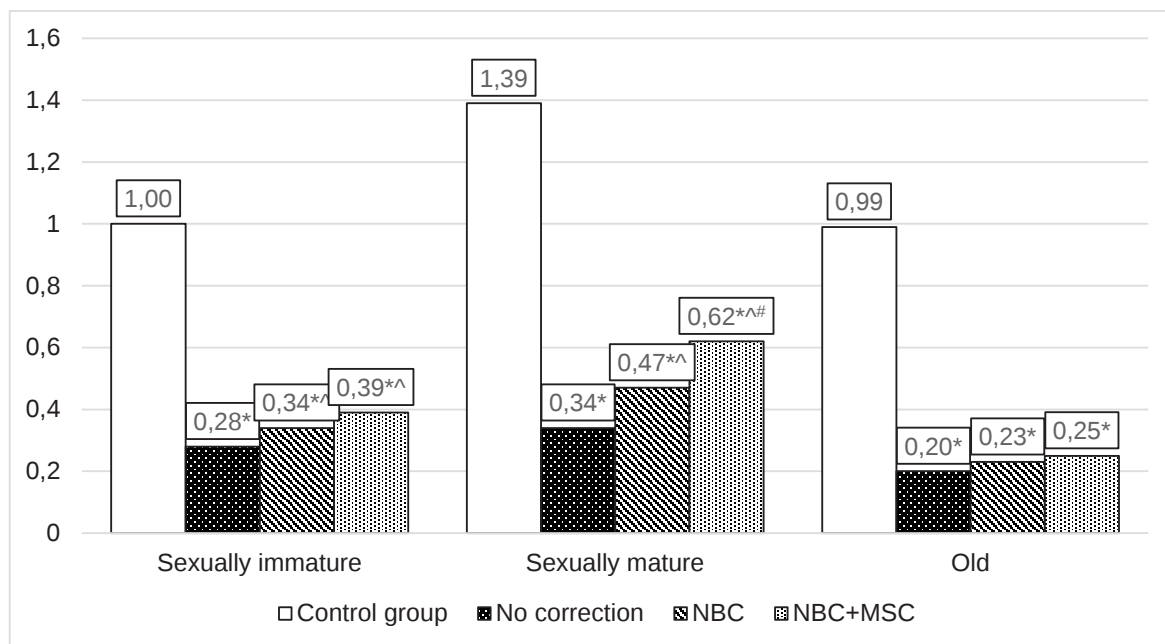


Рис. 3. Вплив клітинної терапії на величину АПІ легень через 14 діб після завдання краніоскелетної травми в щурів різного віку

посттравматичного періоду (див. рис. 3) величина АПІ легень зросла на 21,4% ($p < 0,05$), у статевозрілих щурів – на 38,2% ($p < 0,05$), у старих щурів – на 15,0%, проте результат був статистично невірогідний ($p > 0,05$).

Після застосування комбінованої клітинної терапії показник у групах щурів різного віку продовжував підвищуватися і порівняно зі щурами без корекції у статевонезрілих щурів зростав на 39,3% ($p < 0,05$), у статевозрілих щурів – на 82,4% ($p < 0,05$), у старих щурів – на 25,0% ($p > 0,05$). Порівняно зі щурами з монотерапією NBC, комбінована клітинна терапія супроводжувалася збільшенням величини досліджуваного показника, проте тільки у статевозрілих щурів результат був статистично вірогідним (на 27,6%, $p < 0,05$).

Аналіз впливу клітинної терапії на середнє відношення індивідуальних величин АПІ легень щурів різного віку до середньої величини щурів без корекції через 14 діб після завдання КСТ (табл. 3) показав, що у групах щурів різного віку за умов комбінованої клітинної терапії показник був більшим, ніж після застосування монотерапії NBC, проте тільки у групі статевонезрілих щурів результат був статистично вірогідним (на 37,3%, $p < 0,05$).

Таблиця 3 – Вплив клітинної терапії на середнє відношення індивідуальних величин АПІ легень щурів різного віку до середньої величини щурів без корекції через 14 діб після завдання краніоскелетної травми, Me (LQ; UQ) – медіана (нижній і верхній квартилі)

Група тварин	NBC	NBC + MSC	p
Статевонезрілі	1,23 (1,20; 1,44)	1,39 (1,32; 1,53)	>0,05
Статевозрілі	1,38 (1,21; 1,60)	1,84 (1,73; 2,05)	<0,05
Старі	1,00 (1,18; 1,29)	1,28 (0,99; 1,43)	>0,05
p_{1-2}	>0,05	<0,05	
p_{1-3}	>0,05	>0,05	
p_{2-3}	>0,05	<0,05	

Порівняння ефективності кожного із застосованих видів клітинної терапії серед щурів різного віку показало, що після монотерапії NBC середнє відношення індивідуальних величин АПІ легень щурів різного віку до середньої величини щурів без корекції між щурами різних вікових груп істотно не відрізнялось. Проте після застосування комбінованої клітинної терапії у групі статевозрілих щурів показник ставав статистично вірогідно більшим, порівняно зі статевонезрілими та старими щурами (відповідно на 32,4%, $p_{1-2} < 0,05$ та 43,8%, $p_{2-3} < 0,05$).

Отримані результати свідчать про те, що під впливом КСТ через 14 діб посттравматичного періоду в печінці, нирках і легенях щурів незалежно від віку антиоксидантно-прооксидантний баланс зміщений у бік домінування прооксидантних механізмів. Аналогічні порушення відмічали й інші автори, проте лише у статевозрілих щурів [16]. Уважають, що посилення ПОЛ та виснаження антиоксидантного захисту в цей термін є наслідком вторинного ураження тканин мозку та внутрішніх органів.

Після застосування монотерапії NBC у дослідних групах щурів різного віку відмічають зростання величини АПІ у внутрішніх органах порівняно зі щурами без корекції. Проте в печінці результат статистично значущий лише у статевозрілих щурів, у нирці та легенях – у статевозрілих і статевонезрілих щурів. Отже, доведення введення аллогенних нейробластів за умов КСТ зумовлює зменшення ОС на системному рівні. В основі отриманого результату, очевидно, лежить нейропротективний вплив, за допомогою якого NBC можуть покращити функціональні результати після експериментального ураження центральної нервової системи [17]. В основі виявленого феномену лежить паракринний вплив нейробластів завдяки секреції трофічних чинників, які беруть участь у нейропротекції [18]. Саме завдяки їм, як вважають окремі автори [10], застосування NBC сповільнювало вільнорадикальне окиснення мембранних ліпідів, суттєво знижувало у тканинах мозку вміст продуктів ПОЛ – дієнових і трієнових кон'югатів, шиффових основ, а також підвищувало в мозку активність антиоксидантних ферментів: каталази, глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази. Отримані результати, на думку автора, вказують на пряму антиоксидантну дію NBC. Подібні результати були отримані з уведенням фетальних нервових клітин на тлі КСТ, ускладненої гострою крововтратою, у статевозрілих щурів [11]. Автор зазначає, що клітинна терапія сприяла зниженню інтенсивності ПОЛ у печінці та депонуванню антиоксидантів. Посилення антиоксидантного захисту у тканинах головного мозку за умов моделі експериментальної деменції на тлі клітинної терапії окремі автори пов'язують із покращенням енергетичного балансу. За цих умов відмічали збільшення синтезу АТФ, підвищення активності ферментів антиоксидантної системи (супероксиддисмутази та каталази), зниження у тканинах головного мозку рівня ТБК-активних продуктів [19; 20].

Привертає увагу той факт, що ефективність уведення NBC однозначно більша

у статевозрілих щурів, дещо менша – у статевонезрілих, несуттєва – у старих. Низький системний терапевтичний вплив у старих щурів, очевидно, зумовлений сукупністю вікових чинників, які знижують здатність плюрипотентних стовбурових поповнювати тканини організму належною кількістю диференційованих клітин [11]. Імовірно, це впливає і на їхні паракринні функції. Водночас ступінь зростання величини АПІ у щурів різних вікових груп був практично однаковим, що вказує на збільшення АПІ пропорційно до його рівня в щурів без корекції.

Застосування з метою корекції комбінації NBC та MSC порівняно зі щурами без корекції супроводжується більшим ефектом. Величина АПІ в досліджуваних органах у статевонезрілих і статевозрілих щурів стає суттєво більшою від контролю. У старих щурів показник зростає, проте відмінності стосовно контрольної групи продовжують залишатися статистично незначущими. Зауважимо, що лише у статевозрілих щурів комбінована клітинна терапія супроводжується більшим ефектом порівняно з монотерапією NBC.

Як видно, комбінований вплив, який включає 2 типи клітин із різним рівнем диференціації та властивостями, на тлі КСТ сприяє меншому розвитку ОС у внутрішніх органах і є більшим у статевозрілих щурів. Отриманий, очевидно, пов'язаний з ефектом сумації біологічного впливу обох типів клітин, оскільки і для MSC характерні пригнічення запалення та синтез біологічно активних речовин, які сприяють

нейропротекції та регенерації [20–22]. Водночас вік створює негативне тло для терапевтичного впливу як NBC, так і MSC.

Отже, отримані результати вказують на вікові особливості впливу клітинної терапії на розвиток ОС у внутрішніх органах щурів за умов КСТ, що варто враховувати під час розроблення стратегій клітинної терапії за умов тяжкої поєднаної травми.

ВИСНОВКИ. 1. За умов уведення NBC на тлі КСТ через 14 діб посттравматичного періоду порівняно зі щурами без корекції у статевонезрілих щурів у тканинах нирок і легень, у статевозрілих щурів – у всіх досліджуваних органах відмічають нижчий рівень ОС, про що свідчить статистично вірогідно більший АПІ. Ступінь збільшення показника між групами щурів різного віку суттєво не відрізняється, що вказує на пропорційне зростання під впливом NBC величини АПІ порівняно зі щурами без корекції.

2. Комбінована трансплантація NBC та MSC щурам різного віку за умов КСТ супроводжується більшим зниженням ОС у тканинах печінки, нирок і легень. У статевонезрілих і статевозрілих щурів величина АПІ в досліджуваних внутрішніх органах суттєво більша порівняно зі щурами без корекції. Порівняно зі щурами з КСТ, яким проводили монотерапію NBC, комбінована терапія лише у статевозрілих щурів спричиняла статистично вірогідне зростання величини АПІ, а також супроводжувалася більшим ступенем приросту показника порівняно зі щурами без корекції.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. GBD 2016 Neurology Collaborators. Global, regional, and national burden of neurological disorders, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet. Neurology*. 2019. Vol. 18. № 5. P. 459–480. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(18\)30499-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(18)30499-X).
2. Traumatic spinal cord injury / C. S. Ahuja et al. *Nature reviews. Disease primers*. 2017. Vol. 3. P. 17018. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.18>.
3. McAllister T. W. Neurobiological consequences of traumatic brain injury. *Dialogues in clinical neuroscience*. 2011. Vol. 13. № 3. P. 287–300. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2011.13.2/tmcallister>.
4. Traumatic brain injury in China / J. Y. Jiang et al. *The Lancet. Neurology*. 2019. Vol. 18. № 3. P. 286–95. [https://doi.org/10.1016/s1474-4422\(18\)30469-1](https://doi.org/10.1016/s1474-4422(18)30469-1).
5. Прохоренко О. О., Цимбалюк Г. Ю. Динаміка показників функціональної активності печінки в період пізніх проявів краніоскелетної травми за умов супутнього хронічного гепатиту та ефективність корекції

армадіном. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2022. № 1. С. 119–126. DOI: 10.11603/1811-2471.2022.v.i1.12998.

6. Зяблицев С. В., Єльський В. М. Синдроми травматичної хвороби при черепно-мозковій травмі: монографія. Краматорськ: Каштан, 2020. 264 с.

7. Pentraxin 3 contributes to neurogenesis after traumatic brain injury in mice / C. Zhou et al. *Neural regeneration research*. 2020. Vol. 15. № 12. P. 2318–26. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.285001>.

8. Houli J. D., Reier P. J. Transplantation of fetal spinal cord tissue into the chronically injured adult rat spinal cord. *The Journal of comparative neurology*. 1988. Vol. 269. № 4. P. 535–547. <https://doi.org/10.1002/cne.902690406>.

9. Борис Р. М. Морфологічні і біохімічні зміни внутрішніх органів при експериментальній краніоскелетній травмі: монографія. Тернопіль: Укрмедкнига, 2013. 142 с.

10. Терапія фетальними нервними клетками в остром періоді експериментального ішемічного

инсульта (антиоксидантный эффект) / Д. В. Лебединец и др. *Проблемы криобиологии*. Т. 20. № 3. С. 338–347.

11. Effect of aging on stem cells / A. S. Ahmed, M. H. Sheng, S. Wasnik. *World journal of experimental medicine*. 2017. Vol. 7. № 1. P. 1–10. <https://doi.org/10.5493/wjem.v7.i1.1>.

12. Особливості ензимної ланки антиоксидантного захисту нирок щурів різного віку за умов експериментальної краніоскелетної травми / А. І. Гоженко, та ін.. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2023. № № 1–2. С. 279–290. <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.7618011>.

13. Павлова О. О., Лук'янова Є. М. Вплив мезенхімальних стовбурових клітин на динаміку експресії регулятора проліферації ендотелію у структурах головного мозку щурів з експериментальною деменцією альцгеймерівського типу. *Актуальні проблеми сучасної медицини : вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2023. Т. 23. № 4. С. 224–227. <https://doi.org/10.31718/2077-1096.23.4.224>.

14. Гук Р. А., Гудима А. А. Статеві особливості розвитку оксидативного стресу в печінці під впливом краніоскелетної травми та його корекція. *Шпитальна хірургія. Журнал імені Л. Я. Ковальчука*. 2024. № 2. С. 48–55. <https://doi.org/10.11603/2414-4533.2024.2.14846>.

15. Лабораторні методи дослідження у біології, тваринництві і ветеринарній медицині : довідник / В. В. Влізло та ін. ; за ред. В. В. Влізла. Львів : Сполом, 2012. 764 с.

16. Прохоренко О. О., Цимбалюк Г. Ю. Динаміка активності процесів ліпідної пероксидації в пізній період краніоскелетної травми за умов хронічного

гепатиту та ефективність корекції армадіном. *Медична та клінічна хімія*. 2021. Т. 23. № 4. С. 15–21. <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2021.i4.12728>.

17. Human neuroepithelial stem cell regional specificity enables spinal cord repair through a relay circuit / M. T. Dell'Anno et al. *Nature communications*. 2018. Vol. 9. № 1. P. 3419. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05844-8>.

18. An in vivo characterization of trophic factor production following neural precursor cell or bone marrow stromal cell transplantation for spinal cord injury / G. W. Hawryluk et al. *Stem cells and development*. 2012. Vol. 21. № 12. P. 2222–2238. <https://doi.org/10.1089/scd.2011.0596>.

19. Behavioral reactions and cognitive functions in rats with vascular model of Alzheimer's type dementia at different stages of disease before and after stem cell correction / Y. Lukyanova et al. *Inter Collegas*. 2020. Vol. 7. № 3. P. 118–124. <https://doi.org/10.35339/ic.7.3.118-124>.

20. Роль гіпоксії та мітохондріальної дисфункції в механізмах розвитку експериментальної деменції альцгеймерівського типу різного генезу у щурів, оцінка можливості корекції даного стану мезенхімальними стовбуровими клітинами / Є. М. Зоренко та ін. *Вісник проблем біології і медицини*. 2021. № 1. P. 66–72.

21. Mesenchymal stem cells in the treatment of spinal cord injuries : a review / V. R. Dasari et al. *World journal of stem cells*. 2014. Vol. 6. № 2. P. 120–133. <https://doi.org/10.4252/wjsc.v6.i2.120>.

22. Bone marrow stromal stem cells transplantation in mice with acute spinal cord injury / V. Neirinckx et al. *Methods in molecular biology*. 2014. Vol. 1213. P. 257–264. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1453-1_21.

REFERENCES

1. GBD 2016 Neurology Collaborators (2019). Global, regional, and national burden of neurological disorders, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet. Neurology*, 18 (5), 459–480. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(18\)30499-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(18)30499-X).

2. Ahuja, C. S., Wilson, J. R., Nori, S., Kotter, M. R. N., Druschel, C., Curt, A., & Fehlings, M. G. (2017). Traumatic spinal cord injury. *Nature reviews. Disease primers*, 3, 17018. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.18>.

3. McAllister, T. W. (2011). Neurobiological consequences of traumatic brain injury. *Dialogues in clinical neuroscience*, 13 (3), 287–300. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2011.13.2/tmcallister>.

4. Jiang, J. Y., Gao, G. Y., Feng, J. F., Mao, Q., Chen, L. G., Yang, X. F., Liu, J. F., Wang, Y. H., Qiu, B. H., & Huang, X. J. (2019). Traumatic brain injury in China. *The Lancet. Neurology*, 18 (3), 286–295. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(18\)30469-1](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(18)30469-1).

5. Prokhorenko, O. O., & Tsybaliuk, H. Y. (2022). Dynamika pokaznykiv funktsionalnoi aktyvnosti pechinky v period piznykh proiaviv kranioskeletnoi travmy za

umov suputnoho khronichnoho hepatytu ta efektyvnist korektsii armadinom. [Dynamics of liver functional activity indicators during late manifestations of craniocskelatal trauma under constitutional chronic cheophetic hepatephetis]. *Zdobutky klinichnoi i eksperymentalnoi medytsyny – Achievements of Clinical and Experimental Medicine*, (1), 119–126. <https://doi.org/10.11603/1811-2471.2022.v.i1.12998> [in Ukrainian].

6. Ziablitsev, S. V., & Yelskyi, V. M. (2020) Syndromy travmatychnoi khvoroby pry cherepno-mozkovii travmi [Traumatic disease syndromes in traumatic brain injury]. Kramatorsk: Kashtan [in Ukrainian].

7. Zhou, C., Chen, H., Zheng, J. F., Guo, Z. D., Huang, Z. J., Wu, Y., Zhong, J. J., Sun, X. C., & Cheng, C. J. (2020). Pentraxin 3 contributes to neurogenesis after traumatic brain injury in mice. *Neural regeneration research*, 15 (12), 2318–2326. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.285001>.

8. Houli, J. D., & Reier, P. J. (1988). Transplantation of fetal spinal cord tissue into the chronically injured adult rat spinal cord. *The Journal of comparative neurology*, 269 (4), 535–547. <https://doi.org/10.1002/cne.902690406>.

9. Borys, R. M. (2013) Morfolohichni i biokhimichni zminy vnutrishnikh orhaniv pry eksperymentalni

kranoskeletnii travmi [Morphological and biochemical changes of internal organs in experimental cranoskeletal trauma]. Ternopil: Ukrmedknyha [in Ukrainian].

10. Lebedinec, D. V., Ovsyannikov, S. E., Lebedinec, V. V., Ostankov, M. V. & Golcev, A. N. (2010) Terapiya fetalnymi nervnymi kletkami v ostrom periode eksperimentalnogo ishemicheskogo insulta (antioksidantnyy effekt) [Therapy with Fetal Neuronal Cells in Acute Period of Experimental Ischemic Stroke (Antioxidative Effect)]. *Problemy kriobiologii – Problems of cryobiology*, 20 (3), 338–347 [in Russian].

11. Ahmed, A. S., Sheng, M. H., Wasnik, S., Baylink, D. J., & Lau, K. W. (2017). Effect of aging on stem cells. *World journal of experimental medicine*, 7 (1), 1–10. <https://doi.org/10.5493/wjem.v7.i1.1>.

12. Gozhenko, A. I., Sushko, Yu. I., Hudyma, A. A., & Zachepa, O. A. (2023). Osoblyvosti enzymnoi lanky antyoksydantnoho zakhystu nyrok shchuriv riznoho viku za umov eksperymentalnoi kranioskeletnoi travmy [Peculiarities of Enzymatic Pathway of Antioxidant Protection in Kidneys of rats of Different Age in Case of Experimental Cranioskeletal Injury]. *Aktualni problemy transportnoi medytsyny – Actual problems of transport medicine*. (1–2), 279–290. <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.7618011> [in Ukrainian].

13. Pavlova, O., & Lukyanova, E. (2023). Vplyv mezenkhimalnykh stovburovykh klityn na dynamiku ekspresii rehuliatora proliferatsii endoteliu u strukturakh holovnoho mozku shchuriv z eksperymentalnoi dementsiiei altsheimerivskoho typu [The influence of mesenchymal stem cells on the dynamics of regulator of endothelial proliferation expressions in the brain structures of rats with experimental alzheimer-type dementia]. *Aktualni problemy suchasnoi medytsyny: Visnyk Ukrainiskoi medychnoi stomatolohichnoi akademii – Actual Problems of the Modern Medicine: Bulletin of Ukrainian Medical Stomatological Academy*, 23 (4), 224–227. <https://doi.org/10.31718/2077-1096.23.4.224> [in Ukrainian].

14. Huk, R. A., & Hudyma A. A. (2024). Statevi osoblyvosti rozvytku oksydatyvnoho stresu v pechintsi pid vplyvom kranioskeletnoi travmy ta yoho korektsiia [Sex peculiarities of oxidative stress development in the liver under the influence of cranoskeletal trauma and its correction]. *Shpytalna khirurgiia. Zhurnal imeni L. Ya. Kovalchuka – Hospital Surgery. Journal Named by L. Ya. Kovalchuk*, (2), 48–55. <https://doi.org/10.11603/2414-4533.2024.2.14846> [in Ukrainian].

15. Vlizlo, V. V. (Ed.). (2012) *Laboratorni metody doslidzhennia u biologii, tvarynnytstvi i veterynarnii medytsyni* [Laboratory Research Methods in Biology, Animal Husbandry and Veterinary Medicine]. Lviv: Spolom [in Ukrainian].

16. Prokhorenko, O. O., & Tsymbaliuk, H. Y. (2022). Dynamika aktyvnosti protsesiv lipidnoi peroksydatsii v piznii period kranioskeletnoi travmy za umov khronichnoho hepatytu ta efektyvnist korektsii armadinom [Dynamics of the activity of lipid peroxidation processes in late period of cranoskeletal injury in case of chronic hepatitis and the effectiveness of correction with armadine]. *Medychna ta klinichna khimiia – Medical and Clinical Chemistry*, 23 (4), 15–21. <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2021.i4.12728> [in Ukrainian].

17. Dell'Anno, M. T., Wang, X., Onorati, M., Li, M., Talpo, F., Sekine, Y., Ma, S., Liu, F., Cafferty, W. B. J., Sestan, N., & Strittmatter, S. M. (2018). Human neuroepithelial stem cell regional specificity enables spinal cord repair through a relay circuit. *Nature communications*, 9 (1), 3419. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05844-8>.

18. Hawryluk, G. W., Mothe, A., Wang, J., Wang, S., Tator, C., & Fehlings, M. G. (2012). An in vivo characterization of trophic factor production following neural precursor cell or bone marrow stromal cell transplantation for spinal cord injury. *Stem cells and development*, 21 (12), 2222–2238. <https://doi.org/10.1089/scd.2011.0596>.

19. Lukyanova, Y., Nikolaeva, O., Pavlova, O., Vasyleva, I., Naglov, O., Shchegelskaya, E., & Omelchenko, O. (2020). Behavioral reactions and cognitive functions in rats with vascular model of alzheimer's type dementia at the different stages of disease before and after stem cell correction. *Inter Collegas*, 7 (3), 118–124. <https://doi.org/10.35339/ic.7.3.118-124>.

20. Zorenko, Ye. M., Pavlova, O. O., Horbach, T. V., & Martynova, S. M. (2021) Rol hipoksii ta mitokondrialnoi dysfunksii v mekhanizmach rozvytku eksperymentalnoi dementsii altsheimerivskoho typu riznoho henezu u shchuriv, otsinka mozhlyvosti korektsii danoho stanu mezenkhimalnymi stovburovymi klitynami [Role of hypoxia and mitochondrial dysfunction in the mechanism of the experimental alzheimer's type dementia induced by different ways in rats and assessment of possibilities to correct this condition by using mesenchymal stem cells]. *Bulletin of problems biology and medicine – Visnyk problem biologii i medytsyny*. (1): 66–72. <https://doi.org/10.29254/2077-4214-2021-1-159-66-72> [in Ukrainian].

21. Dasari, V. R., Veeravalli, K. K., & Dinh, D. H. (2014). Mesenchymal stem cells in the treatment of spinal cord injuries: A review. *World journal of stem cells*, 6 (2), 120–133. <https://doi.org/10.4252/wjsc.v6.i2.120>.

22. Neirinckx, V., Rogister, B., Franzen, R., & Wislet-Gendebien, S. (2014). Bone marrow stromal stem cells transplantation in mice with acute spinal cord injury. *Methods in molecular biology*, 1213, 257–264. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1453-1_21.

THE EFFECT OF CELL THERAPY ON THE MANIFESTATIONS OF OXIDATIVE STRESS IN RATS OF DIFFERENT AGES UNDER CONDITIONS OF CRANIO-SKELETAL TRAUMA

Summary

Introduction. Combined cranio-skeletal trauma (CST) is one of the most pressing problems of our time and occurs in people of all age groups. In the strategy of CST treatment in the post-shock period, the prevention of secondary brain and internal organ damage is at the forefront. Oxidative stress (OS) plays a leading role in its pathogenesis. In recent years, cell therapy has been actively studied to correct OS.

The aim of the study. To determine the effect of cell therapy on the development of OS in rats of different ages under the conditions of experimental CST.

Research Methods. The experiment was conducted on white male Wistar line rats of three age groups: immature at the age of 100–120 days, mature at the age of 6–8 months and old at the age of 19–23 months. Rats of each age group under thiopental sodium anaesthesia were modelled with CST. Rats of the control group were only put into general anaesthesia. For the purpose of correction, a suspension of cryopreserved neuroblast cells (NBC) was injected intravenously separately and in combination with injected intraperitoneally injection of mesenchymal stem cells (MSC). After 14 days of the experiment, catalase activity and the content of thiobarbituric acid reagents were determined in the liver, kidneys and lungs of different aged rats, and the ratio of these parameters was used to calculate the antioxidant-prooxidant index (API), the degree of decrease of which indicates the severity of OS.

Results and Discussion. Under the influence of CST after 14 days of posttraumatic period in the liver, kidneys and lungs of rats, regardless of age, the value of API was statistically significantly lower compared to the control. After NBC monotherapy compared to rats without correction, an increase in API in internal organs was observed in experimental rats, but the result was statistically significant only in the liver of mature rats, and in the kidney and lungs of mature and immature rats. The use of a combination of NBC and MSC compared to rats without correction was accompanied by an increase in the value of API in all studied organs of immature and mature rats. Compared with the result of NBC monotherapy, the result was statistically significantly higher only in mature rats.

Conclusions. There are age-related peculiarities of cell therapy effect on the development of OS in the internal organs of rats under conditions of CST. The efficacy of NBC monotherapy and combined NBC and MSC therapy is significantly higher in mature rats compared to rats of other age groups.

KEY WORDS: trauma; liver; kidney; lungs; oxidative stress; cell therapy; age.