

МОДУЛЯЦІЯ ЦИТОКІНОВОГО КАСКАДУ ПРИ ГОСТРОМУ ПОРУШЕННІ МОЗКОВОГО КРОВООБІГУ ЗА УМОВ КОМБІНОВАНОГО КЛІТИННО-АНТИОКСИДАНТНОГО ЛІКУВАННЯ

¹Хомут Ю.Ю. <https://orcid.org/0009-0006-6338-4488>

¹Савицький І.В. <https://orcid.org/0000-0002-5841-9993>

²Остапець М.О. <https://orcid.org/0000-0002-6900-5833>

¹ПЗВО «Міжнародна академія екології та медицини», Київ, Україна

²ПВНЗ «Київський медичний університет», Київ, Україна

prof_s.i.v@ukr.net

Актуальність. Гострі порушення мозкового кровообігу (ГПМК) залишаються однією з провідних причин смертності та стійкої інвалідизації. Сучасна терапія не забезпечує достатнього контролю нейрозапалення, що обумовлює необхідність пошуку ефективних методів корекції. Перспективним напрямом є застосування мезенхімальних стовбурових клітин (МСК) у комбінації з антиоксидантами, зокрема ресвератролом, який потенціює нейропротекторні властивості МСК.

Ціль: дослідити динаміку змін концентрацій цитокінів у гострий та ранній відновний періоди експериментального ГПМК за умов застосування МСК та їх комбінації з ресвератролом.

Матеріали та методи. Модель фокальної ішемії головного мозку відтворювали за методикою E.Z. Longa et al. (1989). У сироватці крові визначали рівні про- (ІЛ-1 β , ІЛ-6, ФНП- α) та протизапальних (ІЛ-4, ІЛ-10, ТФР- β 1) інтерлейкінів, а також β -ендорфіну методом імуноферментного аналізу. Тварин розподілено на три групи: без корекції, МСК, комбінована МСК + ресвератрол. Корекцію проводили однократно на добу.

Результати. Монотерапія МСК зумовлювала помірне зниження про- та частково протизапальних цитокінів у гострий і ранній відновний періоди. Застосування комбінованої терапії призводило до статистично значущого та більш вираженого зниження рівнів ІЛ-1 β , ІЛ-6, ФНП- α , ТФР- β 1 і β -ендорфіну, що свідчило про погашення гіперактивації цитокінового каскаду та нормалізацію імунного мікрооточення.

Висновки. Комбінована корекція МСК і ресвератролом забезпечує суттєво ефективніше зниження нейрозапальної відповіді, ніж монокорекція. Отримані дані підтвердили потенціал поєднаного клітинно-антиоксидантного підходу для обмеження вторинного ішемічного ушкодження та створення сприятливих умов для нейрорепарації.

Ключові слова: гострі порушення мозкового кровообігу, цитокіни, патогенетична корекція, мезенхімальні стовбурові клітини, антиоксиданти.

Актуальність. Гострі порушення мозкового кровообігу (ГПМК) (зокрема, ішемічний інсульт – II) є однією з провідних причин інвалідизації та смертності у світі [1]. Одним із ключових компонентів ГПМК є запальна відповідь, у формуванні якої важливу роль відіграють цитокіни – низькомолекулярні білкові медіатори міжклітинної комунікації, що регулюють активацію, проліферацію та апоптоз клітин нервової тканини, ендотелію та імунної системи [1, 2]. У відповідь на ішемічне ушкодження мозкової тканини відбувається активація мікроглії, астроцитів та інфільтрація периферичних імунних клітин, що супроводжується вивільненням прозапальних цитокінів (інтерлейкінів – ІЛ) (ІЛ-1 β , ІЛ-6, TNF- α , IFN- γ), які підсилюють каскад нейрозапалення, ушкодження гематоенцефалічного бар'єра та апоптоз нейронів. Водночас протизапальні цитокіни (ІЛ-4, ІЛ-10, TGF- β) сприяють обмеженню запальної реакції, репарації тканин і нейрорегенерації [3]. Вивчення динаміки зміни рівнів цитокінів у різні фази (на 1-у та 14-у добу) ГПМК має важливе діагностичне та прогностичне значення. Крім цього, незважаючи на значний прогрес у вивченні механізмів розвитку даного стану, ефективних засобів, здатних комплексно впливати на ключові патогенетичні ланки, наразі бракує. У цьому контексті перспективним напрямом є застосування мезенхімальних стовбурових клітин, які володіють вираженими нейротрофічними, ангіпротекторними та імуномодулювальними властивостями, а також антиоксидантів природного походження, зокрема ресвератролу, що здатен нейтралізувати вільнорадикальні процеси та стабілізувати судинний ендотелій [4].

Ціль: вивчення динаміки зміни рівнів цитокінів у різні терміни спостереження (гострий та ранній відновний періоди) за умов застосування комбінованої корекції мезенхімальними клітинами та ресвератролом

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Експериментальне ГПМК відтворювали за

допомогою моделі ендovasкулярної оклюзії середньої мозкової артерії (фокальна ішемія) за E.Z. Longa et al. [5]. Для оцінки наявності та активності системної імунозапальної реакції у сироватці крові методом імуноферментного аналізу з використання тест-систем визначали рівень про- та протизапальних цитокінів – ІЛ-4, ІЛ-6, ІЛ-1 β , ІЛ-10, ТФР- β , ФНП- α , β -ендорфіну (Labsystems iEMS, Фінляндія). Запропонована нами корекція включала введення: МСК, які володіють паракринною дією, проявляють протизапальний ефект та стимулюють ангіогенез та нейрогенез; ресвератролу (дозою 50 мг/кг внутрішньоочеревинно) – теж підвищує життєздатність МСК і потенціює їх нейропротекторну дію [4]. З цієї метою на етапі вивчення запропонованої корекції всіх експериментальних тварин було розподілено на 2 групи: 1 група (n=12) – тварини, які отримували монокорекцію МСК однократно на добу; 2 група (n=12) – тварини, яким проводили комбіновану корекцію МСК та ресвератролу однократно на добу.

МСК були отримані в біотехнологічній лабораторії EmProCell (Mumbai, India) відповідно до міжнародних норм і вимог GMP. Після розморожування МСК нарощували за загальноприйнятою методикою.

Усі маніпуляції з тваринами проводили відповідно до вимог GLP, рекомендацій Державного експертного центру МОЗ України, Загальних етичних принципів експериментів на тваринах (Україна, 2001 р.), Закону України від 21 лютого 2006 р. № 3447-IV зі змінами “Про захист тварин від жорстокого поводження”, ухвали І Національного конгресу з біоетики (Київ, 2007 р.), Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей [6]. Акт про відповідність проведених досліджень нормам біоетики Комісії з етичних питань та біоетики Українського науково-дослідного інституту медицини транспорту (Одеса, Україна) № 16/15 від 25.11.2025 р.

Статистичну обробку одержаних результатів проводили за допомогою програми «Statistica 10.0». Вірогідність відмінностей між показниками контрольної та дослідних груп

визначали за критеріями Стьюдента та Фішера. Рівень достовірності приймали при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Дослідження змін про- та протизапальних ІЛ у гострий період ГПМК при використанні МСК (група 1) дозволило встановити наступні зміни (табл. 1): концентрація ІЛ-1 β знижувалася в 1,2 рази ($p < 0,05$), ІЛ-6 – також в 1,2 рази ($p < 0,05$), ФНП- α – в 1,3 рази ($p < 0,05$), ТФР-1 β – в 1,3 рази ($p < 0,05$) порівняно з нелікованими тваринами. При застосуванні комбінованої корекції рівень ІЛ-1 β достовірно знижувався в 1,6 разів ($p < 0,05$), ІЛ-6 – 1,7 разів ($p < 0,05$), ФНП- α – в 1,4 рази ($p < 0,05$), β -ендорфіну – в 1,3 рази ($p < 0,05$), ТФР-1 β – в 1,7 разів ($p < 0,05$) порівняно з щурами, які не отримували корекцію. Також спостерігалось зниження рівня ІЛ-4 в 1,8 разів ($p < 0,05$) відповідно.

У ранній відновний період ГПМК застосування лише МСК (експериментальна група 1) призводило до достовірно зниження рівня ІЛ-1 β в 1,2 рази ($p < 0,05$), ІЛ-6 – в 2,1 рази ($p < 0,05$), ФНП- α – в 1,7 разів ($p < 0,05$), β -ендорфіну – в 1,6 разів ($p < 0,05$), ТФР-1 β – в 1,2 рази ($p < 0,05$) порівняно з нелікованою групою тварин (табл. 2). Вірогідних змін концентрації ІЛ-4 та ІЛ-10 не виявлено.

У тварин, які отримували комбіновану корекцію, концентрація ІЛ-1 β достовірно знижувалася в 1,6 разів ($p < 0,05$) порівняно з нелікованою групою та в 1,4 рази ($p < 0,05$) відносно щурів, яким проводили монокорекцію; рівень ІЛ-6 також достовірно знижувався в 2,8 разів ($p < 0,05$) та в 1,4 рази ($p < 0,05$); β -ендорфіну – в 2,4 рази ($p < 0,05$) та в 1,5 разів ($p < 0,05$) відповідно.

Рівень ФНП- α достовірно знижувався в 2,1 рази ($p < 0,05$) порівняно з групою тварин без корекції; ТФР-1 β – в 1,4 рази ($p < 0,05$) відповідно.

Аналіз змін цитокінового профілю як у гострий, так і ранній відновний період ГПМК показав, що застосування МСК та їх комбінації з антиоксидантом ресвератролом супроводжується достовірним зниженням

як про-, так і протизапальних інтерлейкінів, що вказує на нормалізацію нейроімунного балансу та зменшення запальної реакції у мозковій тканині.

У групі тварин, які отримували лише монокорекцію МСК, встановлено помірне зниження рівнів ІЛ-1 β , ІЛ-6, ФНП- α та ТФР- β 1. Це можна розглядати як властивість імуномодуючих властивостей стовбурових клітин, які, згідно з літературними даними, здатні зменшувати секрецію прозапальних цитокінів і стимулювати вивільнення протизапальних факторів. Отже, монокорекція МСК сприяє послабленню системної та локальної нейрозапальної відповіді, яка відіграє ключову роль у формуванні вторинного ішемічного ушкодження.

При комбінованому застосуванні МСК і ресвератролу виявлено більш виражене зниження концентрацій не лише прозапальних медіаторів (ІЛ-1 β , ІЛ-6, ФНП- α , ТФР- β 1), але й протизапальних (ІЛ-4, β -ендорфін). Така, на перший погляд, парадоксальна тенденція – одночасне зниження як про-, так і протизапальних цитокінів – має логічне пояснення з позицій фізіологічної імуnoreгуляції у гострому періоді ішемії [7, 8]. Ресвератрол, володіючи потужними антиоксидантними та протизапальними властивостями, здатен гальмувати активацію транскрипційного фактора NF- κ B, що є центральним регулятором синтезу більшості цитокінів обох напрямів. У результаті цього відбувається загальне «згасання» цитокінового каскаду – тобто не лише пригнічення надлишкової продукції прозапальних медіаторів, а й нормалізація рівнів протизапальних, які на піку запальної відповіді часто підвищуються компенсаторно [9]. Комбінована корекція не викликає імунодепресії, а переводить запальну реакцію у контрольовану, збалансовану фазу, що є сприятливим для відновлення тканини мозку [4].

Зниження рівня β -ендорфіну при комбінованій терапії також може мати подвійне значення: з одного боку, воно відображає зменшення стресорної та

Таблиця 1

Вплив комбінованої терапії на цитокінний пул щурів зі змодельованою церебральною ішемією в гострий період (M±m)

Показник	Тварини без корекції (n=12)	Групи лікованих тварин	
		1 група (n=12)	2 група (n=12)
ІЛ-1β, пг/мл	465,24±126,6	385,6±95,8*	293,1±85,3*/**
ІЛ-6, пг/мл	7,05±1,95	5,86±1,25*	4,25±1,20*
ФНП-α, пг/мл	17,5±5,3	14,0±4,2*	12,8±3,6*
β-ендорфін, пг/мл	43,4±6,2	37,9±5,1*	32,6±4,0*
ТФР-1β, пг/мл	54,2±4,9	40,3±4,2*	32,6±3,8*/**
ІЛ-4, пг/мл	1,9±0,31	1,4±0,02*	1,05±0,02*
ІЛ-10, пг/мл	1,8±0,8	1,6±0,5	1,5±0,3

Примітки: n – кількість експериментальних тварин в кожній групі;

* – p<0,05 порівняно з нелікованою групою тварин;

** – p<0,05 відносно тварин, які отримували монотерапію МСК

Таблиця 2

Вплив комбінованої терапії на цитокінний пул щурів зі змодельованою церебральною ішемією в гострий період (M±m)

Показник	Тварини без корекції (n=12)	Групи лікованих тварин	
		1 група (n=12)	2 група (n=12)
ІЛ-1β, пг/мл	405,6±123,45	355,4±87,6*	254,2±81,8*/**
ІЛ-6, пг/мл	11,1±2,85	5,35±1,31*	3,95±1,15*/**
ФНП-α, пг/мл	21,6±8,2	12,4±3,6*	10,4±2,6*
β-ендорфін, пг/мл	66,3±5,1	40,8±4,3*	27,4±3,6*/**
ТФР-1β, пг/мл	43,8±3,7	36,9±3,2*	31,2±2,7*
ІЛ-4, пг/мл	1,7±0,25	1,6±0,18	1,9±0,21
ІЛ-10, пг/мл	1,6±0,6	1,8±0,23	2,0±0,31

Примітки: n – кількість експериментальних тварин в кожній групі;

* – p<0,05 порівняно з нелікованою групою тварин;

** – p<0,05 відносно тварин, які отримували монотерапію МСК

ноцицептивної активації (оскільки β -ендорфін є маркером ендогенної реакції на біль і стрес), з іншого – вказує на м'яке гальмування гіпоталамо-гіпофізарно-адреналової відповіді, що є проявом стабілізації нейроендокринного статусу [8, 9, 10].

Таким чином, отримані результати дозволяють зробити висновок, що комбінована дія МСК і ресвератролу в різні періоди ішемічного ураження мозку сприяє нормалізації цитокінового гомеостазу, що проявляється загальним зниженням запального фону, зменшенням системної і нейрозапальної реакції, стабілізацією імунного мікрооточення мозкової тканини та створенням сприятливих умов для подальшої нейрорепарації.

ВИСНОВКИ

1. Активация запальної відповіді при гострому порушенні мозкового кровообігу проявляється різко вираженим підвищенням рівнів прозапальних цитокінів ІЛ-1 β , ІЛ-6 та TNF- α . У першу добу спостерігається максимальне зростання ІЛ-1 β та ІЛ-6, що свідчить про їх роль як ранніх медіаторів запальної реакції. Високі концентрації TNF- α у гострий та підгострий періоди ішемії корелюють з інтенсивністю нейронального ушкодження, оксидативним стресом та активації сигнальних шляхів апоптозу.
2. Поступове підвищення протизапальних цитокінів TGF- β 1, ІЛ-4 та β -ендорфіну у динаміці експерименту вказує на активацію механізмів нейропротекції та обмеження надмірної запальної реакції у відновному періоді. β -ендорфін може відігравати роль у регуляції балансу між про- та протизапальними процесами, знижуючи глутаматну ексайтотоксичність та рівень апоптозу нейронів.
3. Застосування мезенхімальних стовбурових клітин зумовлює зниження рівнів основних прозапальних цитокінів, що свідчить про їх імуномодулювальну дію. Комбінована терапія мезенхімальних стовбурових

клітин із ресвератролом забезпечує більш глибоке пригнічення запальної відповіді, проявляючи синергичний ефект за рахунок антиоксидантної та протизапальної активності ресвератролу. Виявлене загальне зниження як про-, так і протизапальних цитокінів свідчить про нормалізацію цитокінового гомеостазу й зменшення нейрозапальної реакції у гострий період ішемії.

Відмова від відповідальності. Автори заявляють, що висловлені у поданій статті думки є їх власними, а не офіційними позиціями установи.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

REFERENCES

1. Saini V, Guada L, Yavagal DR. Global Epidemiology of Stroke and Access to Acute Ischemic Stroke Interventions. *Neurology*. 2021 Nov 16;97(20 Suppl 2):S6-S16. doi: 10.1212/WNL.00000000000012781.
2. Muratova T, Khramtsov D, Stoyanov A, Vorokhta Y. Clinical epidemiology of ischemic stroke: global trends and regional differences. *Georgian Med News*. 2020 Feb;(299):83-86. PMID: 32242851.
3. Maida CD, Norrito RL, Daidone M, Tuttolomondo A, Pinto A. Neuroinflammatory Mechanisms in Ischemic Stroke: Focus on Cardioembolic Stroke, Background, and Therapeutic Approaches. *Int J Mol Sci*. 2020 Sep 4;21(18):6454. doi: 10.3390/ijms21186454.
4. Shannon GS, Rinendyaputri R, Sunarno S, Malik A. Effects of stem cell therapy on preclinical stroke. *Open Vet J*. 2025 Feb;15(2):601-618. doi: 10.5455/OVJ.2025.v15.i2.9.
5. Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, Cummins R. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke*. 1989 Jan;20(1):84-91. doi: 10.1161/01.str.20.1.84.
6. Lin Y, Yang F, Shang B, Speich JE, Wan YJY, Hashida H, Braun T, Sadoughi A, Puehler T, Lue TF, Zhang K. Reporting quality of animal research in journals that published the ARRIVE

- 1.0 or ARRIVE 2.0 guidelines: a cross-sectional analysis of 943 studies. *Cardiovasc Diagn Ther.* 2024;14(6):1070–1082. doi:10.21037/cdt-24-413.
7. Yang QQ, Zhou JW. Neuroinflammation in the central nervous system: Symphony of glial cells. *Glia.* 2019 Jun;67(6):1017-1035. doi: 10.1002/glia.23571.
8. Luo Y, Dong W, Yuan L, Zhu YA, Zhang DD, Ni H, Zhu W. The Role of Thrombo-inflammation in Ischemic Stroke: Focus on the Manipulation and Clinical Application. *Mol Neurobiol.* 2025 Feb;62(2):2362-2375. doi: 10.1007/s12035-024-04397-w.
9. Sharma D, Spring KJ, Bhaskar SMM. Neutrophil-lymphocyte ratio in acute ischemic stroke: Immunopathology, management, and prognosis. *Acta Neurol Scand.* 2021 Nov;144(5):486-499. doi: 10.1111/ane.13493.
10. Przykaza Ł. Understanding the Connection Between Common Stroke Comorbidities, Their Associated Inflammation, and the Course of the Cerebral Ischemia/Reperfusion Cascade. *Front Immunol.* 2021 Nov 15;12:782569. doi: 10.3389/fimmu.2021.782569.