

УДК 577.17.08:618.38:616.833-089.843:611.018.834
doi: 10.22494/cot.v8i1.106

Влияние мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток пуповины человека на показатели поведения и оксидативного стресса в головном мозге мышей разного возраста с токсической купризоновой моделью демиелинизации



Лабунец И. Ф.¹, Утко Н. А.¹, Топорова Е. К.^{1,2}, Пантелеймонова Т. Н.¹, Родниченко А. Е.¹, Бутенко Г. М.¹

¹ГУ «Институт генетической и регенеративной медицины Национальной академии медицинских наук Украины», Киев, Украина

²Институт молекулярной биологии и генетики Национальной академии наук Украины, Киев, Украина

e-mail: irina_labunets@ukr.net

РЕЗЮМЕ

Трансплантация мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток пуповины (ММСК-П) человека при рассеянном склерозе является перспективным направлением в его лечении. Особенности эффекта клеток в организмах разного возраста, как и пути его реализации, остаются недостаточно изученными.

ЦЕЛЬ. Исследовать влияние трансплантации ММСК-П на поведение, факторы оксидативного стресса и антиоксидантной защиты головного мозга мышей разного возраста с экспериментальной моделью рассеянного склероза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Мышам-самцам линии 129/Sv в возрасте 6-7 мес. и 14-16 мес. давали с пищей нейротоксин купризон в течение 3 недель. С 10 дня купризоновой диеты вводили внутривенно однократно ММСК-П в дозе 500 тыс. клеток. Оценивали показатели поведения в тесте «открытое поле» и «ротарод-тесте»; в головном мозге исследовали содержание малонового диальдегида (МДА) и активность антиоксидантных ферментов.

РЕЗУЛЬТАТЫ. У мышей обеих возрастных групп с купризоновой диетой уменьшается двигательная, эмоциональная и исследовательская активность; в головном мозге повышается содержание МДА и снижается активность антиоксидантных ферментов. Трансплантация ММСК-П приводит к положительным изменениям в поведении мышей с купризоновой диетой: у взрослых наблюдается улучшение двигательной и эмоциональной активности, у стареющих – исследовательской активности и мышечного тонуса. После введения ММСК-П у взрослых опытных мышей снижается содержание МДА в головном мозге.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Терапевтический эффект трансплантированных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток пуповины на показатели поведения и содержание малонового диальдегида в головном мозге мышей с купризоновой моделью демиелинизации в значительной степени зависит от их возраста и более выражен у взрослых животных.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки пуповины; демиелинизация; купризон; поведенческие реакции; оксидативный стресс

Рассеянный склероз – одно из наиболее распространенных демиелинизирующих заболеваний центральной нервной системы (ЦНС) [1]. У больных с этой патологией наблюдаются двигательные, эмоциональные, вегетативные и когнитивные нарушения, обусловленные развитием демиелинизации и нейродегенерации в структурах ЦНС. В патогенезе рассеянного склероза большое значение имеет окислительный стресс и нейровоспаление в головном мозге. В настоящее время это заболевание все чаще встречается у пациентов старше 45 лет. Существующие подходы к фармакотерапии рассеянного склероза не всегда эффективны, а длительное применение медикаментозных препаратов сопровождается значительными побочными эффектами.

Перспективным направлением в лечении рассеянного склероза может быть использование мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) разного тканевого происхождения [2, 3]. Последние дифференцируются в мультилинейном направлении, продуцируют трофические и ростовые факторы, влияющие на нейрогенез, синаптогенез и выживание нейронов и, кроме того, обладают противовоспалительными, антиоксидантными и иммуномодулирующими свойствами [4-7].

Широко изучаются биологические свойства ММСК пуповины (ММСК-П) человека и возможность их применения в неврологической практике [8, 9]. Эти клетки характеризуются незначительной иммуногенностью, что позволяет использовать их для аллогенной трансплантации. ММСК-П достаточно хорошо пролиферируют *in vitro*, способны к трансдифференцировке в клетки эктодермального происхождения и к синтезу IL-10 и TGF- β [10-12]. Их иммунодепрессивный эффект выше, чем у аналогичных клеток из жировой ткани и костного мозга [13].

На одной из моделей рассеянного склероза – экспериментальный аллергический энцефаломиелит (ЭАЭ) – показано положительное влияние ММСК-П на нарушенную структуру миелиновых волокон спинного мозга, двигательную и эмоциональную активность взрослых животных [14, 15]. Вместе с тем, есть данные о значении возраста не только донора, но и реципиента для проявления нейропротекторных свойств трансплантированных ММСК из жировой ткани [16, 17]. Однако, возрастные особенности влияния ММСК-П, а также возможные пути его реализации при демиелинизирующей патологии ЦНС остаются недостаточно изученными.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ – исследовать влияние трансплантации ММСК-П на функциональное состояние ЦНС, факторы окислительного стресса и антиоксидантной защиты головного мозга мышшей разного возраста с экспериментальной моделью рассеянного склероза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Животные. Исследования проводили на мышах-самцах линии 129/Sv (генотип H-2^b) в возрасте 6-7 мес. (взрослые) и 14-16 мес. (старейшие) из питомника ГУ «Институт генетической и регенеративной медицины НАМН Украины». Животных содержали в стандартных условиях вивария при режиме освещения 12:12 со свободным доступом к пище и воде *ad libitum*. Для получения биологического материала мышшей декапитировали под эфирным наркозом в утренние часы суток. Все экспериментальные исследования проводили согласно закону Украины «О защите животных от жестокого поведения» и «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, которые используются с экспериментальной и другой научной целью» (Страсбург, 1986).

Экспериментальные модели. В работе использовали токсическую купризонную модель демиелинизации [18]. Мыши получали нейротоксин купризон [бис(циклогексанон)-оксалдигидразон] (*Sigma-Aldrich*, Германия) с едой (из расчета 0,2 % массы чистого вещества от суточного корма) ежедневно, в течение трех недель.

Выделение и культивирование ММСК-П. ММСК-П выделяли методом эксплантов из пуповины здоровой роженицы, как описано ранее [14]. Женщина в возрасте 26 лет, родившая мальчика, подписала информационное письмо о согласии предоставить материал для проведения научных исследований. Для введения опытным животным использовали ММСК-П 2-го пассажа. Для оценки состояния культур использовали инвертированный микроскоп DM IL (*Leica*, Германия).

Культура клеток, полученных из ткани пуповины, после 2-го пассажа была морфологически гомогенна и содержала в основном большие митотически активные веретенообразные клетки. Последние экспрессировали на поверхности маркерные антигены CD105, CD73 и CD90, но при этом не экспрессировали CD45 и CD34, а также дифференцировались в остеобласты, адипоциты и хондроциты *in vitro*, что соответствует минимальным критериям ММСК. Иммунофенотипирование клеток проводили на сортере BD FACSAria (*Becton Dickinson*, США).

ММСК-П 2-го пассажа вводили однократно в хвостовую вену мышшей на 10 сутки купризонной диеты в дозе 500 тыс. клеток в 50 мкл 0,9 % раствора хлорида натрия. Контроль – одна инъекция 0,9 % раствора хлорида натрия в хвостовую вену. Выбор указанного срока введения мышам ММСК-П объясняется развитием в ЦНС демиелинизации и нейродегенерации уже с 8-10 дня приема купризона, а также возможностью проявления терапевтического эффекта ММСК человека (костный мозг) после трансплантации на фоне приема купризона [18-20].

Экспериментальные группы. Взрослых и стареющих мышшей разделили на группы: интактные (обычный рацион вивария); животные, которые получали купризон и одну инъекцию ММСК-П; животные, получавшие купризон и инъекцию 0,9 % раствора хлорида натрия. Исследования проводили через 21 день от начала приема купризона. В каждой экспериментальной группе взрослых мышшей – по 10 особей, стареющих – 9 особей.

Функциональное состояние ЦНС оценивали по показателям поведения в тесте «открытое поле» и «ротарод-тесте» [21]. В тесте «открытое поле» исследовали горизонтальную двигательную (количество пересеченных квадратов), ориентировочно-исследовательскую (количество вертикальных стоек и заглядываний в «норки» – норковый рефлекс) и эмоциональную (число фекальных болюсов и умываний) активность мышшей. Длительность тестирования каждого животного – 3 мин. Ротарод-тест дает возможность оценить мышечный тонус, координацию, чувство равновесия экспериментальных животных. Скорость барабана в установке изменяли последовательно с 10 до 20 оборотов в минуту. Данные представляли в виде суммарного времени удержания мышшей на валу при 10 и 20 об/мин.

Факторы окислительного стресса и антиоксидантной защиты головного мозга. Содержание малонового диальдегида (МДА) в головном мозге мышшей определяли по интенсивности цвета триметинового комплекса, образующегося между тиобарбитуровой кислотой и МДА [22]. Активность антиоксидантных ферментов оценивали в супернатанте гомогенатов головного мозга спектрофотометрическим методом (спектрофотометр μ Quant, *Bio-Tek*, США), как нами описано ранее [23]. Активность супероксиддисмутазы (СОД) оценивали в условных единицах по способности угнетать реакцию аутоокисления адреналина в адренохром из расчета на 1 мг белка за 1 мин; активность каталазы – в микромолях утилизированной H₂O₂ на 1 мг белка за 1 мин; активность глутатионпероксидазы (ГП) – в наномолях окисленного NADPH на 1 мг белка за 1 мин. Содержание белка в головном мозге измеряли по методу Лоури. Все реактивы – *Riedel-deHaen, Fluka*, Германия.

Статистический анализ результатов проводили с помощью t-критерия Стьюдента. Различия между показателями считали статистически достоверным при значении $p < 0,05$. Для статистического анализа результатов использовали программу Statistica 7.0 (*StatSoft Inc.*, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние трансплантации ММСК-П на поведение у мышей разного возраста с купризоновой диетой. Установлено, что у взрослых мышей после приема купризона уменьшается число пересеченных квадратов, стоек, болюсов, заглядываний в норки, умываний и время удержания на валу (табл. 1). Аналогичная направленность в изменении исследованных показателей (за исключением числа умываний) наблюдается и у стареющих мышей с купризоновой диетой.

При этом у взрослых мышей с купризоновой диетой по сравнению с интактными животными число квадратов и болюсов снижается в 2,9 и 6,7 раза, а у стареющих – в 2,3 и 5,7 раза, соответственно, в результате чего у опытных мышей возрастное различие между значениями показателей нивелируется.

Введение ММСК-П взрослым мышам с купризоновой диетой приводит к значительному повышению числа пересеченных квадратов и умываний по сравнению с группой без клеток; при этом число умываний не отличается от интактных животных (табл. 1). После инъекции ММСК-П стареющим опытным мышам число стоек существенно увеличивается, однако остается меньше, чем в интактной группе. Время удержания на валу у опытных стареющих мышей после введения клеток практически не отличается от интактных животных.

Итак, у взрослых и стареющих мышей с купризоновой диетой уменьшается двигательная, эмоциональная, исследовательская активность, а также мышечный тонус. Изменения исследованных показателей значительнее у взрослых мышей. Трансплантация ММСК-П

мышам обеих возрастных групп положительно влияет на некоторые показатели поведения, а именно у взрослых животных – на горизонтальную двигательную и эмоциональную активность, у стареющих – на ориентировочно-исследовательскую активность и мышечный тонус.

Факторы оксидативного стресса и антиоксидантной защиты головного мозга мышей разного возраста, получавших купризон и ММСК-П. Установлено, что после приема купризона в головном мозге взрослых мышей повышается содержание МДА и снижается активность ГП по сравнению с интактными животными (табл. 2). В головном мозге опытных стареющих мышей наблюдается повышение содержания МДА и снижение активности СОД, каталазы и ГП (табл. 2).

После введения ММСК-П содержание в головном мозге МДА уменьшается у взрослых мышей с купризоновой диетой до значений интактной группы, тогда как у стареющих мышей остается без изменений (табл. 2). Введение клеток не влияет на активность антиоксидантных ферментов в головном мозге мышей обеих возрастных групп.

Таким образом, после трансплантации ММСК-П мышам разного возраста с купризоновой диетой наблюдаются положительные изменения поведения и содержания в головном мозге одного из факторов оксидативного стресса (МДА). Подобный эффект трансплантированных клеток зависит от возраста опытных мышей и более выражен у взрослых особей.

Показатели поведения у мышей разного возраста с купризоновой диетой после трансплантации ММСК-П. В нашем эксперименте исследования проводили на токсической купризоновой модели демиелинизации. Показано, что нейротоксин купризон повреждает зрелые олигодендроциты в разных отделах ЦНС, в результате чего развивается демиелинизация [18]. Патологические изменения в ЦНС животных с купризоновой моделью демиелинизации напоминают таковые при рассеянном склерозе у человека [24]. Исследованиями других авторов и нашими работами показано, что не только

ПОКАЗАТЕЛЬ	ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ГРУППА		
	ИНТАКТНАЯ	КУПРИЗОН-ХЛОРИД НАТРИЯ	КУПРИЗОН-ММСК-П
Взрослые мыши			
Число квадратов	67,7 ± 4,0	23,6 ± 3,6*	35,8 ± 3,5*#
Число стоек	1,6 ± 0,4	0,6 ± 0,2*	0,5 ± 0,1*
Число болюсов	2,0 ± 0,1	0,3 ± 0,1*	0,1 ± 0,03*
Число заглядываний в норки	2,1 ± 0,3	0,4 ± 0,1*	0,4 ± 0,1*
Число умываний	0,3 ± 0,1	0,1 ± 0,01*	0,3 ± 0,04#
Ротарод, с	120,1 ± 14,2	76,7 ± 15,2*	63,6 ± 20,6*
Стареющие мыши			
Число квадратов	50,9 ± 6,1 ^{&}	22,5 ± 5,1*	27,7 ± 6,8*
Число стоек	1,4 ± 0,3	0,2 ± 0,04*	0,7 ± 0,1*#
Число болюсов	1,7 ± 0,1 ^{&}	0,3 ± 0,1*	0,1 ± 0,04*
Число заглядываний в норки	2,7 ± 0,4	0,8 ± 0,2*	0,5 ± 0,1*
Число умываний	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1 ^{&}	0,4 ± 0,1
Ротарод, с	86,0 ± 8,5 ^{&}	65,2 ± 5,7*	90,6 ± 19,6

Таблица 1. Показатели поведения у мышей экспериментальных групп разного возраста, M ± m.

Примечания: * – $p < 0,05$ по сравнению с интактной группой; # – $p < 0,05$ по сравнению с группой купризона; & – $p < 0,05$ по сравнению со взрослыми мышами

ПОКАЗАТЕЛЬ	ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ГРУППЫ		
	ИНТАКТНАЯ	КУПРИЗОН-ХЛОРИД НАТРИЯ	КУПРИЗОН-ММСК-П
Взрослые мыши			
Малоновый диальдегид (нмоль/мг)	3,5 ± 0,5	6,2 ± 0,8*	3,6 ± 0,2 [#]
Супероксиддистмутаза (ед/мг·мин)	13,8 ± 0,9	14,4 ± 0,8	14,8 ± 0,6
Каталаза (мкмоль/мг·мин)	0,8 ± 0,1	0,8 ± 0,1*	0,9 ± 0,2
Глюта тионпероксидаза (нмоль/мг·мин)	6,9 ± 0,5	5,3 ± 0,3*	4,6 ± 0,3*
Стареющие мыши			
Малоновый диальдегид (нмоль/мг)	4,0 ± 0,2	4,8 ± 0,2*	4,9 ± 0,3* ^{&}
Супероксиддистмутаза (ед/мг·мин)	15,2 ± 0,3	11,9 ± 1,3*	13,1 ± 0,9*
Каталаза (мкмоль/мг·мин)	2,2 ± 0,3 ^{&}	1,1 ± 0,1*	1,4 ± 0,2*
Глюта тионпероксидаза (нмоль/мг·мин)	5,8 ± 0,2 ^{&}	4,6 ± 0,3*	4,3 ± 0,6*

Таблица 2. Показатели оксидативного стресса и антиоксидантной защиты головного мозга мышей экспериментальных групп разного возраста, M ± m

Примечания: * – $p < 0,05$ по сравнению с интактной группой; # – $p < 0,05$ по сравнению с группой купризона; & – $p < 0,05$ по сравнению со взрослыми мышами.

у взрослых, но и у стареющих мышей под влиянием купризонна развивается демиелинизация и нейродегенерация в таких структурах ЦНС, как кора головного мозга, мозжечок, мозолистое тело, гиппокамп, поясничный отдел спинного мозга [18, 25]. При этом структурные нарушения ЦНС сочетаются с функциональными (изменения двигательной, исследовательской и эмоциональной активности) и более выражены у взрослых опытных мышей [25]. В настоящей работе нами также выявлены подобные возрастные особенности изменений поведения у мышей с купризоновой диетой. Полученные результаты дают основание для предположения, что и в данном исследовании структурные нарушения ЦНС у взрослых и стареющих опытных мышей имеют определенные различия, которые могут отразиться на реакции нервных клеток на действие различных биологически активных факторов.

Мы вводили ММСК-П взрослым и стареющим мышам через 10 дней от начала приема купризонна. Нами и другими авторами установлено, что уже в эти сроки в головном мозге мышей в возрасте 3-6 мес. наблюдается демиелинизация, апоптоз олигодендроцитов, изменение структуры нейронов и поведения, которые усиливаются через три недели приема купризонна [18, 19]. Кроме того, показано, что введение биологически активных веществ в период приема купризонна позволяет изучать их влияние на процессы демиелинизации, тогда как после завершения приема нейротоксина – на процесс спонтанной ремиелинизации [18]. По нашим данным, у взрослых и стареющих мышей с купризоновой диетой и введением ММСК-П некоторые показатели поведения улучшаются. Так, у взрослых мышей – это показатели двигательной и эмоциональной активности, у стареющих – ориентировочно-исследовательской активности и мышечного тонуса. Дальнейшие морфологические исследования ЦНС у таких мышей позволят отчасти объяснить полученные нами некоторые возрастные различия изменений показателей поведения.

Показатели оксидативного стресса и антиоксидантной защиты головного мозга мышей разного возраста, получавших купризон и ММСК-П. Оксидативный стресс в головном мозге мышей с купризоновой диетой играет важную роль в повреждении миелина и нейронов [18, 25]. Одним из его факторов является МДА, который образуется в результате пероксидации полиненасыщенных жирных кислот и способен вступать в реакцию с нуклеиновыми кислотами, фосфолипидами и аминокислотами. Нами установлено повышение содержания МДА в головном мозге взрослых и стареющих мышей, получавших купризон. Кроме того, в головном мозге опытных мышей обеих возрастных групп (особенно у стареющих) снижается активность антиоксидантных ферментов, что свидетельствует о нарушении баланса между факторами оксидативного стресса и антиоксидантной защиты. В то же время, после трансплантации ММСК-П содержание МДА существенно уменьшается в головном мозге взрослых мышей с купризоновой диетой. Наши результаты согласуются с данными других авторов, установившими, что после введения костномозговых ММСК в головном мозге животных с патологией ЦНС снижается образование таких факторов оксидативного стресса как свободные радикалы, супероксидный анион [6].

Механизмы антиоксидантного эффекта ММСК-П активно изучаются. В частности, показано повышение содержания глутатиона после трансплантации ММСК-П, который играет важную роль в детоксикации продуктов окислительного стресса [6]. Мы не наблюдали изменений в содержании МДА у стареющих мышей, которым вводили ММСК-П. Возможно, это связано с более значительным снижением у них активности антиоксидантных ферментов после приема купризонна. Имеют также значение возрастные особенности развития оксидативного стресса в ответ на действие нейротоксина [25, 26]. Не исключено, что эффект ММСК-П в стареющем организме может быть усилен при сочетанном применении биологически активных веществ с антиоксидантным действием.

Существует еще один путь терапевтического влияния ММСК-П у животных с демиелинизирующей патологией ЦНС. Это противовоспалительный эффект клеток, который связан с активацией продукции IL-10, снижением продукции IL-1 β и проявлений активного глиоза в головном мозге таких животных [14, 27]. Показано, что развитие демиелинизирующей патологии ЦНС сопровождается активацией клеток микроглии, нарушением баланса про- и противовоспалительных цитокинов [18, 25].

При изучении возможных путей влияния ММСК-П у животных с патологией ЦНС является важным вопрос об их проникновении в головной мозг после внутривенного введения. Из литературы известно, что ММСК-П после субокципитального введения взрослым крысам с ЭАЭ способны мигрировать с места инъекции в разные отделы ЦНС (полушария головного мозга, спинномозговая жидкость, грудной отдел спинного мозга) и выживать в них в течение 5 дней [28]. Вместе с тем, при внутривенном введении клеток важным условием их проникновения в головной мозг является повышение проницаемости гематоэнцефалического барьера (ГЭБ). Показано, что уже на ранних этапах развития рассеянного склероза, сопровождающегося нейровоспалением, проницаемость ГЭБ повышается [29]. У взрослых мышей с купризоновой моделью демиелинизации подобные изменения ГЭБ наблюдаются уже через 24 часа от начала приема нейротоксина [30]. Однако данные литературы о проникновении трансплантированных ММСК костного мозга и жировой ткани в головной мозг молодых мышей с купризоновой диетой свидетельствуют как об их выявлении в головном мозге с развитием ремиелинизации, так и об их отсутствии [20,31]. Введенные в хвостовую вену ММСК пуповины мышей можно обнаружить в сосудах головного мозга молодых животных с моделью ЛПС-индуцированного нейровоспаления [32].

Учитывая изложенное выше, можно предположить вероятность проникновения трансплантированных ММСК-П в головной мозг мышей с купризоновой диетой, в том числе и стареющих, поскольку с возрастом проницаемость ГЭБ и нейровоспаление в головном мозге усиливаются. При этом не исключается дифференцировка ММСК-П в нейрогенном направлении и синтез клетками нейротрофических факторов [27]. Паракринный эффект ММСК-П также может быть важным в реализации их нейропротекторного влияния у мышей с демиелинизирующей патологией ЦНС [33].

ВЫВОДЫ

Трансплантация ММСК-П положительно влияет на измененные поведенческие реакции у мышей с купризоновой диетой. Эффект трансплантированных клеток в значительной степени зависит от возраста животных; у взрослых – повышается двигательная и эмоциональная активность, у стареющих – ориентировочно-исследовательская активность и мышечный тонус.

У взрослых мышей, получавших купризон и трансплантацию ММСК-П, снижается содержание МДА в головном мозге по сравнению с группой опытных животных без введения клеток.

Результаты возрастных различий в терапевтическом эффекте ММСК-П на показатели функционального состояния ЦНС и оксидативного стресса при демиелинизирующей патологии могут быть полезными при разработке подходов к терапии этими клетками во взрослом и стареющем организмах.

СПИСОК ЦИТИРУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Мищенко Е. С., Шульга О. Д., Бобрик Н. В., Шульга Л. А. Розсіяний склероз: глобальні перспективи. Укр мед Часопис. 2014. **101**, № 3. С. 84-87.
2. Sarcar P., Rice C. M., Scolding N. J. Cell therapy for multiple sclerosis. *CNS Drugs*. 2017. **31**. P. 453-469. DOI:10.1007/s40263-017-0429-9.
3. Genc B., Bozan H. R., Genc S., Genc K. Stem cell therapy for multiple sclerosis. *Adv Exp Med Biol*. 2019. **1084**. P. 145-174. DOI: 10.1007/5584_2018_247.
4. Konala V. B., Mamidi M. K., Bhone R., Das A. K., Pochampally R., Pal R. The current landscape of the mesenchymal stromal cell secretome. *Cytotherapy*. 2016. **18**. P. 13-24. DOI:10.1016/j.jcyt.2015.10.008.
5. Zachar L., Bacenlova D., Rosocher I. Activation, homing and role of the mesenchymal stem cells in the inflammatory environment. *J Inflamm Res*. 2016. **9**. P. 231-240. DOI:10.2147/JIR.S121994.
6. Wojtas E., Zachwieja A., Zwyrzykowska A., Kupczynski R., Marycz K. The application of mesenchymal progenitor stem cells in the reduction of oxidative stress in animals. *Turk J Biol*. 2017. **41**. P. 12-19. DOI:10.3906/biy-1603-13.
7. Laroni A., Kerlego de Rosbo N., Uccelli A. Mesenchymal stem cells for the treatment of neurological diseases: immunoregulation beyond neuroprotection. *Immunology letter*. 2015. **168**. P. 183-190. <http://dx.doi.org/10.1016/j.imlet.2015.08.007>.
8. Can A., Celikkan F.T., Cinar O. Umbilical cord mesenchymal stromal cell transplantation: a systemic analysis of clinical trials. *Cytotherapy*. 2017. **19**, № 12. P. 1351-1382. DOI:10.1016/j.cyt.2017.08.004.
9. Maslova O. O., Shyvalova N. S., Sukhorada O. M., Zkukova S. M., Deryabina O. G., Makarenko M. V., et al. Heterogeneity of umbilical cords as a source for MSC. *Dataset Papers in biology*. 2013. Article ID 370103. <http://dx.doi.org/10.7167/2013/370103>.
10. ElOmar R., Beroud J., Stoltz J. F., Menu P., Velot E., Decot V. Umbilical cord mesenchymal stem cells-based therapies? *Tissue Eng, Part B Rev*. 2014. **20**, № 5. P. 523-544. DOI:10.1089/ten.TEB.2013.0664.
11. Putra A., Ridwan B. R., Putridewi A. I., Kustiyah A. R., Wirastuti K., Sadyah N. A.Ch., et al. The role of TNF-alpha induced MSCs on suppressive inflammation by increasing TGF-beta and IL-10. *Open Access Maced J Med Sci*. 2018. **6**, № 10. P. 1779-1783.
12. Hsieh J. Y., Fu Y. S., Chang S. J., Tsuang Y. H., Wang H. W. Functional module analysis reveals differential Osteogenic and stemness potentials in human mesenchymal stem cells from-bone marrow and Wharton's jelly of the umbilical cord. *Stem Cells Dev*. 2010. **19**. P. 1895-1910. <https://doi.org/10.1089/scd.2009.0485>. PMID:20367285.
13. Li X., Bai J., Ji X., Li R., Xuan Y., Wang Y. Comprehensive characterization of four different populations of human mesenchymal stem cells as regards their immune properties, proliferation and differentiation. *Int J Mol Med*. 2014. **34**, № 3. P. 695-704. DOI:10.3892/ijmm.2014.1821.
14. Tsybaliuk V. I., Velychko O. M., Pichkur O. L., Verbovska S. A., Shuvalova N. S., Toporova O. K., et al. Effects of Warton's jelly humans mesenchymal stem cells transfected with plasmid containing il-10 gene to the behavioral response in rats with experimental allergic encephalomyelitis. *JCOT*. 2015. **3**, № 2. P. 139-143. DOI: 10.22494/COT.V3I2.14.
15. Васлович В. В., Пічкур Л. Д., Малишева Т. А., Акінола С. Т., Вербовська С. А., Топорова О. К., та ін. Ультраструктурні зміни спинного мозку щурів з експериментальним алергічним енцефаломієлітом під впливом мезенхімальних стовбурових клітин та інтерлейкіна-10. *Журнал клінічних і експериментальних медичинських досліджень (JCEMR)*. 2018. **6**, № 1. С. 17-30. ISSN 2309-2394 (print), ISSN 2310-2209 (online).
16. Scruggs B. A., Semon J. A., Zhang X., Zhang Sh., Bowles A. S., Pandey A. C., et al. Age of the donor reduces the ability of human adipose derived stem cells to alleviate symptoms in the experimental autoimmune encephalomyelitis mouse model. *Stem Cells Transl Med*. 2013. **2**. P. 797-807. <http://dx.doi.org/10.5966/sctm.2013-0026>.
17. Shen J., Tsai Y-T., Di Marco N. M., Lang M. A., Sun X., Tang L. Transplantation of mesenchymal stem cells from young donors delays aging in mice. *Scientific reports*. 2011. **1**. P. 67. DOI:10.1038/srep00067.
18. Praet J., Guglielmetti C., Berneman Z., Van der Linden A., Ponsaerts P. Cellular and molecular neuropathology of the cuprizone mouse model: Clinical relevance for multiple sclerosis. *J Neubiorev*. 2014. **47**. P. 485-505. [Doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.10.004](http://dx.doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.10.004).
19. Labunets I. F., Rodnichenko A. E., Melnyk N. O., Rymar S. E., Utko N. A., Gavrylyk-Skyba G. O., et al. Neuroprotective effect of the recombinant human leukemia inhibitory factor in mice with an experimental cuprizone model of multiple sclerosis: possible mechanisms. *Biopolym Cell*. 2018. **34**, № 5. P. 350-360. DOI: <http://dx.doi.org/10.7124/bc000989>.
20. Nessler J., Bernardais K., Gudi V., Hoffman A., Tejedor L. S., JanBen S., et al. Effects of murine and human bone marrow-derived mesenchymal stem cells on cuprizone induced demyelination. *PLoS ONE*. 2013. **8**, № 7. P. 69795-8. DOI:10.1371/journal.pone.0069795.
21. Амикишиева А. В. Поведенческое фенотипирование: современные методы и оборудование. *Вестник ВОГиС*. 2009. **13**, № 3. С. 529-542
22. Uchiyama M., Mihara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem*. 1978. **86**, №1. P. 271-278.
23. Labunets I. F., Talanov S. A., Vasilyev R. G., Rodnichenko A. Ye., Utko N. O., Kuzminov I. A., et al. Thymic hormones, antioxidant enzymes and neurogenesis in bulbus olfactorius of rats with hemiparkinsonism: effect of melatonin. *Int J Phys Pathophys*. 2016. **7**, № 4. P. 285-298. DOI: 10.1615/IntJPhysPathophys.v7.i4.10.
24. Serra-de-Oliveria N., Boilesen S. N., Prado de Franca Carvalho C., Lesueur-maluf L., Zollner R., Spadari L. C., et al. Behavioural changes observed in demyelination model shares similarities with white matter abnormalities in humans. *Behav Brain Res*. 2015. **287**. P. 265-275. DOI: 10.1016/j.bbr.2015.03.038.
25. Labunets I. F., Melnyk N. O., Rodnichenko A. E., Rymar S. E., Utko N. A. Cuprizone-induced disorders of the central nervous system neurons, behavioral reactions, brain activity of macrophages and antioxidant enzymes in the mice of different ages:role of leukemia inhibitory factor in their improvement. *J Aging Geriat Med*. 2017. **1**, № 2. P. 1-8. DOI:10.4172/AGM.1000104.
26. Лабунец І. Ф., Родніченко А. Е. Ефекти мелатоніну у молодих і старіючих мишей з токсичної купризонової моделлю демієлінізації. *Успехи геронтології*. 2019. **32**, № 3. С. 338-346. PMID 31512419.
27. Mukai T., Mon Y., Shimazu T., Takahashi A., Tsunoda H., Yamauchi S., et al. Intravenous injection of umbilical cord-derived mesenchymal stromal cells attenuates reactive gliosis and hypomyelination in neonatal intraventricular hemorrhage model. *Neuroscience*. 2017. **355**. P. 175-187. DOI:10.1016/j.neuroscience.2017.05.006.
28. Пічкур Л. Д., Ковальчук М. В., Дерябіна О. Г., Вербовська С. А., Акінола С. Т., Шувалова Н. С., та ін. Вживання трансплантованих мезенхімальних стовбурових клітин вартонових драглів пуповини людини в центральній нервовій системі щурів при експериментальному алергічному енцефаломієліті після їх субоципітального введення. *Укр нейрохірург журн*. 2017. № 3. С. 30-35. DOI:<http://doi.org/10.25305/unj.112102>.
29. Kamphuis W. W., Derrada T. C., Reijerkerk A., Romero I. A., deVries H. E. The blood-brain barrier in multiple sclerosis:microRNAs as key regulators. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2015. **14**. P. 157-167. DOI:10.2174/1871527314666150116125246.
30. Абакумова Т. О., Кузькина А. А., Жарова М. Е., Поздеева Д. А., Губский И. Л., Шепелева И. И., и др. Купризоновая модель как инструмент для доклинического исследования эффективности диагностики и терапии рассеянного склероза. *Бюлл эксперим биол мед*. 2015. **159**, № 1. С.124-128. <https://rucont.ru/efd/353967>.
31. El-Akabawy G., Rashed I. A. Beneficial effects of bone marrow-derived mesenchymal stem cell transplantation in a non-immune model of demyelination. *Ann Anat*. 2015. **198**. P. 11-20. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aanat.2014.12.002>.

32. Lukhmus O., Koval L., Voytenko L., Uspenska K., Komisarenko S., Deryabina O., et al. Intravenously injected mesenchymal stem cells penetrate the brain and treat inflammation-induced brain damage and memory impairment in mice. *Front Pharmacol.* 2019. **10**. Article 355. DOI:10.3389/fphar.2019.00355.
33. Dabrowski F. A., Burdzinska A., Kulesza A., Sladowska A., Zolocinska A., Gala K., et al. Comparison of the paracrine activity of mesenchymal stem cells derived from umbilical cord, amniotic membrane and adipose tissue. *J Obstet Gynaecol Res.* 2017. **43**, № 11. P. 1758-1768. DOI:10.1111/jog.13432.



СТАТЬЯ НА САЙТЕ
TRANSPLANTOLOGY.ORG

Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов по исследованию, авторству и/или публикации данной статьи.