

# ВЛИЯНИЕ СОЧЕТАННОЙ ТРАВМЫ ГОЛОВНОГО И СПИННОГО МОЗГА И ВВЕДЕНИЯ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК НА СОДЕРЖАНИЕ ОКСИДА АЗОТА И МЕДИ В ЛОБНЫХ ДОЛЯХ МОЗГА КРЫС

Х.А. Гайнутдинов<sup>1,2</sup>, В.В. Андрианов<sup>1,2</sup>, Г.Г. Яфарова<sup>1,2</sup>, Л.В. Базан<sup>1</sup>, Т.Х. Богодвид<sup>2,3</sup>, Т.А. Филиппович<sup>4</sup>, В.А. Кульчицкий<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Казанский физико-технический институт КазНЦ РАН, лаборатория спиновой физики и спиновой химии, Казань, Россия

<sup>2</sup>Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, г. Казань, Россия

<sup>2</sup>Поволжский государственный университет физической культуры, спорта и туризма, Казань, Россия

<sup>4</sup>Центр мозга, Институт физиологии НАН Беларуси, лаборатория нейрофизиологии, Минск, Беларусь

## Аннотация

**Цель:** исследование методом спектроскопии электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) интенсивности продукции оксида азота (NO) и содержания меди (как показателя фермента супероксиддисмутазы) в травмированных и нетравмированных участках мозга с учетом эффектов интраназального введения мезенхимальных стволовых клеток при моделировании сочетанной травмы головного и спинного мозга.

**Методы и организация исследования:** методом ЭПР-спектроскопии сравнивали продукцию NO и содержания меди в поврежденных и неповрежденных участках мозга при моделировании сочетанной травмы головного и спинного мозга у крыс Вистар. Повреждали прецентральную извилину головного мозга и затем спинной мозг на уровне первого поясничного позвонка.

**Результаты исследования и их обсуждение:** через семь дней после травмы установили снижение содержания NO на 84% в поврежденных участках мозга и на 66% в неповрежденных участках мозга. Разница в продукции NO в травмированной и нетравмированной областях мозга была также достоверной. Содержание меди в мозге через неделю после моделирования травмы оставалось неизменным.

**Заключение:** полученные в экспериментах данные позволяют объяснить проблемы в терапии пациентов с сочетанной черепно-мозговой травмой.

**Ключевые слова:** сочетанная травма головного и спинного мозга, оксид азота, электронный парамагнитный резонанс, мезенхимальные стволовые клетки.

## INFLUENCE OF COMBINED BRAIN AND SPINAL CORD INJURY AND INTRODUCTION OF MESENCHYMAL STEM CELLS ON THE CONTENT OF NITRIC OXIDE AND COPPER IN THE FRONTAL LOBE OF THE RAT BRAIN

<sup>1,2</sup>Kh.L. Gainutdinov, e-mail: kh\_gainutdinov@mail.ru, ORCID: 0000-0003-2649-3264

<sup>1,2</sup>V.V. Andrianov, e-mail: slava\_snail@yahoo.com, ORCID: 0000-0002-2471-5444

<sup>1,2</sup>G.G. Yafarova, e-mail: gusadila@mail.ru, ORCID: 0000-0003-3068-3407

<sup>1</sup>L.V. Bazan, e-mail: l\_v\_bazan@mail.ru, ORCID: 0000-0002-8321-9344

<sup>2,3</sup>T.Kh. Bogodvid, e-mail: tat-gain@mail.ru, ORCID: 0000-0002-1416-7595

<sup>4</sup>T.A. Filipovich, e-mail: semionik88@mail.ru, ORCID: 0000-0003-4821-5847

<sup>4</sup>V.A. Kulchitsky, e-mail: vladi@fizio.bas-net.by, ORCID: 0000-0003-1223-646X

<sup>1</sup>Zavoisky Physical-Technical Institute of the Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, Kazan, Russia;

<sup>2</sup>Kazan Federal University, Kazan, Russia;

<sup>3</sup>Volga Region State University of Physical Culture, Sports and Tourism, Kazan, Russia;

<sup>4</sup>Brain Center, Institute of Physiology, National Academy of Sciences, Minsk, Belarus

## Abstract

The purpose is to conduct a study using electron paramagnetic resonance (EPR) spectroscopy of the intensity of nitric oxide (NO) production and copper content (as an indicator of the enzyme superoxide dismutase) in injured and non-injured areas of the brain, taking into account the effects of intranasal administration of mesenchymal stem cells when modeling combined injury of the brain and spinal cord.

Methods and organization of research. NO production and copper content in injured and non-injured areas of the brain was compared by EPR spectroscopy when modeling combined brain and spinal cord injury in Wistar rats.

The results of the research and their discussion. The precentral gyrus of the brain was injured, followed by the spinal cord at the level of the first lumbar vertebra. Seven days after brain injury, a reduction in NO content by 84% in injured brain areas and by 66% in non-injured brain areas was found. The difference in NO production in injured and uninjured brain regions persisted 7 days after injury. Copper content in the brain remained unchanged one week after modeling of brain and spinal cord injury.

Conclusion. The data obtained in the experiments help to explain the problems in the therapy of patients with combined brain injury.

**Keywords:** nitric oxide, combined brain and spinal cord injury, electron paramagnetic resonance, mesenchymal stem cells.

## ВВЕДЕНИЕ

Травмы головного и спинного мозга, которые сопровождаются нарушением кровоснабжения органов, продолжают оставаться одной из самых сложных проблем современной физиологии и медицины [3, 14]. Вопрос о значимой реабилитации пациентов, перенесших травмы спинного мозга (СМ), ведущие к нарушению двигательной активности, относится к числу нерешенных социально значимых проблем. Травмы и инсульты СМ сопровождаются прогрессирующими соматическими и вегетативными изменениями во всем организме вплоть до длительной потери работоспособности и инвалидизации пациентов [22]. Нарушения работы нейронных сетей при травме СМ любой этиологии (травма, кровоизлияние, опухолевый или воспалительный процессы) сопровождаются не только потерей центрального контроля соматических и вегетативных функций, но и нарастающими деструктивными процессами в нервной ткани. Ослабевает кровоснабжение нервных и глиальных клеток, гипоксия и гиперкапния сопровождаются изменением метаболизма и катастрофическим накоплением в ткани СМ свободных радикалов, провоспалительных цитокинов и сдвигом естественных взаимоотношений нейромедиаторов и иных сигнальных молекул [7, 8, 10]. Изучение механизмов нейрорегенерации и разработка новых методов восстановления нейрональных структур составляют одно из актуальных направлений физиологии и имеют большое значение для разработок новых терапевтических

и реабилитационных стратегий.

Одной из причин и одновременно следствий патологических процессов в тканях головного и спинного мозга является развитие гипоксии, которая служит предшественником многих патологических процессов в организме [2, 3]. Она возникает при недостаточном снабжении тканей организма кислородом или нарушении его утилизации в процессе биологического окисления; это ключевой компонент патогенеза многих заболеваний. При гипоксии и ишемии мозга нарушается функционирование нейромедиаторных систем, включая систему монооксида азота. Оксид азота (NO) известен как одна из наиболее важных сигнальных молекул, регулирующих физиологические функции организма и метаболизм клеток [24]. Открытие способности клеток млекопитающих к синтезу NO стимулировало огромные усилия исследователей к изучению роли NO во всех областях биологии и медицины. NO широко распространен в нервной [13], сердечно-сосудистой [1, 5, 6] и других функциональных системах организма [24]. В последние годы появилось много фактов, свидетельствующих о том, что биосинтез NO является одним из ключевых факторов в патофизиологическом ответе мозга на гипоксию-ишемию [19, 36]. Однако функциональная роль эндогенного NO в процессах, протекающих при повреждении нервной системы, противоречива и недостаточно исследована [24]. Это обусловлено тем, что NO является примером классического двуликкого Януса [27].

В последние несколько десятилетий появились доказательства того, что физиологическое обновление и регенерация тканей в течение всей жизни животного и человека происходят благодаря стволовым клеткам [23]. Важнейшей популяцией стволовых клеток взрослого организма являются мезенхимальные стволовые клетки (МСК) [16]. В физиологических условиях эндогенные стволовые клетки в областях головного и спинного мозга генерируют нейробласты, которые мигрируют к тем участкам мозга, где требуется интенсивное образование новых нейронных сетей [19]. Авторами статьи в экспериментах на грызунах установлено, что интраназальное введение МСК в остром периоде ишемии мозга сопровождалось более быстрым восстановлением контроля двигательной активности [11].

Целью данной работы было исследование методом спектроскопии электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) интенсивности продукции NO и содержания меди (как показателя фермента супероксиддисмутазы) в травмированных и нетравмированных участках мозга с учетом эффектов интраназального введения мезенхимальных стволовых клеток при моделировании сочетанной травмы головного и спинного мозга.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

*Моделирование сочетанной травмы  
головного и спинного мозга у крыс.*

*Протокол эксперимента*

Моделирование травмы головного и спинного мозга проводили в Центре мозга Института физиологии НАН Беларуси в соответствии с утвержденным протоколом Комиссии по этике (протокол №1 от 31.01.2019 г.; ApprovalCode: Approvalcode E7/04/2023) Института физиологии НАН Беларуси, г. Минск. Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены. Эксперименты с использованием лабораторных животных выполнялись в соответствии с нормами обращения с животными, регламентированными Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и научных целей, в соответствии с принципами биомедицинской

этики, изложенными в Хельсинкской декларации 1964 г. и последующих поправках к ней. Эксперименты проведены на крысах-самцах ( $n=20$ ) массой 200-300 грамм. Животных содержали в стандартных условиях вивария (с поддержанием 12/12-часового ритма освещения и темноты, температуры воздуха на уровне  $23\pm 1$  °C и стабильной приточно-вытяжной вентиляции) при свободном доступе к воде и пище (*ad libitum*) и одинаковом рационе питания в соответствии с нормами содержания лабораторных животных. Все операционные процедуры проводили на наркотизированных животных (55,6 мг/кг кетамина, 5,5 мг/кг ксилазина, 1,1 мг/кг ацепромазина, внутривенно) [26].

Наркотизированных лабораторных крыс фиксировали на хирургическом столе в положении пронации с помощью растяжек на конечностях. Фиксировали голову животного, после удаления шерсти на своде черепа обрабатывали кожу 2-процентным раствором йода и скальпелем осуществляли разрез кожи и мягких тканей 10-12 мм по средней линии. Удаляли локально надкостницу в проекции прецентральной извилины и с помощью бор-машины проводили трепанацию черепа и последующее локальное разрушение участка мозга стилетом в прецентральной области мозга слева. Затем ушивали рану и обрабатывали кожу 2-процентным раствором йода. На следующем этапе продолжали проводить операцию, но уже на уровне поясничного отдела спинного мозга. Удаляли шерсть, обрабатывали 2-процентным раствором йода кожу, осуществляли разрез кожи и мягких тканей в проекции поясничных позвонков. Затем погружали стилет в спинной мозг на уровне первого поясничного позвонка и отмечали в дневнике продолжительность кровотечения из раны после удаления стилета. После прекращения кровотечения накладывали два шва на рану и обрабатывали кожу 2-процентным раствором йода.

Протокол эксперимента был следующий. Операции проводили на 15 животных: 5 животных оперировали с последующим взятием образцов тканей через семь суток после операции ( $n=5$ ), 5 животных оперировали с одновременным (через 10 мин) введением МСК с последующим взятием образцов тканей через семь суток после операции ( $n=5$ ), столько же

оперированных животных ( $n=5$ ) оставляли для оценки эффективности восстановления центрального контроля двигательных функций после операции. МСК вводили с помощью инсулинового шприца под слизистую оболочку полости носа крысы в 50 мкл суспензии, содержащей 400 тысяч МСК (интраназальное введение) [9]. Также 5 интактных животных, которые не подвергались хирургическим манипуляциям, составляли контрольную группу ( $n=5$ ).

Через неделю (семь дней) после операции извлекали ткани из травмированной и нетравмированной (контралатеральной) областей мозга (лобная доля) у всех групп животных. Данные сроки были выбраны по двум причинам: с одной стороны, – это учет данных в проведенных ранее экспериментах с иммуногистохимическим окрашиванием поврежденных областей мозга [26], а, с другой стороны, – это поведенческие эксперименты [11]. Затем биологический материал в специальных контейнерах отправляли из Минска в Казань. В Минске оставалось 10 животных после моделирования травмы головного и спинного мозга, которых продолжали наблюдать в течение месяца после начала эксперимента для оценки эффективности восстановления центрального контроля двигательных функций.

#### *Формирование комплекса NO со спиновой ловушкой и измерения ЭПР спектров*

Измерения интенсивности продукции NO методом ЭПР-спектроскопии проводили в Казанском физико-техническом институте КазНЦ РАН [17, 37]. Была использована методика спиновых ловушек, основу которой составляет связывание диэтилдитиокарбамата (ДЭТК) с железом; полученная гемовая структура связывается с NO и образует парамагнитный комплекс, который может быть зарегистрирован ЭПР-спектроскопией [4]. Компоненты спиновой ловушки для NO (ДЭТК-Na,  $\text{FeSO}_4$ , sodiumcitrate) вводили животным за 30 мин до извлечения исследуемых тканей: ДЭТК-Na вводили внутривентриально в дозе 500 мг/кг в 2,5 мл воды, смесь растворов: сульфата железа ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ , Sigma, USA) в дозе 37,5 мг/кг и цитрата натрия в дозе 187,5 мг/кг (в объеме 1 мл воды на 300 г веса животного), приготовленную непосредственно перед введением, вводили подкожно в три

точки – правое и левое бедро и в ростральную часть межлопаточной области [9]. В результате формируется соединение ДЭТК- $\text{Fe}^{2+}$ , которое образует с NO стабильный радикал  $(\text{ДЭТК})_2\text{-Fe}^{2+}\text{-NO}$ . Этот комплекс  $(\text{ДЭТК})_2\text{-Fe}^{2+}\text{-NO}$  характеризуется легко распознаваемым спектром ЭПР со значением g-фактора  $g=2.038$  и тремя компонентами сверхтонкой структуры. [4, 20]. Кроме того, ДЭТК взаимодействует с Cu, образуя комплекс  $\text{Cu}(\text{ДЭТК})_2$ , который также может быть зарегистрирован методом ЭПР-спектроскопии [21]. Измерения спектров комплекса биологических образцов  $(\text{ДЭТК})_2\text{-Fe}^{2+}\text{-NO}$  и  $\text{Cu}(\text{ДЭТК})_2$  проводили на спектрометре фирмы Брукер X диапазона (9.5320 GHz) EMX/plus. Образец в пальчиковом Дьюаре фирмы Брукер помещали в двойной резонатор (модель ER 4105DR) при частоте модуляции магнитного поля 100 kHz, амплитуды модуляции 2 Гс, мощности СВЧ излучения 2 mW, временной константе 327 ms и температуре 77° К. Амплитуда модуляции, усиление и мощность СВЧ во всех экспериментах подбирались с условием отсутствия перемодуляции и насыщения сигнала ЭПР и сохранялись одинаковыми на протяжении всех измерений. Масса образцов составляла около 100-200 мг. Амплитуду спектров ЭПР нормировали на вес образца и на амплитуду сигнала ЭПР эталонного образца.

#### *Статистическая обработка результата.*

Результаты были статистически обработаны, они представлены как среднее  $\pm$  SEM. Достоверность различий оценивали по t-критерию Стьюдента и U-критерию Манна-Уитни. Была использована программа SigmaPlot (версия 11.0). Статистическая значимость оценивалась по  $p<0.05$ .

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

На рисунке 1 показаны спектры ЭПР интактной-контрольной крысы (контроль), травмированной крысы (Травма) и травмированной крысы с введением стволовых клеток (Травма+МСК) – тканей областей левой лобной доли мозга (область, где наносилась травма экспериментальным животным) через 7 суток после моделирования сочетанной травмы головного и спинного мозга. Данные спектры получены при микроволновом излучении постоянной частоты при протяжке магнитного поля. В этом спектре присутствуют сигналы от

разных парамагнитных частиц (комплексов). В области магнитного поля от 330 до 337 мТ происходит наложение сигналов от комплекса спиновой ловушки с  $\text{NO}(\text{ДЕТК})_2\text{-Fe}^{2+}\text{-NO}$ , который характеризуется легко распознаваемым спектром ЭПР со значением g-фактора  $g=2.038$  и тремя компонентами сверхтонкой структуры [4, 20]. Кроме того, наблюдается хорошо выраженный спектр ЭПР от комплекса меди с ДЕТК –  $\text{Cu}(\text{ДЕТК})_2$  [9, 21]. Сплошной линией пред-

ставлен спектр образца, прерывистая линия – сигнал от оксида азота, связанного со спиновой ловушкой, в составе спектра комплекса  $((\text{ДЕТК})_2\text{-Fe}^{2+}\text{-NO})$  (рисунок 1). Относительное изменение количества NO-содержащего комплекса и комплекса  $\text{Cu}(\text{ДЕТК})_2$  оценивали по его центральной компоненте сверхтонкого расщепления, т.е. по разности максимума и минимума первой производной сигналов поглощения от этих комплексов.



**Рисунок 1 – Спектры ЭПР тканей лобных долей области, где наносилась травма экспериментальным животным (левое полушарие мозга)**

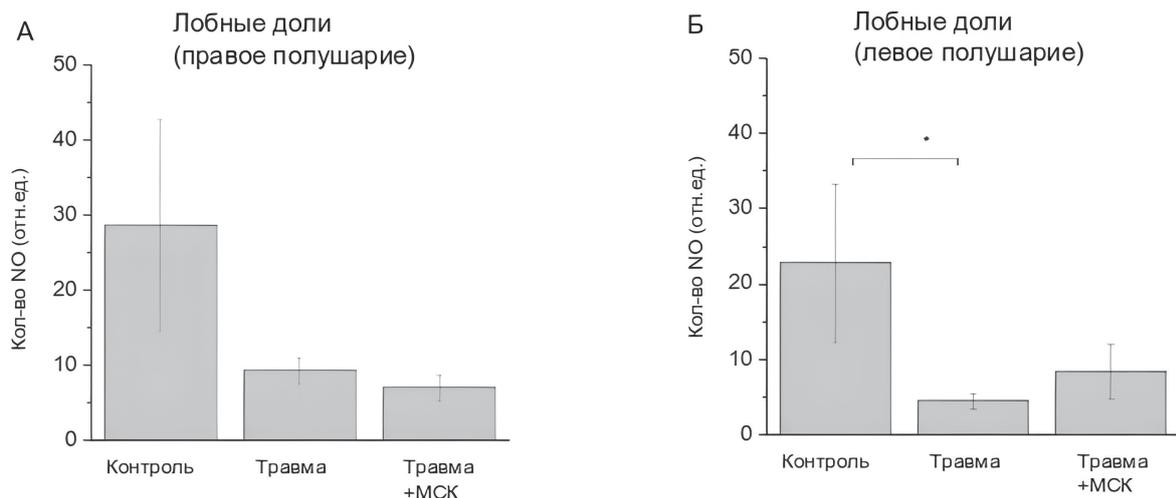
Показаны спектры тканей контрольной крысы (Контроль), а также травмированной крысы (Травма) и травмированной крысы с введением стволовых клеток (Травма+MSC) через 7 суток после травмы. Жирные линии – спектры образцов тканей мозга, тонкие линии – эталонный сигнал комплекса  $(\text{ДЕТК})_2\text{-Fe}^{2+}\text{-NO}$  с амплитудой, равной вкладу в спектр соответствующего образца. Спектры образцов получали при 77°K. Рамкой показана область сигнала  $(\text{ДЕТК})_2\text{-Fe}^{2+}\text{-NO}$

**Figure 1 – EPR spectra of tissues in the region of the frontal lobes where the injury was inflicted on experimental animals (left hemisphere of the brain)**

Note: The spectra of tissues of a control rat (Control), an injured rat (Trauma) and an injured rat with the introduction of stem cells (Trauma+MSC) 7 days after injury are shown. Thick lines are the spectra of brain tissue samples, thin lines are the reference signal of the  $(\text{DETC})_2\text{-Fe}^{2+}\text{-NO}$  complex with an amplitude equal to the contribution to the spectrum of the corresponding sample. The spectra of the samples were obtained at 77°K. The frame shows the signal region  $(\text{DETC})_2\text{-Fe}^{2+}\text{-NO}$

Статистические данные по интегральным интенсивностям сигнала  $(\text{ДЕТК})_2\text{-Fe}^{2+}\text{-NO}$  в спектрах исследованных образцов травмированной и нетравмированной (контралатеральной) областей мозга при сочетанной травме головного и спинного мозга демонстрируют достоверное снижение продукции NO через 7 суток после травмы в травмированной обла-

сти мозга ( $P = 0.029$ , Mann-Whitney) (рисунок 2) и также значительное, но недостоверное снижение продукции NO в нетравмированной (контралатеральной) области мозга ( $P = 0.38$ , Mann-Whitney) (рисунок 2А). При этом была разница в продукции NO между поврежденной и контралатеральными областями мозга ( $P = 0.05$ , Манн-Уитни).



**Рисунок 2 – Содержание NO в тканях лобных долей контрольных (Контроль), а также травмированных крыс (Травма) и крыс, травмированных с одновременным введением стволовых клеток (Травма+МСК) через 7 суток после травмы**

А – ткани лобных долей правого полушария мозга, Б – ткани лобных долей левого полушария мозга (область, где наносилась травма экспериментальным животным).

Приведена средняя удельная интегральная интенсивность сигнала (ДЭТК)<sub>2</sub>-Fe<sup>2+</sup>-NO в спектрах образцов тканей (в относительных единицах). \* – достоверное отличие (p<0.05)

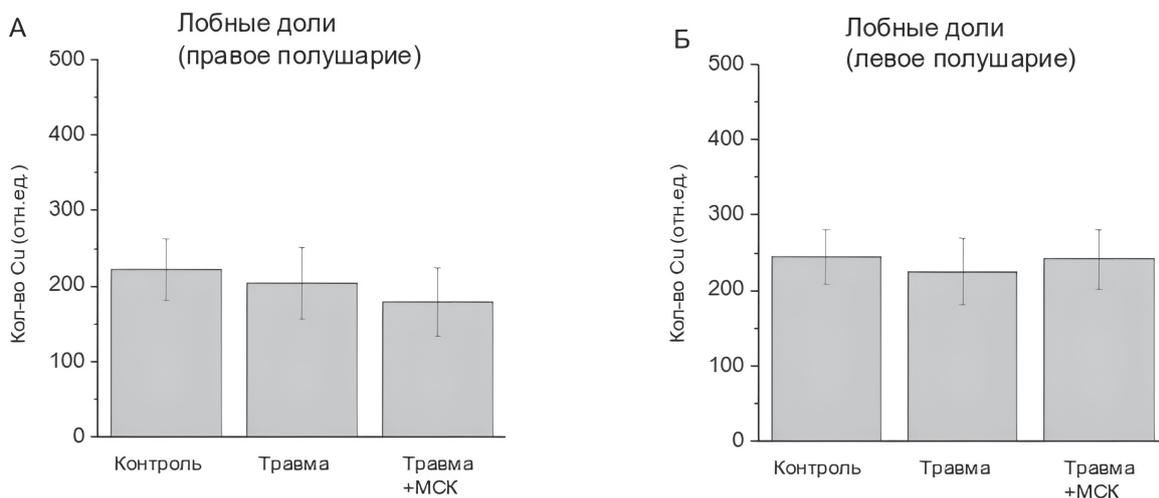
**Figure 2 – NO content in the tissues of the frontal lobes of control (Control), injured rats (Trauma) and injured rats with simultaneous injection of stem cells (Trauma+MSC) 7 days after injury**

Note: A – tissues of the frontal lobes of the right hemisphere of the brain, B – tissues of the frontal lobes of the left hemisphere of the brain (the area where the injury was inflicted on the experimental animals).

The average specific integrated signal intensity (DETC)<sub>2</sub>-Fe<sup>2+</sup>-NO in the spectra of tissue samples is given (in relative units). \* – significant difference (p<0.05)

На рисунке 3 приведены статистические данные по интегральным интенсивностям сигнала Cu(ДЭТК)<sub>2</sub>. Результаты показывают, что содер-

жание меди через 7 суток после моделирования травмы остается неизменным как в травмированной, так и в нетравмированной областях мозга.



**Рисунок 3 – Содержание Cu в тканях лобных долей контрольных (Контроль), а также травмированных крыс (Травма) и крыс, травмированных с одновременным введением стволовых клеток (Травма+МСК) через 7 суток после травмы**

А – ткани лобных долей правого полушария мозга, Б – ткани лобных долей левого полушария мозга (область, где наносилась травма экспериментальным животным).

Приведена средняя удельная интегральная интенсивность сигнала Cu(ДЭТК)<sub>2</sub> в спектрах образцов тканей (в относительных единицах).

**Figure 3 – Cu content in the tissues of the frontal lobes of control (Control), injured rats (Trauma) and rats injured with simultaneous injection of stem cells (Trauma+MSC) 7 days after injury**

Note: A – tissues of the frontal lobes of the right hemisphere of the brain, B – tissues of the frontal lobes of the left hemisphere of the brain (the area where the injury was inflicted on the experimental animals).

The average specific integrated signal intensity of Cu (DETC)<sub>2</sub> in the spectra of tissue samples is given (in relative units)

Из рисунка 2 видно, что при одновременном с травмой интраназальном введении МСК интегральная интенсивность сигнала  $(\Delta\text{ЭТК})_2\text{-Fe}^{2+}\text{-NO}$  в спектрах от травмированной и нетравмированной (контралатеральной) областей мозга при сочетанной травме головного и спинного мозга значительно снижается через 7 суток после травмы. Не было показано достоверного отличия уровня продукции NO в группах с введением МСК и без его введения, хотя при этом наблюдалась тенденция к увеличению уровня NO в травмированных тканях мозга в группе животных с введением МСК (рисунок 2Б). Рисунок 3 демонстрирует отсутствие изменений интенсивностей сигнала  $\text{Cu}(\Delta\text{ЭТК})_2$  - при введении МСК.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

При травме головного и спинного мозга реализуется много патологических механизмов, которые способствуют нарушению целостности нервных и глиальных клеток, а также повреждению кровеносных сосудов [17, 18]. Сходство определенных этапов патогенеза этих церебральных повреждений свидетельствует о том, что терапевтические стратегии защиты после ишемии нервной ткани также могут быть востребованными после травмы головного и спинного мозга [14, 25]. Все эти процессы радикально изменяются при повреждении нервной ткани в результате травмы или инсульта ишемической или геморрагической природы. Нами методом ЭПР-спектроскопии проведено исследование относительной интенсивности продукции NO и содержания меди в травмированных и нетравмированных участках лобных долей мозга при моделировании сочетанной травмы головного и спинного мозга. Эти молекулярные компоненты давно привлекают внимание исследователей при изучении механизмов функционирования мозга в норме и при патологических нарушениях. Для экспериментального анализа используются различные методические подходы, и одним из наиболее чувствительных является метод ЭПР-спектроскопии [4, 15, 20]. Значительный про-

гресс в развитии этого метода был достигнут после разработки проф. А.Ф. Ваниным с сотрудниками метода электронной спиновой ловушки для обнаружения и количественного определения NO в биологических тканях [27]. Результаты экспериментального анализа содержания NO в травмированной и контралатеральной областях головного мозга при сочетанной травме головного и спинного мозга выявили снижение интенсивности продукции NO через 7 суток после травмы. Также была достоверной разница в продукции NO между поврежденной и контралатеральной областями мозга. В то же время содержание меди через 7 суток после моделирования травмы остается неизменным. Таким образом, травма сопровождается значительным снижением продукции NO как в травмированной, так и в контралатеральной интактной области мозга. При этом не происходит изменение активности антиоксидантной системы. Однако не было показано достоверных отличий уровня продукции NO в группах с введением МСК и без его введения, несмотря на тенденцию в травмированной области. Исходя из полученных данных, нельзя утверждать, что интраназальное введение МСК влияет на уровень продукции NO при травме.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Моделирование повреждений головного и спинного мозга проводили в Центре мозга, Институт физиологии НАН Беларуси (Минск, Беларусь), работа поддержана Белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований (грант M23РНФ-067). Измерения спектров ЭПР-образцов и их обработку проводили в КФТИ ФИЦ КазНЦ РАН, работа поддержана грантом РНФ № 23-45-10004.

## Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## Conflict of interests

The authors declare that they have no conflicts of interest.

## ЛИТЕРАТУРА:

1. Андрианов, В.В. Изменение содержания оксида азота в сердце интактных и десимпатизированных крыс в онтогенезе / В.В. Андрианов, Ф.Г. Ситдииков, Х.Л. Гайнутдинов, С.В. Юртаева, А.А. Обыночный, Г.Г. Яфарова, Л.Н. Муранова, Ф.К. Каримов, В.М. Чиглинцев, В.С. Июдин // Онтогенез. 2008. – Т. 39, № 6 – С. 437-442
2. Воронина, Т.А. Роль гипоксии в развитии инсульта и судорожных состояний. Антигипоксанты / Т.А. Воронина // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2016. –Т. 14, № 1. – С. 63-70 (InRuss.)
3. Иванов, Е.В. Механизмы развития острого ишемиче-

- ского повреждения головного мозга: клинические и экспериментальные возможности его коррекции. / Е.В. Иванов, С.А. Гаврилова, В.Б. Кошелев // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2021. – № 20. – С. 5-19.
4. Микоян, В.Д. Оксид азота образуется через L-аргинин зависимый путь в мозге мышей *in vivo* / В.Д. Микоян, Л.Н. Кубрина, А.Ф. Ванин // Биофизика. – 1994. – Т. 39. – С. 915-918.
  5. Реутов, В.П. Оксид азота и цикл в миокарде: молекулярные, биохимические и физиологические аспекты / В.П. Реутов, В.Е. Охотин, А.В. Шуклин, Е.Г. Сорокина, Н.С. Косицын, В. Н. Гурин // Успехи физиол. наук. – 2007. – Т.38, №4. – С. 39-58.
  6. Ситдиков, Ф.Г. Особенности динамики продукции оксида азота в тканях сердца и печени крыс при ограничении двигательной активности / Ф.Г. Ситдиков, Р.И. Зарипова, Х.Л. Гайнутдинов // Наука и спорт. 2017. – Т. 15, № 2. – С. 39-45.
  7. Яфарова, Г.Г. Влияние блокатора NO-синтазы L-NAME на функциональное состояние нейромоторного аппарата при травматической болезни спинного мозга / Г.Г. Яфарова, В.В. Андрианов, Р.Х. Ягудин, И.И. Шайхутдинов, Х.Л. Гайнутдинов // Бюлл. эксп. биол. мед. 2016. – Т. 162, № 9. – С. 295-299.
  8. Alizadeh, A. Traumatic Spinal Cord Injury: An Overview of Pathophysiology, Models and Acute Injury Mechanisms / A. Alizadeh, S.M. Dyck, S. Karimi-Abdolrezaee // Front. Neurol. 2019. – V. 10. – P. 282.
  9. Andrianov, V.V. Changes of the nitric oxide and copper content in the olfactory bulbs of rats brain after modeling of brain stroke and intranasal administration of mesenchymal stem cells / V.V. Andrianov, G.G. Yafarova, S.G. Pashkevich, Y.P. Tokalchik, M.O. Dosina, A.S. Zamaro, T.Kh. Bogodvid, V.S. Iyudin, L.V. Bazan, A.A. Denisov, V.A. Kulchitsky, Kh.L. Gainutdinov // Appl. Magn. Res. 2020. – V. 51, № 4. – P. 375-387.
  10. Bethea, J.R. Targeting the host inflammatory response in traumatic spinal cord injury / J.R. Bethea, W.D. Dietrich // Curr Opin Neurol. 2002. – V. 15. – P. 355-360.
  11. Bogodvid, T. Effect of intranasal administration of mesenchymal stem cells on the approximate motor activity of rats after simulation of ischemic stroke / T. Bogodvid, S. Pashkevich, M. Dosina, A. Zamaro, Y. Takalchik, G. Yafarova, V. Andrianov, A. Denisov, D. Loiko, K. Gainutdinov, V. Kulchitsky // Eur. J. Clin. Investig. 2019. – V. 49. – P. 161.
  12. Capizzi, A. Traumatic Brain Injury: An Overview of Epidemiology, Pathophysiology, and Medical Management / A. Capizzi, J. Woo, M. Verduzco-Gutierrez // Med Clin North Am. 2020. – V. 104, № 2. – P. 213-238.
  13. Che, X. The Role of gaseous molecules in traumatic brain injury: an updated review / X. Che, Y. Fang, X. Si, J. Wang, X. Hu, C. Reis, S. Chen // Front. Neurosci. 2018. – V. 12. – P. 392.
  14. Chen, Z.Q. The role of nitric oxide in stroke. / Z.Q. Chen, R.T. Mou, D.X. Feng, Z. Wang, G. Chen // Med. Gas. Res. 2017. – V. 7, № 3. – P. 194-203
  15. Deryagin, O.G. Molecular bases of brain preconditioning / O. G. Deryagin, S.A. Gavrilova, Kh.L. Gainutdinov, A.V. Golubeva, V.V. Andrianov, G.G. Yafarova, S.V. Buravkov, V. B.Koshelev // Frontiers in Neuroscience. 2017. – V. 11. – Article 427.
  16. Eggenhofer, E. The life and fate of mesenchymal stem cells / E. Eggenhofer, F. Luk, M.H. Dahlke, M.J. Hoogduijn // Front. Immunol. 2014. – V. 5. – P. 148.
  17. Garry, P.S. The role of the nitric oxide pathway in brain injury and its treatment – from bench to bedside / P.S. Garry, M. Ezra, M.J. Rowland, J. Westbrook, K.T. Pattinson // Exp. Neurol. 2015. – V. 263. – P. 235- 243.
  18. Guo, Z-N. The role of nitric oxide and sympathetic control in cerebral autoregulation in the setting of subarachnoid hemorrhage and traumatic brain injury / Z-N. Guo, A. Shao, L-S. Tong, W. Sun, J. Liu, Y. Yang // Mol. Neurobiol. 2016. – V. 53, № 6. – P. 3606-3615.
  19. Harrell, C.R. Molecular mechanisms responsible for therapeutic potential of mesenchymal stem cell-derived secretome / C.R. Harrell, C. Fellabaum, N. Jovicic, V. Djonov, N. Arsenijevic, V. Volarevic // Cells. 2019. – V. 8, № 5. – P. 467.
  20. Hogg, N. Free Detection of nitric oxide by electron paramagnetic resonance spectroscopy / N. Hogg // Radical Biology & Medicine. 2010. – V. 49. – P. 122-129.
  21. Jakubowska, M.A. Electron paramagnetic resonance spectroscopy reveals alterations in the redox state of endogenous copper and iron complexes in photodynamic stress-induced ischemic mouse liver / M.A. Jakubowska, J. Pyka, D. Michalczyk-Wetula, K. Baczyński, M. Cieśla, A. Susz, P.E. Ferdek, B.K. Płonka, L. Fiedor, P.M. Płonka // Redox Biol. 2020. – V. 34. – 101566.
  22. Kundi, S. The role of angiogenic and wound-healing factors after spinal cord injury in mammals / S. Kundi, R. Bicknel, Z. Ahmeda // Neuroscience Research. 2013. – V. 76. – P. 1-9.
  23. Lukomska, B. Challenges and Controversies in Human Mesenchymal / B. Lukomska, L. Stanaszek, E. Zuba-Surma, P. Legosz, S. Sarzynska, K. Drela // Stem Cell Therapy. Stem Cells Int. 2019. – 9628536.
  24. Lundberg, J.O. Nitric oxide signaling in health and disease / J. O. Lundberg, E. Weitzberg // Cell. 2022. – V. 185. – P. 2853-2878.
  25. Reutov, V.P. A model of glutamate neurotoxicity and mechanisms of the development of the typical pathological process / V.P. Reutov, N.V. Samosudova, E.G. Sorokina // Biophysics. 2019. – V. 64, №2. – P. 233-250.
  26. Shanko, Y. Mechanisms of Neural Network Structures Recovery in Brain Trauma. Biomed. / Y. Shanko, A. Zamaro, S.Y. Takalchik, S. Koulchitsky, S. Pashkevich, E. Panahova, V. Navitskaya, M. Dosina, A. Denisov, S. Bushuk, V. Kulchitsky // J. Sci. Tech. Res. 2018. V. 7, № 5. – P. 6148 – 6149.
  27. Vanin, A.F. What is the mechanism of nitric oxide conversion into nitrosonium ions ensuring S-nitrosating processes in living organisms / A.F. Vanin // Cell Biochemistry and Biophysics. 2019. – V. 77, №4. – P. 279-292.
  28. Wierónska, J.M. Nitric Oxide-Dependent Pathways as Critical Factors in the Consequences and Recovery after Brain Ischemic Hypoxia / J.M. Wierónska, P. Cieślik, L. Kalinowski // Biomolecules. 2021. – V. 11. – P. 1097.
  29. Yurtaeva, S.V. EPR Detection of Iron Storage in Rat Tissues After Simulated Microgravity / S.V. Yurtaeva, V.N. Efimov, G.G. Yafarova, A.A. Eremeev, V.S. Iyudin, A.A. Rodionov, Kh.L. Gainutdinov, I.V. Yatsyk // Model. Appl. Magn. Reson. 2016. – V. 47, №6. – P. 555-565.

REFERENCES

1. Andrianov, V.V., Sitdikov F.G., Gainutdinov Kh.L., Yurtaeva S.V., Obynochny A.A., Yafarova G.G., Muranova L.N., Karimov F.K., Chiglintsev V.M., Iyudin V.S. Changes in nitric oxide content in the heart of intact and sympathetic rats during ontogenesis / Andrianov V.V., Sitdikov F.G., Gainutdinov Kh.L., Yurtaeva S.V., Obynochny A.A., Yafarova G.G., Muranova L.N., Karimov F.K., Chiglintsev V.M., Iyudin V.S. // *Ontogenesis*. 2008. Vol. 39, № 6/ – pp. 437-442 (In Russ.)
2. Voronina, T. A. The role of hypoxia in the development of stroke and convulsive states / T. A. Voronina // *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2016. – Vol. 14, № 1. – pp. 63-70.
3. Ivanov, E.V. Mechanisms of development of acute ischemic brain injury: clinical and experimental possibilities of its correction / E..V. Ivanov, S.A. Gavrilova, V.B. Koshelev // *Regional blood circulation and microcirculation..* 2021. – № 20. – pp. 5-19 (In Rus).
4. Mikoyan, V. D. Nitric oxide is formed via an L-arginine dependent pathway in the brain of mice in vivo / V. D. Mikoyan, L. N. Kubrina, A. F. Vanin // *Biophysics*. 1994. – Vol. 39. – pp. 915-918 (In Russ.).
5. Reutov, V. P. Nitric oxide and the cycle in the myocardium: molecular, biochemical and physiological aspects / V. P. Reutov, V. E. Okhotin, A. V. Shuklin, E. G. Sorokina, N. S. Kositsyn, V. N. Gurin // *Advances in physiological sciences*. 2007. – Vol.38, № 4. – pp. 39-58 (In Russ.).
6. Sitdikov, F. G. Features of the dynamics of nitric oxide production in rat heart and liver tissues with limited motor activity / F. G. Sitdikov, R. I. Zaripova, Kh. L. Gainutdinov // *Science and Sport*. – 2017. – Vol. 15, № 2. – pp. 39-45.
7. Yafarova, G. G. The effect of the L-NAME NO-synthase blocker on the functional state of the neuromotor apparatus in traumatic spinal cord disease / G. G. Yafarova, V. V. Andrianov, R. Kh. Yagudin, I. I. Shaykhutdinov, Kh. L. Gainutdinov // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. – 2016. – Vol. 162, № 9. – pp. 295-299.
8. Alizadeh, A. Traumatic Spinal Cord Injury: An Overview of Pathophysiology, Models and Acute Injury Mechanisms / A. Alizadeh, S.M. Dyck, S. Karimi-Abdolrezaee // *Front. Neurol.* 2019. – V.10. – P. 282.
9. Andrianov, V.V. Changes of the nitric oxide and copper content in the olfactory bulbs of rats brain after modeling of brain stroke and intranasal administration of mesenchymal stem cells / V.V. Andrianov, G.G. Yafarova, S.G. Pashkevich, Y.P. Tokalchik, M.O. Dosina, A.S. Zamaro, T.Kh. Bogodvid, V.S. Iyudin, L.V. Bazan, A.A. Denisov, V.A. Kulchitsky, Kh.L. Gainutdinov // *Appl. Magn. Res.* 2020. – V. 51, № 4. – P. 375-387.
10. Bethea, W.D. Dietrich // *Curr Opin Neurol*. 2002. – V.15. – P.355-360.
11. Bogodvid, T. Effect of intranasal administration of mesenchymal stem cells on the approximate motor activity of rats after simulation of ischemic stroke / T. Bogodvid, S. Pashkevich, M. Dosina, A. Zamaro, Y. Takalchik, G. Yafarova, V. Andrianov, A. Denisov, D. Loiko, K. Gainutdinov, V. Kulchitsky // *Eur. J. Clin. Investig.* 2019. – V. 49. – P. 161.
12. Capizzi, A. Traumatic Brain Injury: An Overview of Epidemiology, Pathophysiology, and Medical Management / A. Capizzi, J. Woo, M. Verduzco-Gutierrez // *Med Clin North Am*. 2020. – V. 104, № 2. – P. 213-238.
13. Che, X. The Role of gaseous molecules in traumatic brain injury: an updated review / X. Che, Y. Fang, X. Si, J. Wang, X. Hu, C. Reis, S. Chen // *Front. Neurosci.* 2018. – V. 12. – P. 392.
14. Chen, Z.Q. The role of nitric oxide in stroke. / Z.Q. Chen, R.T. Mou, D.X. Feng, Z. Wang, G. Chen // *Med. Gas. Res.* 2017. – V. 7, №3. – P. 194-203.
15. Deryagin, O.G. Molecular bases of brain preconditioning / O.G. Deryagin, S.A. Gavrilova, Kh.L. Gainutdinov, A.V. Golubeva, V.V. Andrianov, G.G. Yafarova, S.V. Buravkov, V.B. Koshelev // *Frontiers in Neuroscience*. 2017. – V. 11. – Article 427.
16. Eggenhofer, E. The life and fate of mesenchymal stem cells / E. Eggenhofer, F. Luk, M.H. Dahlke, M.J. Hoogduijn // *Front. Immunol.* 2014. – V. 5. – P.148.
17. Garry, P.S. The role of the nitric oxide pathway in brain injury and its treatment - from bench to bedside / P.S. Garry, M. Ezra, M.J. Rowland, J. Westbrook K.T. Pattinson // *Exp. Neurol.* 2015. – V. 263. – P. 235- 243
18. Guo, Z-N. The role of nitric oxide and sympathetic control in cerebral autoregulation in the setting of subarachnoid hemorrhage and traumatic brain injury / Z-N. Guo, A. Shao, L-S. Tong, W. Sun, J. Liu, Y. Yang // *Mol. Neurobiol.* 2016. – V. 53, №6. – P. 3606-3615.
19. Harrell, C.R. Molecular mechanisms responsible for therapeutic potential of mesenchymal stem cell-derived secretome / C.R. Harrell, C. Fellabaum, N. Jovicic, V. Djonov, N. Arsenijevic, V. Volarevic // *Cells*. 2019. – V. 8, № 5. – P. 467.
20. Hogg, N. Free Detection of nitric oxide by electron paramagnetic resonance spectroscopy / N. Hogg // *Radical Biology & Medicine*. 2010. – V. 49. – P. 122-129.
21. Jakubowska, M.A. Electron paramagnetic resonance spectroscopy reveals alterations in the redox state of endogenous copper and iron complexes in photodynamic stress-induced ischemic mouse liver / M.A. Jakubowska, J. Pyka, D. Michalczyk-Wetula, K. Baczyński, M. Cieśla, A. Susz, P.E. Ferdek, B.K. Płonka, L. Fiedor, P.M. Płonka // *Redox Biol.* 2020. – V. 34. – 101566.
22. Kundi, S. The role of angiogenic and wound-healing factors after spinal cord injury in mammals / S. Kundi, R. Bicknel, Z. Ahmeda // *Neuroscience Research*. 2013. – V. 76. – P. 1-9.
23. Lukomska, B. Challenges and Controversies in Human Mesenchymal / B. Lukomska, L. Stanaszek, E. Zuba-Surma, P. Legosz, S. Sarzynska, K. Dreła // *Stem Cell Therapy. Stem Cells Int.* 2019. – 9628536.
24. Lundberg, J.O. Nitric oxide signaling in health and disease / J.O. Lundberg, E. Weitzberg // *Cell*. 2022. – V. 185. – P. 2853-2878.
25. Reutov, V.P. A model of glutamate neurotoxicity and mechanisms of the development of the typical pathological process / V.P. Reutov, N.V. Samosudova, E.G. Sorokina // *Biophysics*. 2019. – V. 64, №2. – P. 233-250.
26. Shanko, Y. Mechanisms of Neural Network Structures Recovery in Brain Trauma. Biomed. / Y. Shanko, A. Zamaro, S.Y. Takalchik, S. Koulchitsky, S. Pashkevich, E. Panahova, V. Navitskaya, M. Dosina, A. Denisov, S. Bushuk, V. Kulchitsky // *J. Sci. Tech. Res.* 2018. V. 7, №5. – P. 6148-6149.

27. Vanin, A.F. What is the mechanism of nitric oxide conversion into nitrosonium ions ensuring S-nitrosating processes in living organisms / A.F. Vanin // *Cell Biochemistry and Biophysics*. 2019.– V. 77, №4. – P. 279-292.
28. Wierónska, J.M. Nitric Oxide-Dependent Pathways as Critical Factors in the Consequences and Recovery after Brain Ischemic Hypoxia / J.M. Wierónska, P. Cie’slik, L. Kalinowski // *Biomolecules*. 2021. – V. 11. – P. 1097.
29. Yurtaeva, S.V. EPR Detection of Iron Storage in Rat Tissues After Simulated Microgravity / S.V. Yurtaeva, V.N. Efimov, G.G. Yafarova, A.A. Ereemeev, V.S. Iyudin, A.A. Rodionov, Kh.L. Gainutdinov, I.V. Yatsyk // *Model. Appl. Magn. Reson*. 2016. –V.47, №6. – P.555-565.

#### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Гайнутдинов Халил Латыпович (Gainutdinov Khalil Latypovich) – доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник; Казанский физико-технический институт – обособленное структурное подразделение ФИЦ КазНЦ РАН, Россия, 420029, г. Казань, ул. Сибирский тракт, д. 10/7; ведущий научный сотрудник НИЛ «Нейромодуляция»; ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»; профессор кафедры физиологии человека и животных; ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Россия, 420008, г. Казань, ул. Кремлевская, д. 18; kh\_gainutdinov@mail.ru; ORCID: 0000-0003-2649-3264

Андрианов Вячеслав Вадимович (Andrianov Vyacheslav Vadimovich) – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник НИЛ «Нейромодуляция», Россия, 420008, г. Казань, ул. Кремлевская, д. 18; ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», старший научный сотрудник; Казанский физико-технический институт – обособленное структурное подразделение ФИЦ КазНЦ РАН, Россия, 420029, г. Казань, ул. Сибирский тракт, д. 10/7; slava\_snail@yahoo.com; ORCID: 0000-0002-2471-5444

Яфарова Гузель Гульусовна (Yafarova Guzel Gulusovna) – кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии человека и животных Института фундаментальной медицины и биологии; Казанский (Приволжский) федеральный университет, Россия, 420008, г. Казань, ул. Кремлевская, д. 18; старший научный сотрудник лаборатории спиновой физики и спиновой химии; Казанский физико-технический институт КазНЦ РАН, Россия, 420029, г. Казань, ул. Сибирский тракт, д. 10/7; gusadila@mail.ru; ORCID: 0000-0003-3068-3407

Базан Лия Вячеславовна (Bazan Liya Vyacheslavovna) – кандидат физико-математических наук, научный сотрудник лаборатории спиновой физики и спиновой химии; Казанский физико-технический институт – обособленное структурное подразделение ФИЦ КазНЦ РАН, Россия, 420029, г. Казань, ул. Сибирский тракт, д. 10/7; доцент Института физики ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Россия, 420008, г. Казань, ул. Кремлевская, д. 18; l\_v\_bazan@mail.ru; ORCID: 0000-0002-8321-9344

Богодвид Татьяна Халиловна (Bogodvid Tatyana Khalilovna) – доктор биологических наук, доцент; Поволжский государственный университет физической культуры, спорта и туризма, Россия, г. Казань, деревня Универсиады, 35; старший научный сотрудник OpenLab «Нейромодуляция» ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», 420008, Россия, г. Казань, ул. Кремлевская, д. 18; tat-gain@mail.ru; ORCID: 0000-0002-1416-7595

Филиппович Татьяна Александровна (Filipovich Tatyana Alexandrovna) – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник; Институт физиологии НАН Беларуси, Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, д. 28; semionik88@mail.ru; ORCID: 0000-0003-4821-5847

Кульчицкий Владимир Адамович (Kulchitsky Vladimir Adamovich) – доктор медицинских наук, профессор, академик НАН Беларуси, зав. Центром мозга; Институт физиологии НАН Беларуси, Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, д. 28; vladi@fizio.bas-net.by; ORCID: 0000-0003-1223-646X

Поступила в редакцию 10 апреля 2024 г.

Принята к публикации 10 мая 2024 г.

#### ОБРАЗЕЦ ЦИТИРОВАНИЯ

Гайнутдинов, Х.Л. Влияние сочетанной травмы головного и спинного мозга и введения мезенхимальных стволовых клеток на содержание оксида азота и меди в лобных долях мозга крыс / Х.Л. Гайнутдинов, В.В. Андрианов, Г.Г. Яфарова, Л.В. Базан, Т.Х. Богодвид, Т.А. Филиппович, В.А. Кульчицкий // *Наука и спорт: современные тенденции*. – 2024. – Т. 12, № 2 – С. 8-17. DOI: 10.36028/2308-8826-2024-12-2-8-17

#### FOR CITATION

Gainutdinov H.L., Andrianov V.V., Yafarova G.G., Bazan L.V., Bogodvid T.H., Filipovich T.A., Kulchitsky V.A. Influence of combined brain and spinal cord injury and introduction of mesenchymal stem cells on content of nitric oxide and copper in the frontal lobe of the rat brain. *Science and sport: current trends*, 2024, vol. 12, no. 2. – pp. 8-17. DOI: 10.36028/2308-8826-2024-12-2-8-17