ISSN print 2414-4517, ISSN online 2710-1487, https://ecm.knmu.edu.ua, ecm.journal@knmu.edu.ua

УДК: 616.8-00:615.383:618.48:57.086.13:617.51-001.45:615.214.22

АНКСІОЛІТИЧНА ДІЯ КРІОКОНСЕРВОВАНОЇ СИРОВАТКИ ПЛАЦЕНТАРНОЇ КРОВІ В МОДЕЛІ ЛЕГКОЇ ВИБУХОВОЇ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВОЇ ТРАВМИ

Сальников Д.О., Прокопюк О.С.

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини
Національної академії наук України, Харків, Україна

Актуальність. Значна поширеність контузійної травми головного мозку під час збройних конфліктів та недостатня ефективність існуючих програм лікування постраждалих обумовлюють потребу в розробці нових терапевтичних підходів.

Мета. Дослідити вплив препаратів сироватки плацентарної крові людини на рівень тривожності мишей у моделі легкої вибухової черепно-мозкової травми.

Матеріали та методи. Плацентарну кров людини отримували з пуповинної вени післяпологової плаценти 38–40 тижнів гестації з фізіологічним перебігом вагітності. Експерименти проведено на мишах віком 6 місяців. Легку вибухову черепно-мозкову травму спричиняли, спрямовуючи вибухову хвилю потужністю 207 кПа на тім'яну ділянку голови тварини. Кріоконсервовану та кріосублімовану сироватки плацентарної крові людини вводили піддослідним тваринам щоденно протягом 5 діб, починаючи з першої доби після індукції моделі, у дозі 10 мкл внутрішньочеревно. Ступінь тривожності мишей визначали за показниками тесту припіднятого хрестоподібного лабіринту. Статистичний аналіз отриманих експериментальних даних проводили методом дисперсійного аналізу за допомогою програмного пакета "StatGraphics Plus 2.1" (Statgraphics Technologies, Inc., США). Дослідження виконано в рамках наукового проєкту «Кріотехнології в подоланні наслідків бойової вибухової травми головного мозку», номер державної реєстрації 0125U000872.

Етика дослідження. Дослідження проведене з дотриманням принципів Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації (1964–2024), «Загальних принципів експериментів на тваринах», ухвалених I Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001), та «Конвенції Ради Європи про захист лабораторних тварин» (Європейської серії договорів ETS 123, 1986).

Результати. Легка вибухова черепно-мозкова травма викликає у мишей стан підвищеної тривожності. Проведення у перші дні після травми 5-денного курсу ін'єкцій кріоконсервованої або кріосублімованої сироватки плацентарної крові дозволило знизити патологічну тривожність піддослідних тварин: вони продемонстрували менший відсоток загального часу перебування у закритих рукавах лабіринту, нижчі коефіцієнти надання переваги відвідуванню закритих рукавів та перебування в них, більшу середню тривалість одного епізоду перебування на платформі між рукавами лабіринту та вищу дослідницьку активність. Кріосублімована сироватка плацентарної крові не поступалась за активністю кріоконсервованій.

Висновки. Виявлений анксіолітичний ефект застосування кріоконсервованої, кріосублімованої сироватки плацентарної крові дозволяє розглядати її як перспективний засіб подолання підвищеної тривожності – патологічного наслідку вибухової черепно-мозкової травми.

Ключові слова: *неврологія, сироватка плацентарної крові, кріоконсервування, легка вибухова черепно-мозкова травма, тривожність, тест припіднятого хрестоподібного лабіринту, анксіолітична активність.*

Відповідальний автор: Сальников Д.О.
✉ 23, вул. Переяславська, м. Харків, 61016,Україна.
E-mail: sumariuk.bohdan.fpo19@bsmu.edu.ua

Corresponding author: Salnykov D.O.
✉ 23, Pereiaslavska str., Kharkiv, 61016, Ukraine.
E-mail: sumariuk.bohdan.fpo19@bsmu.edu.ua

© Сальников Д.О., Прокопюк О.С., 2025 CC BY-NC-SA © Salnykov D.O., Prokopiuk O.S., 2025

ISSN print 2414-4517, ISSN online 2710-1487, https://ecm.knmu.edu.ua, ecm.journal@knmu.edu.ua

Цитуйте українською: Сальников ДО, Прокопюк ОС.
Анксіолітична дія кріоконсервованої сироватки плацентарної крові
в моделі легкої вибухової черепно-мозкової травми.
Експериментальна і клінічна медицина. 2025;94(4):11с. In press.
https://doi.org/10.35339/ekm.2025.94.4.sap

Cite in English: Salnykov DO, Prokopiuk OS.
Anxiolitic effect of cryopreserved placentar blood serum
in a model of mild blast brain injury.
Experimental and Clinical Medicine. 2025;94(4):11p. In press.
https://doi.org/10.35339/ekm.2025.94.4.sap [in Ukrainian].

Вступ

Контузія головного мозку внаслідок вибуху є найпоширенішим типом уражень під час воєнних дій у військовослужбовців та серед цивільного населення [1; 2]. Закрита вибухова черепно-мозкова травма легкого ступеня може призводити до різноманітних несприятливих сенсорних, рухових, когнітивних та емоційних наслідків. Підвищена тривожність розвивається у більшості постраждалих і на сьогодні розглядається як предиктор несприятливого клінічного перебігу та прогнозу, неефективності лікування. Це потребує інноваційних підходів, серед яких найперспективнішою вважається регенеративна медицина, зокрема із застосуванням сироватки плацентарної крові, яка містить унікальний комплекс сполук, що онтогенетично відповідають моменту народження людини і забезпечують протекторну дію та подальший гістогенез [3]. Ефективність застосування кріоконсервованих похідних плаценти, компонентів плацентарної крові продемонстрована при лікуванні багатьох уражень і захворювань нервової системи – дисциркуляторної енцефалопатії, експериментального ішемічного інсульту, хвороби Паркінсона, травм спинного мозку [3–8]. Проте, доцільність застосування сироватки плацентарної крові в лікуванні наслідків контузій, і зокрема, такого розладу, як підвищена тривожність, не досліджувалась.

Метою даної роботи стало визначення впливу кріоконсервованої сироватки плацентарної крові людини на рівень тривожності мишей з моделлю легкої вибухової черепно-мозкової травми.

Матеріали та методи

У роботі використовували плацентарну кров людини, яку отримували з пуповинної вени післяпологової плаценти 38–40 тижнів гестації за інформованої згоди породіль.

Після ретракції кров'яного згустку проводили центрифугування зразків плацентарної крові при 2 000 об/хв протягом 10 хвилин, відокремлювали та знімали надосад – сироватку плацентарної крові (СПК). Сироватку розливали в кріопробірки (Nunc, США) об'ємом 1,0 мл та заморожували зі швидкістю 1°С/хв до температури –40°С. Частину заморожених таким чином зразків занурювали в рідкий азот, у якому вони зберігалися за температури –196°С. Частину заморожених до –40°С зразків піддавали сублімаційному сушінню за попередньо розробленою програмою. Початкова температура висушування зразків СПК складала –40°С, кінцева температура становила –30°С, тривалість сушіння – 10 годин, залишкова вологість зразків сироватки не перевищувала 2 %. Безпосередньо перед введенням тваринам кріоконсервовану сироватку (ККС) розморожували на водяній бані за температурою +40°С до утворення рідкої фази, кріосублімовану сироватку (КСС) відновлювали додаванням дистильованої деіонізованої води до загального об'єму 1,0 мл. Такі програми кріоконсервування забезпечують максимальну збереженість есенціальних сполук у сироватці плацентарної крові.

У дослідженні використано 63 самця мишей лінії BALB/c (рецесивний алель c Bagg Albino, Laboratory-Bred strain, substrain c; українською – альбіносна лабораторно виведена лінія Бейгг, сублінія c) віком 6 місяців масою 27–31 г.

Модель закритої вибухової черепно-мозкової травми легкого ступеня у тварин формували із застосуванням вдосконаленої моделі пристрою на основі пейнтбольної

ISSN print 2414-4517, ISSN online 2710-1487, https://ecm.knmu.edu.ua, ecm.journal@knmu.edu.ua

рушниці, оснащеної редуктором подачі повітря з манометром для створення вибухової хвилі заданої потужності. Вибухову хвилю потужністю 207 кПа спрямовували на тім'яну ділянку голови тварини [9]. Рівень тривожності піддослідних тварин визначали загально прийнятим методом аналізу поведінкових тестів із використанням припіднятого хрестоподібного лабіринту (ТПХЛ) [10]. У даному дослідженні використовували пристрій (*рис. 1*), який складався з двох закритих рукавів, розташованих один навпроти одного, та двох відкритих рукавів, розташованих перпендикулярно до них, і піднятих на висоту 50 см над поверхнею. Довжина всіх рукавів становила 30 см, ширина – 5 см, висота стінок закритих рукавів – 15 см. Розмір платформи на перетині рукавів становив 5×5 см.

Рис. 1. Тест припіднятого хрестоподібного лабіринту

Тривалість тесту становила 5 хв. Проводили комп'ютерний аналіз відеоспостереження за поведінкою мишей, які зазнали легкої вибухової черепно-мозкової травми (ЛВЧМТ), за такими показниками: час перебування у закритих рукавах лабіринту у відсотках від загальної тривалості тесту; коефіцієнт надання переваги перебуванню у закритих рукавах лабіринту, який розраховували шляхом визначення відношення середньої тривалості одного епізоду перебування у закритому рукаві до середньої тривалості одного епізоду перебування у відкритому рукаві; коефіцієнт надання переваги заходу до закритого рукава лабіринту, який розраховували шляхом визначення відношення кількості здійснених протягом всього тесту заходів у закриті рукави лабіринту до кількості заходів у відкриті рукави лабіринту; середню тривалість одного епізоду перебування на платформі між рукавами лабіринту (в секундах); загальну кількість зазирань під відкриті рукави лабіринту; час кожного заходу в той чи інший рукав лабіринту чи на платформу між рукавами та час виходу з них. Після цього окремо підсумовували загальний час перебування тварин в 2-х закритих рукавах, 2-х відкритих рукавах лабіринту та на платформі між рукавами лабіринту і розраховували їх відносні значення у відсотках від загальної тривалості тесту. Також підраховували загальну кількість заходів у всі рукави і окремо – у відкриті й закриті рукави.

Перед моделюванням тварин було розподілено на три паралельні групи по 21 особині в кожній. Під час моделювання легкої вибухової черепно-мозкової травми та подальшого спостереження впродовж 3-х місяців у жодній із груп смертності не зареєстровано. Кількість тварин в групах залишалась незмінною. За 3 доби до відтворення ЛВЧМТ по 7 тварин з кожної групи було протестовано із застосуванням ТПХЛ, і отримані результати використовували для порівняння з відповідними показниками кожної з трьох груп, отриманими через 3 доби, 1, 2 і 3 тижні, а також 1 і 2 місяці після моделювання ЛВЧМТ та на тлі введення СПК. Через 3 місяці після моделювання ЛВЧМТ тестування не проводили.

Тваринам першої групи, починаючи з наступної доби після моделювання ЛВЧМТ і до 5-ї включно, щоденно внутрішньочеревно вводили 100 мкл 0,9 %-вого розчину NaCl (група «без лікування»). Введення ККС (друга група) та КСС (третя група) також розпочинали з наступної доби після травми. Препарати вводили внутрішньочеревно з розрахунку 10 мкл на 25 г маси тіла, доводячи загальний об'єм до 100 мкл шляхом додавання 0,9 %-вого NaCl,

ISSN print 2414-4517, ISSN online 2710-1487, https://ecm.knmu.edu.ua, ecm.journal@knmu.edu.ua

однократно на добу, протягом 5 діб. Дозу препаратів розраховували за коефіцієнтами активності метаболізму [11, с. 81–83]. Дослідження було «сліпим»: учасник експерименту, який проводив тестування та статистичну обробку отриманих результатів, не був присутній під час введення препаратів, тоді як виконавець ін'єкцій не брав участі у тестуванні та обробці результатів тесту.

Статистичний аналіз отриманих експериментальних даних проводили за допомогою програмного пакета "StatGraphics Plus 2.1" (Statgraphics Technologies, Inc., США) шляхом дисперсійного аналізу з використанням Post hoc критеріїв Шеффе, Бонферроні, Фішера LSD та Даннетта. Для статистичного оцінювання відмінностей між показниками застосовували різні post-hoc критерії залежно від типу порівнянь. При порівнянні показників кожної експериментальної групи з відповідним показником, отриманим до травми (інтактний стан), використовували критерій Шеффе як найбільш консервативний, що мінімізує ризик помилки першого роду при множинних порівняннях. Для порівняння показників груп тварин, яким вводили кріоконсервовану (ККС) та кріосублімовану (КСС) сироватки плацентарної крові, між собою на кожному терміні дослідження застосовували критерій найменших значущих відмінностей Фішера (LSD), оскільки завданням було довести еквівалентність їхньої дії, а не виявити відмінності. Для оцінки значущості відмінностей показників кожної групи в різні терміни після травми (послідовні порівняння) використовували критерій Бонферроні з відповідною корекцією рівня значущості на множинні порівняння. Дані представлено у вигляді «середнє ± стандартна похибка середнього» ("Mean ± SEM"). Достовірності впливу фактора на досліджуваний параметр визначали за критерієм p-value. Відмінності вважали значущими при $p \leq 0,05$.

Етика дослідження

Плацентарну кров людини отримували з дотриманням принципів Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації (1964–2024).

Усі маніпуляції з тваринами проводили відповідно до «Загальних принципів експериментів на тваринах», ухвалених I Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) і узгоджених із положеннями «Конвенції Ради Європи про захист лабораторних тварин» (European Treaty Series (ETS) 123, 1986; укр. – Європейська серія договорів 1986 року).

Результати

ТПХЛ, або тест піднятого плюс лабіринту (англ. – Elevated Plus Maze test, EPM), є одним з найпоширеніших методів оцінки рівня тривожності у лабораторних гризунів [10]. У нормі гризунам притаманний вроджений потяг до дослідження нових для них ділянок, якому на заваді стоїть їх природна схильність уникати відкритих або піднятих місць. Миші в спокійному стані часто заходять у відкриті рукави лабіринту, а миші з підвищеною тривожністю частіше заходять в закриті рукави і проводять в них більше часу [12]. Час, проведений у закритих рукавах, корелює з тривогою, показуючи наскільки вона пересилює бажання досліджувати відкриті, тобто менш безпечні рукави.

Слід зазначити, що у світлу пору доби миші використаної в експерименті лінії (BALB/c), маючи можливість ховатись в укриттях, зазвичай понад половину часу проводять поза ними та демонструють при цьому доволі високу дослідницьку активність.

Аналіз результатів ТПХЛ виявив значуще збільшення відсотка загального часу перебування в закритих рукавах лабіринту у мишей з моделлю ЛВЧМТ *(рис. 2)* вже через 3 доби після травми ($p \leq 0,0001$ для групи без лікування та $p \leq 0,01$ для груп мишей, яким вводили ККС або КСС). У мишей, яким вводили ККС або КСС, даний показник був значуще нижчим, ніж у мишей, яким вводили фізіологічний розчин ($p \leq 0,0001$ в обох випадках). Через 1 тиждень після травми у нелікованих тварин було зафіксовано подальше значуще збільшення відсотка загального часу перебування в закритих рукавах лабіринту порівняно з показником, який мав місце до травми ($p \leq 0,0001$). В групах тварин, яким робили ін'єкції ККС

ISSN print 2414-4517, ISSN online 2710-1487, https://ecm.knmu.edu.ua, ecm.journal@knmu.edu.ua

або КСС (з першого по п'ятий день після моделювання ЛВЧМТ) вже через 1 тиждень даний показник відновлювався до значень інтактних тварин (p≥0,05 в обох випадках). У подальшому періоді спостереження значущих змін відсотка загального часу перебування мишей у закритих рукавах лабіринту не виявлено. Також не було значущих відмінностей між показниками груп тварин, яким вводили ККС або КСС, (p≥0,05 на кожному терміні дослідження).

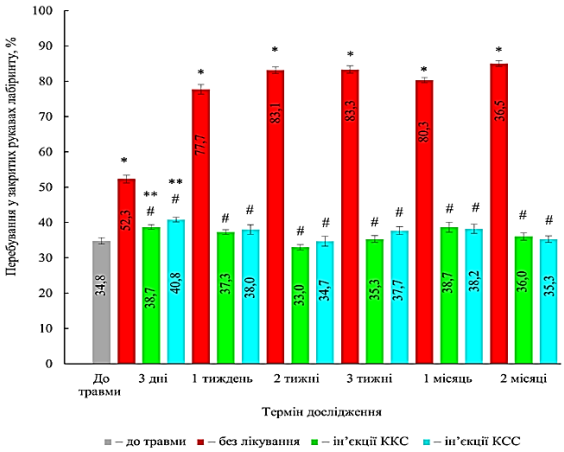

Рис. 2. Відносна тривалість перебування у закритих рукавах лабіринту

Примітки:

** – відмінності значущі по відношенню до відповідного показника до травми (p≤0,0001);*
*** – відмінності значущі по відношенню до відповідного показника до травми (p≤0,01);*
 # – відмінності значущі по відношенню до відповідного показника без лікування в той же день (p≤0,0001);
ККС – кріоконсервована сироватка;
КСС – кріосублімована сироватка.

Оскільки показовим для оцінки стану тривожності є співвідношення середньої тривалості одного епізоду перебування у закритому рукаві до середньої тривалості одного епізоду перебування у відкритому рукаві, було розраховано та проаналізовано відповідний показник. Отриманий таким чином показник розглядали як коефіцієнт надання переваги перебуванню у закритих рукавах лабіринту (*рис. 3*). Як видно з представленої діаграми, після ЛВЧМТ миші, яким вводили фізіологічний розчин (неліковані тварини), надавали перевагу перебуванню у закритих рукавах лабіринту. Уже на 3-тю добу після травми спостерігалася тенденція до підвищення цього показника порівняно з його значенням до травми, однак відмінності не були статистично значущими (p≥0,05). Починаючи з 1-го тижня після моделювання ЛВЧМТ, коефіцієнт надання переваги перебуванню у закритих рукавах лабіринту у мишей з цієї групи значно зростав (p≤0,0001) і залишався стабільно підвищеним до завершення спостереження (до 2-х місяців). У групах тварин, яким вводили ККС і КСС, уже на 3-тю добу після травми (після двох ін'єкцій) даний показник не мав значущих відмінностей від показника, отриманого до травми (p≥0,05), хоча ще не був значуще нижчим за показника нелікованих тварин. У подальші терміни спостереження коефіцієнт надання переваги перебуванню у закритих рукавах лабіринту груп мишей, яким вводили ККС або КСС, не відрізнявся від відповідного показника до травми і був значуще нижчим за показник нелікованих тварин, отриманий в той же день (p≤0,0001). Показники груп тварин, яким вводили ККС або КСС, статистично значущих відмінностей не виявлено (p≥0,05).

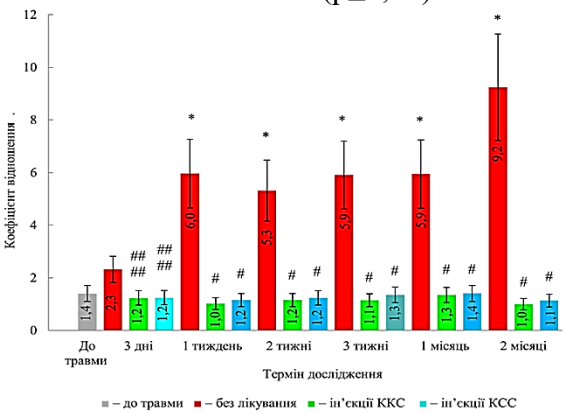

Рис. 3. Коефіцієнт надання переваги перебуванню у закритому рукаві лабіринту

Примітки:

** – відмінності значущі по відношенню до відповідного показника до травми (p≤0,0001);*
 # – відмінності значущі по відношенню до відповідного показника без лікування в той же день (p≤0,0001);
– відмінності значущі по відношенню до відповідного показника без лікування в той же день (p≤0,05);
ККС – кріоконсервована сироватка;
КСС – кріосублімована сироватка.

Отримані дані свідчать, що після ЛВЧМТ миші більш комфортно почуваються у

ISSN print 2414-4517, ISSN online 2710-1487, https://ecm.knmu.edu.ua, ecm.journal@knmu.edu.ua

закритих рукавах лабіринту, що є свідченням стресу і зростання тривожності. Додатковим підтвердженням цього є підвищення коефіцієнта надання переваги заходу до закритого рукава лабіринту (*рис. 4*).

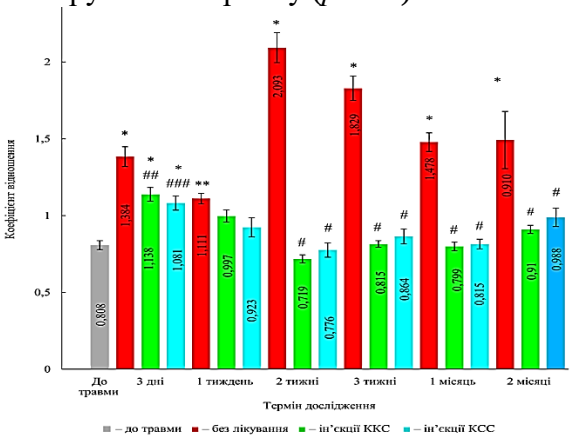

Рис. 4. Коефіцієнт надання переваги заходу до закритого рукава лабіринту

Примітки:

** – відмінності значущі по відношенню до відповідного показника до травми (p≤0,0001);*
*** – відмінності значущі по відношенню до відповідного показника до травми (p≤0,001);*
**** – відмінності значущі по відношенню до відповідного показника до травми (p≤0,01);*
 # – відмінності значущі по відношенню до відповідного показника без лікування в той же день (p≤0,0001);
– відмінності значущі по відношенню до відповідного показника без лікування в той же день (p≤0,001);
– відмінності значущі по відношенню до відповідного показника без лікування в той же день (p≤0,01);
ККС – кріоконсервована сироватка;
КСС – кріосублімована сироватка.

Зростання даного показника є результатом значного збільшення кількості переходів з одного закритого рукава лабіринту до протилежного. Якщо до травми тварини не демонстрували вираженої переваги переходу в той чи інший рукав, то вже через 3 доби після ЛВЧМТ вони набагато частіше переходили з одного закритого рукава до протилежного або повертались в той же, не наважуючись перейти до відкритого. Значуще зростання даного показника через 3 доби після моделювання ЛВЧМТ було виявлене в усіх групах (p≥0,0001 для груп без лікування та з введенням ККС і p≥0,01 для групи з введенням КСС). Через 1 тиждень після травми кількість заходів у відкриті рукави лабіринту мишей з групи без лікування дещо зменшувалася, але коефіцієнт надання переваги заходу до закритого рукава у тварин цієї групи залишався значуще вищим, ніж зафіксований до травми (p≤0,0001). Починаючи з 2-го тижня після ЛВЧМТ і до кінця терміну спостереження, даний показник у тварин цієї групи був значуще вищим не лише стосовно показника інтактних тварин (до травми), а й до показників тварин, яким робили ін'єкції ККС або КСС (p≤0,0001 в обох випадках). В групах мишей, яким вводили ККС або КСС, коефіцієнт надання переваги заходу до закритого рукава лабіринту, починаючи з 1-го тижня після моделювання у них ЛВЧМТ, знижувався до значень, отриманих до травми (p≥0,05), і залишався на одному рівні протягом всього терміну спостереження.

Додатково встановлено, що після ЛВЧМТ миші під час переходів з одного рукава лабіринту до іншого менше затримувалися на платформі між рукавами (*рис. 5*). У тварин, яким вводили 0,9 %-вий розчин NaCl, після скорочення часу перебування на платформі через 3 доби після травми (p≤0,001), в подальші терміни спостерігалося зниження даного показника більш ніж вдвічі (p≤0,0001 по відношенню до відповідного показника до травми). У багатьох випадках переходи між рукавами відбувалися стрімко, майже без затримки на платформі. Таке значне скорочення часу, який тварина витрачає на прийняття рішення про подальший напрямок руху, тобто на вибір між більш безпечними і більш цікавими для дослідження відділами лабіринту, може свідчити про панічну поведінку, що відповідає високому рівню тривожності тварин з ЛВЧМТ. У групах тварин, яким робили ін'єкції ККС або КСС, значущість відмінностей даного показника від показника до травми у різні терміни спостереження змінювалась. Через 1 місяць після ЛВЧМТ відсоток часу перебування на платформі мишей з цих груп не відрізнявся від показника до травми (p≥0,05 в обох випадках), але через 2 місяці відмінності знову ставали значущими

ISSN print 2414-4517, ISSN online 2710-1487, https://ecm.knmu.edu.ua, ecm.journal@knmu.edu.ua

(p≤0,0001 для обох груп). Ймовірно, на показниках, продемонстрованих тваринами через 1 місяць після травми, позначилось звикання тварин до умов ТПХЛ в результаті чотирьох попередніх тестувань протягом місяця, а значуще зниження даного показника після місячної перерви, навпаки, може свідчити про відвикання мишей від перебування у лабіринті. Таким чином, хоча відсоток часу перебування на платформі між рукавами лабіринту в групах мишей, яким після моделювання ЛВЧМТ робили ін'єкції ККС або КСС, через 2 місяці після травми залишався значуще нижчим від відповідного показника, визначеного до травми (p≤0,0001 для обох груп), починаючи з 1-го тижня і далі, цей показник був у 2–3 рази вищим за показник нелікованих мишей (p≤0,0001 для обох груп).

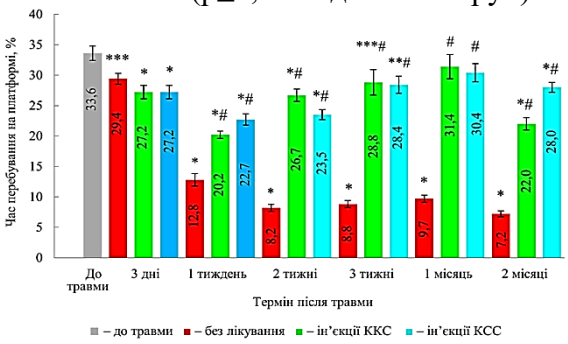

Рис. 5. Відносна тривалість перебування мишей на платформі між рукавами лабіринту

Примітки:

** – відмінності значущі по відношенню до відповідного показника до травми (p≤0,0001);*
*** – відмінності значущі по відношенню до відповідного показника до травми (p≤0,001);*
**** – відмінності значущі по відношенню до відповідного показника до травми (p≤0,01);*
 # – відмінності значущі по відношенню до відповідного показника без лікування в той же день (p≤0,0001);
ККС – кріоконсервована сироватка;
КСС – кріосублімована сироватка.

Інформативним з точки зору оцінки ступеня тривожності є також аналіз дослідницької активності піддослідних тварин. З цією метою було підраховано кількість епізодів зазирань під відкриті рукави лабіринту (*рис. 6*). Починаючи з 3-ї доби після моделювання ЛВЧМТ, миші, яким вводили 0,9 %-вий розчин NaCl, значно рідше демонстрували зацікавленість до простору під відкритим рукавом лабіринту при зменшенні кількості і тривалості епізодів їх перебування у відповідних рукавах. Через 3 доби після ЛВЧМТ цей показник у них був значуще нижчим від показника, який мав місце до травми (p≤0,0001), а через 1 та 2 тижні спостерігалось подальше зниження кількості зазирань під лабіринт відносно попереднього терміну. Починаючи з 2-го тижня і до завершення спостереження даний показник залишався незмінним. Також виявлено, що ЛВЧМТ значуще не вплинула на потяг до дослідницької діяльності мишей, яким робили ін'єкції ККС або КСС. У всі терміни тестування кількість зазирань під лабіринт мишей з цих груп була значуще вищою, ніж у групи без лікування (p≤0,0001), і не було виявлено значущих відмінностей відносно відповідного показника, отриманого до травми (p≥0,05).

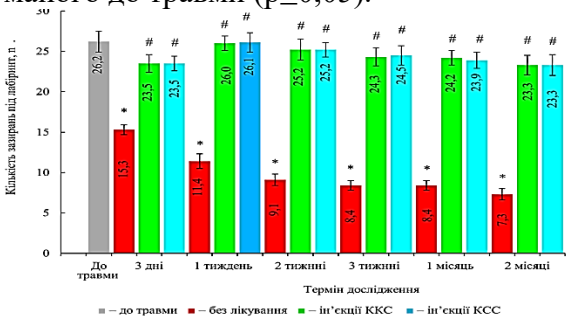

Рис. 6. Вплив легкої вибухової черепно-мозкової травми на дослідницьку активність мишей

Примітки:

** – відмінності значущі по відношенню до відповідного показника до травми (p≤0,0001);*
 # – відмінності значущі по відношенню до відповідного показника без лікування в той же день (p≤0,0001);
ККС – кріоконсервована сироватка;
КСС – кріосублімована сироватка.

Обговорення результатів

Отримані результати щодо ефективності введення кріоконсервованої та кріосублімованої сироватки плацентарної крові для подолання підвищеної тривожності після легкої вибухової черепно-мозкової травми можуть бути пояснені їхнім складом. Плацентарні гормони, нейротрасмітери, хоріонічний гонадотропін, альфа-фетопротеін, аналоги гіпоталамо-гіпофізарних релізінг-факторів, ендорфіни, фактори росту

ISSN print 2414-4517, ISSN online 2710-1487, https://ecm.knmu.edu.ua, ecm.journal@knmu.edu.ua

плацентарного походження: макрофагальний колоніестимулюючий фактор, тромбоцитарний, інсуліноподібний та трансформуючий фактори росту, фактори росту фібробластів, судинного ендотелію та інші, що містяться в СПК, розглядаються сучасними дослідженнями як чинники, які сприяють процесам саногенезу [13, с. 9–26]. Таргетна дія цих есенціальних сполук на патогенетичні ланки підвищеної тривожності, обумовленої ЛВЧМТ, ініціює регенерацію ушкоджених тканин шляхом індукції регуляторних і відновлювальних процесів, пригнічення запальних реакцій та апоптозу, активізації нейро-, гемо- та ангіогенезу, що клінічно проявляється відновленням стану і функцій ЦНС. Важливу роль може відігравати безпосередній вплив на прояви тривожності окситоцин та ендорфіни, котрі містяться в СПК у високих концентраціях. Зокрема, діючи на певні структури головного мозку (гіпоталамус, мигдалеподібне тіло, лімбічну зону), вони можуть сприяти зниженню рівня страху, тривожності та депресії, стимулюючи викид у кров серотоніну і дофаміну та знижуючи рівень кортизолу [14]. Як показали результати проведеного дослідження, кріосублімація СПК не впливає на її анксіолітичну дію. Ефективність КСС та ККС є еквівалентною.

Висновки

1. Використана в даному дослідженні експериментальна модель легкої вибухово-контузійної травми є релевантною для вивчення досліджуваної патології та розробки відповідних інноваційних терапевтичних засобів.

2. Легка вибухова черепно-мозкова травма призводить до виникнення стану підвищеної тривожності, симптоми якого зберігаються, як мінімум протягом двох місяців після травми.

3. Проведення у перші дні після легкої вибухової черепно-мозкової травми 5-денного курсу ін'єкцій сироватки плацентарної крові дозволяє знизити вираженість проявів підвищеної тривожності, зберігає когнітивні здібності (дослідницьку активність) у гострому періоді та запобігає виникненню ускладнень щонайменше протягом двох місяців.

4. Кріосублімована сироватка плацентарної крові не поступається за ефективністю кріоконсервованій в подоланні підвищеної тривожності на тлі контузійної черепно-мозкової травми, що дозволяє розглядати її як перспективний анксіолітичний засіб, придатний для застосування в польових умовах на етапі долікарняної допомоги.

Декларації

Конфлікт інтересів відсутній.

Автори надали згоду на публікацію статті на умовах ліцензії Creative Commons BA-NC-SA 4.0 International License та публічного договору з редакцією, на обробку та публікацію їх персональних даних.

Автори рукопису заявляють, що під час проведення досліджень, підготовки та редагування цього рукопису вони не використовували жодні інструменти чи сервіси генеративного штучного інтелекту (ШІ) для виконання завдань, перелічених у Таксономії делегування генеративного ШІ (Generative AI Delegation Taxonomy, GAIDeT, 2025).

Усі етапи роботи (від розробки дослідницької концепції до фінального редагування) виконувалися авторами особисто.

Фінансування та подяки

Дослідження виконано в рамках наукового проєкту «Кріотехнології в подоланні наслідків бойової вибухової травми головного мозку» програмно-цільової конкурсної тематики НАН України за пріоритетним напрямом «Розроблення сучасних біологічних та біомедичних методів, діагностичних засобів і технологій для забезпечення держави у воєнний та повоєнний час» (2025–2026), номер державної реєстрації 0125U000872.

ISSN print 2414-4517, ISSN online 2710-1487, https://ecm.knmu.edu.ua, ecm.journal@knmu.edu.ua

Внесок авторів

Внесок / Автори	A	B	C	D	E	F
Сальников Д.О.	+	+	+	+	+	+
Прокопюк О.С.	+				+	+

Примітки:
A – концепція;
B – дизайн;
C – збір даних;
D – статистична обробка та інтерпретація даних;
E – написання або критичне редагування статті;
F – схвалення фінальної версії до публікації та згода нести відповідальність за всі аспекти роботи

Література

1. Hussain SF, Raza Z, Cash ATG, Zampieri T, Mazzoli RA, Kardon R H, Gomes RSM. Traumatic brain injury and sight loss in military and veteran populations- a review. Mil Med Res. 2021;8(1):42. DOI: 10.1186/s40779-021-00334-3. PMID: 34315537

2. Sozda CN, Hoffman AN, Olsen AS, Cheng JP, Zafonte RD, Kline AE. Empirical comparison of typical and atypical environmental enrichment paradigms on functional and histological outcome after experimental traumatic brain injury. J Neurotrauma. 2010;27(6):1047-57. DOI: 10.1089/neu.2010.1313. PMID: 20334496.

3. Lychko VS, Malakhov VO, Sukach OM. Effect of cryopreserved cord blood serum on reparation processes in rat brain tissue with acute focal cerebral ischemia. Problems of Cryobiology and Cryomedicine. 2019;29(3):277-90. DOI: 10.15407/cryo29.03.277.

4. Gulevsky OK, Schenyavsk II. Antihypoxant activity of low molecular weight fraction bovine blood cryohemolysate at different stages of ontogenesis. Problems of Cryobiology and Cryomedicine. 2017;27(1):41-50. DOI: 10.15407/cryo27.01.041.

5. Shcheniavsky I, Kovalenko I, Gulevsky O. Cardioprotective effect of low molecular weight (below 5 kda) fraction of cattle cord blood cryohemolysate. Problems of Cryobiology and Cryomedicine. 2022;32(3):206-13. DOI: 10.15407/cryo32.03.206.

6. Shcheniavskyi I, Salnikov D, Chub O, Prokopiuk O. Feasibility of cord blood application in cell therapy for central nervous system pathologies. Problems of Cryobiology and Cryomedicine. 2024;34(3):165-85. DOI: 10.15407/cryo34.03.165.

7. Shcheniavskyi I, Akhatova Y. Antioxidant and antihypoxic activity of human cord blood extracts obtained with various temperature regimens of destruction of cellular elements and extraction media. Problems of Cryobiology and Cryomedicine. 2025;35(2):85-91. DOI: 10.15407/cryo35.02.085.

8. Sun JM, Kurtzberg J. Cord blood for brain injury. Cytotherapy. 2015;17(6):775-85. DOI: 10.1016/j.jcyt.2015.03.004. PMID: 25800775.

9. Guley NH, Rogers JT, Del Mar NA, Deng Y, Islam RM, D'Surney L, et al. A novel closed-head model of mild traumatic brain injury using focal primary overpressure blast to the cranium in mice. J Neurotrauma. 2016;33(4):403-22. DOI: 10.1089/neu.2015.3886. PMID: 26414413.

10. Kraeuter AK, Guest PC, Sarnyai Z. The elevated plus maze test for measuring anxiety-like behavior in rodents. Methods Mol Biol. 2019;1916:69-74. DOI: 10.1007/978-1-4939-8994-2_4. PMID: 30535682.

11. Стефанов ОВ, редактор. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації. Київ: Авіцена; 2001. 528 с.

12. File SE. The contribution of behavioural studies to the neuropharmacology of anxiety. Neuropharmacology. 1987;26(7B):877-86. DOI:10.1016/0028-3908(87)90065-7. PMID: 2821431.

ISSN print 2414-4517, ISSN online 2710-1487, https://ecm.knmu.edu.ua, ecm.journal@knmu.edu.ua

13. Гулевський АК, Щенявський ІІ, Нікольченко АА. Пуповинна кров та її компоненти: біологічні особливості, клінічне застосування, зберігання в кріобанках. Харків: ВД «Райдер»; 2017. 344 с.

14. Prokopyuk VYu, Karpenko VG, Shevchenko MV, Safonov RA, Pasieshvili NM, Lazurenko VV, et al. Experience in clinical application of cryopreserved placental derivatives: cells, tissue, membranes, extract, and cord blood serum. Innov. Biosyst. Bioeng. 2020;4(3):160-8. DOI: 10.20535/ibb.2020.4.3.215215.

Salnykov D.O., Prokopiuk O.S.

ANXIOLITIC EFFECT OF CRYOPRESERVED PLACENTAR BLOOD SERUM IN A MODEL OF MILD BLAST BRAIN INJURY

Background. The significant prevalence of traumatic brain injury during armed conflicts and the insufficient effectiveness of existing treatment programs for victims necessitates the development of new therapeutic approaches.

Aim. To investigate the effect of cryopreserved human placental blood serum on the level of anxiety in mice with a model of mild blast-induced traumatic brain injury.

Materials and Methods. Human placental blood was obtained from the umbilical vein of postpartum placenta weeks of gestation with a physiological course of pregnancy. Experiments were conducted on 6-month-old mice. Human placental blood was obtained from the umbilical vein of postpartum placenta 38–40 weeks of gestation with a physiological course of pregnancy. Experiments were conducted on 6-month-old mice. Statistical analysis of the obtained experimental data was performed by analysis of variance using the software package "StatGraphics Plus 2.1" (Statgraphics Technologies, Inc., USA). The study was carried out within the framework of the scientific project "Cryotechnologies in overcoming the consequences of combat blast-induced brain injury", state registration number 0125U000872.

Research Ethics. Human placental blood was obtained with informed consent of parturient women in compliance with the principles of the World Medical Association Declaration of Helsinki (1964–2024). All manipulations with animals were carried out in accordance with the "General Principles of Animal Experiments" adopted by the First National Congress on Bioethics (Kyiv, 2001) and consistent with the provisions of the "Convention of the Council of Europe for the Protection of Laboratory Animals" (ETS 123, 1986).

Results. Analysis of the obtained data proves that mild blast-induced craniocerebral trauma leads to increased anxiety in mice. Conducting a 5-day course of injections of cryopreserved or cryosublimated cord blood serum in the first days after the injury reduces pathological anxiety of experimental animals, which demonstrated a lower percentage of the total time spent in the closed arms of the maze, lower coefficients of preference for visiting and staying in the closed arms of the maze, a longer average duration of one episode of staying on the platform between the arms of the maze and higher exploratory activity. Cryosublimated cord blood serum was not inferior in activity to cryopreserved

Conclusions. The revealed anxiolytic effect of the use of cryopreserved, cryosublimated placental blood serum allows us to consider it as a promising means of overcoming increased anxiety – a pathological consequence of mild blast-induced craniocerebral trauma.

Keywords: *neurology, placental blood serum, cryopreservation, mild traumatic brain injury, anxiety, elevated plus maze test, anxiolytic activity.*

Надійшла 03.10.2025
Прийнята до опублікування 29.12.2025
Опублікована 31.12.2025

ISSN print 2414-4517, ISSN online 2710-1487, https://ecm.knmu.edu.ua, ecm.journal@knmu.edu.ua

Відомості про авторів

Сальников Дмитро Олександрович – аспірант Інституту проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України, Харків.
Поштова адреса: 23, вул. Переяславська, м. Харків, 61016, Україна.
E-mail: dmytrosalnykov1@gmail.com
ORCID: 0009-0003-7183-2517.

Прокопюк Ольга Степанівна – доктор медичних наук, професор, головний науковий співробітник відділу холодової адаптації, заступник директора з наукової роботи Інституту проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України, Харків.
Поштова адреса: 23, вул. Переяславська, м. Харків, 61016, Україна.
E-mail: o.s.prokopiuk@gmail.com
ORCID: 0000-0002-3155-7755.