

**RESPUBLİKA ELMİ TƏDQİQATLARIN ƏLAQƏLƏNDİRİLMƏSİ
ŞURASI**

<i>Təşkilatın adı</i>	Azərbaycan Respublikası Səhiyyə Nazirliyi Azərbaycan Tibb Universiteti
<i>Sənəddinnövü</i>	Tibb üzrə Elmlər Doktoru adını almaq üçün Dissertasiya işinin ANNOTASIYASI
<i>Tədqiqat işinin adı</i>	Baş beyində neyroiltihab zamanı kök hüceyrə mənşəli ekzosomların effektivliyinin morfo-funksional xarakteristikası
<i>Dissertasiya mövzusunun aid olduğu elmi problemin adı</i>	İltihab zamanı baş beynin ayrı-ayrı hissələrinin morfo-funksional cəhətdən öyrənilməsi Kök hüceyrə mənşəli ekzosomların sinir sistemi xəstəliklərində tətbiqi
<i>Qeydiyyatda alındığı Elmi Şuranın adı</i>	Azərbaycan Tibb Universitetinin Elmi Şurası
<i>Qeydiyyat tarixi</i>	
<i>İxtisas şifri</i>	2407.01
<i>İxtisasın adı</i>	Hüceyrə biologiyası, sitologiya və histologiya
<i>İcarçının statusu</i>	Dissertant
<i>İcraçı</i>	Əyyubova Günel Maarif qızı
<i>Təvəllüdü</i>	1977
<i>Cinsi</i>	qadın
<i>İş yeri və vəzifəsi</i>	Azərbaycan Tibb Universitetinin Sitologiya, embriologiya və histologiya kafedrası, Baş müəllim, tibb üzrə fəlsəfə doktoru
<i>Əlaqə</i>	gunel.ayubova@gmail.com
<i>Elmiməsləhətçi</i>	ATU-nun Sitologiya, embriologiya və histologiya kafedrasının müdiri, tibb üzrə elmlər doktoru, professor Eldar Köçəri oğlu Qasımov
<i>Sponsor</i>	ABŞ-ın Dövlət Departamenti tərəfindən maliyyələşdirilən Fulbright qrantı (tədqiqatın müəyyən hissəsi)

<i>Tədqiqatın yerinə yetiriləcəyi yerli təşkilat</i>	Azərbaycan Tıbb Universiteti Bakı şəhəri, Ənvər Qasımzadə küçəsi 14
<i>Təşkilatın əlaqə məlumatları</i>	Tel. faks, (+994 12) 597-38-98 e-mail: rector@amu.edu.az
<i>Tədqiqatın yerinə yetiriləcəyi xarici təşkilat (lar)</i>	Türkiyə Respublikası, İstanbul Universiteti Cərrahpaşa Tibb Fakültəsi Nevrologiya kafedrası. Amerika Birləşmiş Ştatları Texas A&M Universitetinin Regenerativ Təbabət İnstitutu, Molekulyar və Hüceyrəvi Təbabət kafedrası
<i>Şəhər və il</i>	Bakı- 2021
<i>Koordinasiya şurasına ilkin və sonrakı müraciət tarixi</i>	
<i>AMEA qeydiyyat nömrəsi</i>	
<i>Qeydiyyat tarixi</i>	
<i>Müdafiə tarixi</i>	
<i>Tədqiqatın sahəsi və istiqaməti</i>	Molekulyar biologiya
<i>Etika komissiyasının qərarı</i>	
<i>Maraqların toqquşması</i>	Yoxdur

TƏDQIQATIN MƏZMUNU

<i>İşin adı</i>	Baş beyində neyroiltihab zamanı kök hüceyrə mənşəli ekzosomların effektivliyinin morfo-funksional xarakteristikası
<i>İşin abstraktı</i>	
	<p><i>Problem:</i> İstər eksperimental, istərsə də klinik tədqiqatlar nəticəsində sübut olunmuşdur ki, baş beyində inkişaf edən iltihabi proseslər bir çox neyrodegenerativ xəstəliklərinin, o cümlədən Alzheimer xəstəliyinin (AX) inkişafı və progressivləşməsində başlıca rol oynayır. Mərkəzi sinir sistemində mövcud olan sinir kök hüceyrələrinin (SKH) toxuma bərpasındakı rolu onların lazımi hüceyrələrə diferensiasiya etməsi ilə yanaşı, bir çox maddələrin, xüsusilə də ekzosomların ifrazı ilə bağlıdır. Belə ki, SKH mənşəli ekzosomlar neyroprotektiv, antiapoptotik, antioksidant, iltihab əleyhinə, hematoensefalik baryeri bərpa etmək imkanlarına malik zülallar, mikro-RNT-lər və mRNT-ləri ilə zəngindir. Ekzosomların neyrogenezə, sinaptogenezə müsbət təsiri və beyin toxumasında amiloid betta zülalının miqdarını azaltmaq xüsusiyyətləri onları neyrodegenerativ xəstəliklərin müalicəsində cəlbedici edir.</p> <p>Ekzosomlar kök hüceyrələrə xas xüsusiyyətləri özündə əks etdirdiyi üçün onlara regenerativ təbabətdə kök hüceyrə terapiyasının alternativini kimi baxılır. Kök hüceyrələri mənşəli ekzosomların bir sıra sinir sistemi patologiyalarında, o cümlədən işemiya, epilepsiya, beyin travmaları zamanı təsirinə öyrənilməsinə baxmayaraq baş beyindəki iltihabi proseslərdə onların effektivliyi hələ də öyrənilməmişdir.</p> <p><i>Məqsəd:</i> Kök hüceyrələri mənşəli ekzosomların eksperimental iltihab modellərində baş beyində inkişaf edən morfo-funksional dəyişikliklərə təsirinə molekulyar, sitoloji, histoloji, biokimyəvi və ultrastruktur tədqiqat üsulları ilə öyrənilməsidir.</p> <p><i>Material və metodlar:</i></p> <p>Əvvəlcə xüsusi biomühəndislik üsulları vasitəsilə qidalı mühitdə insanın törədilmiş kök hüceyrələri yetişdiriləcək, onlardan sinir kök hüceyrələri alınacaq. Daha sonra sinir kök hüceyrələrindən xaric olunan ekzosomlar təmizlənərək toplanacaq və xromotografiya üsulları ilə ekstraksiya olunacaq. Əldə olunmuş ekzosomların miqdarı, ölçüləri və markerləri Nanosayt, ELİSA, Vestern blot üsulları, eləcə də elektron mikroskopiyaya</p>

vasitəsilə təyin olunacaq.

Protokolda nömrələnmiş 50 baş eksperimental siçan – 3 qrupa bölünəcəkdir:

I-ci nəzarət qrupdakı intaktlığı təsdiq olunmuş 10 baş laborator heyvanın periton daxilinə yalnız fizioloji məhlul yeridiləcək və digər qruplarla müqayisə aparılacaqdır.

II-ci qrupda – 20 baş laborator heyvan nəzərdə tutulur. Hər birində 10 baş olmaqla laborator heyvanlar 2 yarımqrupa bölünəcəkdir. Onlardan 1-ci yarımqrupa aid olan 10 baş heyvana 7 gün ərzində periton daxilinə 0,75mq/kq olmaqla lipopolisaxarid (LPS) yeridiləcəkdir. 2-ci yarımqrupdakı 10 heyvana isə periton daxilinə yalnız bir inyeksiya olmaqla 90 mq/kq streptozosin yeridiləcəkdir.

III-cü qrupda da eyni qayda ilə – 20 baş laborator heyvan nəzərdə tutulur. Hər birində 10 baş olmaqla laborator heyvanlar 2 yarımqrupa bölünəcəkdir. Onlardan 1-ci yarımqrupa aid olan 10 baş heyvana 7 gün ərzində periton daxilinə 0,75mq/kq olmaqla lipopolisaxarid (LPS) yeridiləcəkdir. 2-ci yarımqrupdakı 10 heyvana isə periton daxilinə yalnız bir inyeksiya olmaqla 90 mq/kq streptozosin yeridiləcəkdir.

Lakin, III-cü qrupa aid olan 20 baş laborator heyvanın hər birinə 2-ci həftə ərzində əlavə olaraq burun daxilinə ekzosomlar yeridiləcəkdir.

Bundan sonra hər üç qrupa aid heyvanların beyin funksiyalarını yoxlamaq məqsədilə davranış testləri aparılacaqdır. Streptozosin yeridildəndən bir həftə sonra heyvanların qanında şəkərin miqdarı yoxlanılacaqdır və bu rəqəmlər ≥ 11.2 mmol/L təşkil edən heyvanlar təcrübə üçün yararlı hesab ediləcəkdir. Təcrübəyə başladıqdan 20 gün sonra heyvanlar dekapitasiya olunacaqdır. Hər üç qrupa aid olan dekapitasiya olunmuş heyvanların baş beyin tikələri və qanı götürülərək histoloji və biokimyəvi tədqiqatlar üçün istifadə ediləcəkdir.

Metodlar: hüceyrə kulturası, xromotografiya, Vestern blot, Nanosayt üsullarından istifadə etməklə kök hüceyrələrinin yetişdirilməsi, ekzosomların əldə edilməsi və təhlili. Fizioloji metodların tətbiqi ilə heyvanlarda müxtəlif davranış testlərinin aparılması. Əldə olunmuş beyin toxuması kəsikləri histoloji, biokimyəvi, immunohistokimyəvi, immunofluoressent üsullarla işləndikdən sonra adi işıq, fluoressent, konfokal və elektron mikroskopu vasitəsilə öyrəniləcəkdir. Qanın biokimyəvi analizləri, şəkərin, müəyyən zülalların, iltihab sitokinlərinin təyini. Statistik metodlar.

	<p>əsas qiymətləndirmə kriteriyası – II-ci və III-cü qruplarda olan heyvanlardan götürülmüş beyin tikələrinin, eləcə də qan nümunələrinin göstəriciləri əsas götürüləcəkdir. Belə ki, hər iki qrup heyvanlarda peritondaxilinə LPS və streptozosin yeritməklə iltihab modeli yaradılmış olacaqdır. Bununla belə, III-cü qrupdakı heyvanlara burundaxili olmaqla həmçinin ekzosomlar da yeridilmişdir. Bu səbəbdən, əvvəlcə baş beynin ayrı-ayrı hissələrindən əldə olunmuş ardıcıl kəsiklərdə iltihab fonunda istər sinir-qliya qarşılıqlı əlaqələrində, istərsə də beyin qişaları və damarlarında baş vermiş struktur dəyişikliklər öyrəniləcək, sonra isə kök hüceyrələri mənşəli ekzosomların həmin dəyişikliklərə təsiri tədqiq olunacaqdır.</p> <p>əlavəqiymətləndirmə kriteriyası – Eksperimental iltihab modelininyaradıldığı gündə periton daxilinə uyğun miqdarda yalnız fizioloji məhlul yeridilmiş nəzarət qrupundakı 10 baş siçan da II və III qrupların vaxtına uyğun tədqiq edilib əsas qruplarla müqayisəsi aparılacaqdır. Biokimyəvi və histoloji analizlərin nəticələri və morfometrik göstəricilər də istifadə ediləcəkdir. Alınan məlumatları statistik işləməklə dürüstlük təmin olunacaqdır.</p>
Açarsözlər	Sinirkökhüceyrələri, ekzosomlar, xromatoqrafiya,hipokampus, neyroiltihab, neyrodegenerasiya, lipopolisaxarid
Obyektinə görə işin növü	Fundamental
Məqsədinə görə işin növü	Elmi-nəzəri
Vaxta görə işin növü	Prospektiv
Randomizə üsulu	Randomizə - kontrol
Obyekt - material	50 baş erkək siçan müayinə ediləcək Müayinə materialları – baş beynin ardıcıl kəsikləri, qan nümunələri olacaq
Daxil etmə kriteriyaları	Çəkisi 28-35 qram olan 12 həftəlik erkək sağlam siçanlar
Çıxarma kriteriyaları	Çəkisi 28 qramdan az, 35 qramdan çox olan, dişi, xəstə siçanlar qrupa daxil edilməyəcəkdir

<p>Statistik və riyazi işləmələr</p>	<p>Statistik analizlərin təhlili parametrik meyar kimi T-Styudent, One-Uey ANOVA, qeyri-parametrik meyar kimi U-Uikokson-Mann-Uitni metodlarından istifadə etməklə aparılacaqdır. Bütün statistik hesablamaların Excel-elektron cədvəli vasitəsilə aparılması nəzərdə tutulur.</p>
<p>Aktuallığı</p>	<p>Aparılmış eksperimental tədqiqatlar sübut etmişdir ki, neyroiltihab bir çox nevroloji xəstəliklərlə əlaqəli neyrodegenerativ proseslərə başlanğıc verən və onları progressivləşdirən əsas patoloji faktordur. Neyrodegenerativ xəstəliklər içərisində xüsusilə ahıl yaşlarda müşahidə edilən Alzheimer xəstəliyi, Parkinson xəstəliyi və amiotrofik yan skleroz daha çox rast gəlinir [1, 16, 17]. Məlumdur ki, iltihabi proseslərin ilk mərhələlərində miqdarı artmış sitokinlər sinir sisteminin immun hüceyrələri olan mikroqliositləri aktivləşdirir ki, bu da toxumanın qorunmasını təmin edir [1, 2, 3, 5, 6]. Lakin, immun mediatorların uzunmüddətli ekspressiyası baş beyində destruktiv fəsadlara səbəb olur. Alzheimer xəstəliyi - baş beyin yarımkürələr qabığı və hipokampusda yerləşən neyronların ölümü ilə xarakterizə olunan neyrodegenerativ xəstəlik olub, dünya üzrə rast gəlinən demensiyaların 60-80% -ni təşkil edir [23]. Mütəxəssislər tərəfindən bir çox sensasiyalı açıqlamalar verilsə də, hal-hazırda Alzheimer demensiyasında sinir hüceyrələrinin məhvinin qarşısını alan müalicə vasitəsi hələ də tapılmayıb. Müalicəsi üçün təklif olunan dərman vasitələrinin 99,6%-i uğursuz olur. Xəstəliyin irsi genetik mutasiyalar səbəbli ailəvi forması (Familiar Alzheimer Disease) xəstələrin yalnız 5%-ndə rast gəlinəndə, onların 95%-də sporadik forma(Sporadik Alzheimer Disesase) müşahidə edilir. Bu səbəbdən də, xəstəliyin həyat tərzini də daxil etməklə müxtəlif səbəbləri olan sporadik forması tədqiqatçıların daha çox diqqətini cəlb edir. Alzheimer xəstəliyinin eksperimental şəraitdə öyrənilməsi ya geni dəyişdirilmiş heyvanlar, yaxud da artıq standart metod kimi qəbul olunmuş LPS-in və ya streptozosinin orqanizmə yeridilməsi ilə əldə olunan iltihab modellərində aparılır. Məlum olduğu kimi, LPS qrammənfi bakteriyaların xarici hüceyrə divarının komponentidir. Alzheimer xəstələrinin bağırsaqlarında qrammənfi bakteriyaların, baş beyinində və qan plazmasında isə</p>

sərbəst LPS-in miqdarı 3-4 dəfə artmış olur. Həmin bakteriyalar tərəfindən artıq miqdarda ifraz olunan LPS bağırsağ epitelinin baryer funksiyasını pozur. Nəticədə, qanda sirkulyasiya edən LPS hematoensefalik baryeri keçərək baş beyin müxtəlif hissələrində neyroiltihab törədir. Anadangəlmə immun sistemi hüceyrələrində TLR4-ü (Toll-like reseptor) stimullaşdıran patogenlərlə əlaqəli molekulyar strukturlardan (pathogen-associated molecular patterns PAMPs) biri olaraq tanınır. Peritondaxili yeridilmiş LPS buradakı makrofaqlar və dendritik hüceyrələri aktivləşdirir ki, bu da interleykin1 (İL1) sintezini artıraraq orqanizmdə sistemli iltihab törədir. Bu zaman digər iltihab sitokinlərinin, azot oksidi törəmələrinin, prostaqlandinlərin miqdarı artır. MSS-də LPS mikroqliya hüceyrələrində olan Toll-bənzər reseptor 4 (TLR-4)-ə birləşir, və onları aktivləşdirir. Nəticədə, periferik orqanlarda olduğu kimi, baş beyində də miqdarı artmış TNF- α , IL-1 β , prostaqlandin E2 (PGE2) və NO kimi iltihab sitokinləri neyroiltihab prosesinə səbəb olur. TLR-4-ün aktivləşməsi həmçinin sinir hüceyrələrinin ölümünə gətirib çıxarır. Bundan əlavə, LPS-in heyvanlara yeridilməsi onlarda neyrodegenerativ xəstəliklərdə olduğu kimi, idrak pozuntularına, anoreksiya, adinamiya, çəki itkisi, ümumi davranış pozuntuları və depressiyalara səbəb olur. Bu səbəbdən də, neyroiltihab və onun fəsadı olan neyrodegenerasiyanın öyrənilməsində LPS-dən geniş istifadə edilir. LPS AX-nin etiopatogenezdə oynadığı çoxşaxəli roluna misal olaraq həmçinin onun β - və γ -sekretaza fermentlərinin aktivliyini artırmasını da göstərmək olar. Digər bir tərəfdən, müəyyən edilmişdir ki, eksperimental şəraitdə şəkərli diabet və AX modellərinin yaradılması məqsədilə geniş istifadə edilən streptozosinin təsirindən heyvanların baş beyində insulina rezistentlik inkişaf edir. Bu zaman AX-də olduğu kimi, koqnitiv, neyrokimyəvi və histoloji dəyişikliklər müşahidə edilir. Sərbəst oksigen radikallarının, azot oksidi törəmələrinin miqdarı artır, neyroiltihab inkişaf edir, tau və amiloid betta zülalının hiperfosforlaşması baş verir. Beyində enerji metabolizminin pozulması nəticəsində asetil koenzim A və asetilxolinin sintezi azalır. Nəticədə, neyronlar arasındakı xolinergik ötürülmə pozulur, xolin asetiltransferaza fermentinin çatışmazlığı fonunda xolinergik

defisit yaranır. Oksidativ stresslə müşahidə edilən neyroiltihab son nəticə olaraq AX inkişafına səbəb olur[7, 8].

Son zamanlar kök hüceyrələrin terapevtik vasitə kimi tətbiqi bir çox patologiyalarda artıq sınaqdan keçirilmişdir. Bundan əlavə, çoxşaxəli təsir xüsusiyyətləri kök hüceyrələri, eləcə də onlardan xaric olunan maddələrin neyrodegenerativ xəstəliklərdə də tətbiqi üçün zəmin yaradır[7, 9]. Son illərin elmi araşdırmaları beyində yaranan nevroloji simptomların sinir kök hüceyrələri (SKH) vasitəsi ilə müalicə oluna biləcəyini göstərmişdir [10, 11, 12, 13, 14, 16]. Bununla belə, məlum olmuşdur ki, kök hüceyrələrin terapevtik effektləri daha çox onlardan xaric olunan ekzosomların təsiri ilə əlaqəlidir [15, 17, 18]. Ekzosomların terapevtik effektlərinə anti-oksidativ, pro-angiogenik, anti-apoptotik, neyroprotector və immunomodulyator təsirlər aid edilmişdir [4, 19, 22]. Bundan əlavə, SKH mənşəli ekzosomlar yaddaş mexanizmlərinə müsbət təsiri, immunogenliyinin zəif olması[20], toxumalarda sərbəst yayılması, hematoensefalik bəyerdən sərbəst keçməsi ilə seçilir [4, 17, 21]. AX olan transgen siçanların yan mədəciklərinə SKH-ekzosomlarının yeridilməsi amiloid zülalının miqdarında dəyişiklik törətməsə də idrak pozuntularına effektiv təsir göstərmişdir [13]. Göstərilənləri nəzərə alaraq iltihab modellərində baş beyin ayrı-ayrı şöbələrində müşahidə edilən struktur və funksional dəyişkənliklərin araşdırılmasını və kök hüceyrələrindən xaric olunan ekzosomların bu dəyişkənliklərə təsirinin öyrənilməsini aktual hesab edirik.

Vəzifələr

1. İnsanın törədilmiş kök hüceyrələrini qidalı mühitdə yetişdirmə metodlarını mənimsəmək, onlardan sinir kök hüceyrələrini almaq, sonunculardan isə ekzosomları əldə etmək;
2. Qidalı mühit mayesinin tərkibindəki ekzosomların xromatoqrafiya metodları ilə ekstraksiyası üsullarını təhlil etmək; Ekzosomların tərkibini genetik və molekulyar metodların köməyi ilə araşdıraraq onları xarakterizə etmək;
3. Heyvanları üç qrupa bölmək və eksperimental heyvanlara peritondaxili LPS və ya streptozosin yeritmək; üçüncü qrupdakı heyvanlara isə əlavə olaraq burun daxilinə ekzosomları yeritmək;
4. Hər üç qrupa aid olan heyvanlarda beyin funksiyalarının təhlili məqsədi ilə davranış testləri aparmaq;
5. Davranış testlərini bitirdikdən sonra dekapitasiya olunmuş hər üç qrupa aid heyvanların beyin toxuması kəsiklərində və qan nümunələrində histoloji və biokimyəvi analizlər aparmaq;
6. Hər üç qrupa aid heyvanlarda baş beyin müxtəlif şöbələrinin

	struktur xüsusiyyətlərini mikroskopiyanın müxtəlif növlərindən istifadə edərək öyrənmək, stereometrik və statistik analizlər aparmaq.
Orjinallıq (yeniliyi)	<p>Məlumdur ki, yetkin məməlilərin baş beyində mövcud olan sinir kök hüceyrələrindən (SKH) yeni neyronların yaranması baş verir. Neyrogenез adlanan bu proses yetkin beyin toxumasının əqli və psixi cəhətdən sağlam saxlanılmasında mühüm rol oynayır [20, 21]. Yaşlanma və müxtəlif nevroloji xəstəliklər nəticəsində isə neyrogenезin pozulması müşahidə edilir. Son zamanların elmi araşdırmaları göstərmişdir ki, zədələnmiş beyin toxumasında SKH-lərin faydalı təsirləri yalnız onların yeni neyronlara differensiasiya etmək qabiliyyəti ilə deyil, həm də və daha çox onların ifraz etdikləri molekullar ilə əlaqəlidir [18]. SKH-in funksiyaları haqda əldə olunmuş məlumatlar göstərmişdir ki, əslində bu hüceyrələr bir çox müalicəvi xüsusiyyətlərə malik molekullar ifraz edən endogen “fabrikləri” təşkil edir [20, 21]. Sekresiya olunan maddələrə böyümə faktorları, sitokinlər, xemokinlər və ekzosomlar aiddir [12, 13, 14]. Müəyyən olunmuşdur ki, SKH-dən ifraz olunan maddələr iltihab əleyhinə, neyrogen və neyrotrofik təsirlərlə yanaşı, həmçinin antioksidant xüsusiyyətlərə malik olub yeridilmiş hüceyrələri oksidləşdirici zədələnmədən qoruyur. Bu xüsusiyyət oksidləşdirici stress və mitoxondrial disfunksiyanın daha qabarıq şəkildə özünü biruzə verdiyi neyrodegenerasiya ilə nəticələnən xəstəliklərdə əhəmiyyətli rol oynayır.</p> <p>Son zamanlar sinir kök hüceyrələri (SKH) mənşəli ekzosomların tətbiqi tibb elminin yeni inkişafda olan istiqamətlərindən birinə çevrilmişdir [20]. Ekzosomlar eukariotik hüceyrələrin böyük əksəriyyətinin endosomal kompartmentində yaranır və diametri 50-150nm təşkil edir. Zədələnmiş toxumaların bərpası və regenerasiyasına müsbət təsir göstərən ekzosomların tətbiqinin kök hüceyrələrlə müqayisədə bir çox üstünlükləri vardır. Belə ki, ekzosomların hüceyrələrə təsiri zamanı donor-resipient uyğunluğuna ehtiyac qalmır, onların şişirətmə potensialı olmur və bədəne yeridildikdə damarlarda tıxac yaratmırlar. Bundan əlavə, ekzosomların asanlıqla qablaşdırılmaq, dondurularaq daşınmaq imkanlarına malik olması və qeyri-invaziv olaraq bədəne yeridilmə imkanları onların tətbiqini daha da cəzbedici edir. Baş beyində işemiya modelində SKH mənşəli ekzosomların effektivliyi mezenxim kök hüceyrələrindən xaric olunan ekzosomlarla müqayisədə daha çox olmuşdur [8, 9]. Zədələnmiş</p>

	<p>neyronlarda isə ekzosomlar aksonların böyüməsi və regenerasiyasına müsbət təsir göstərir.</p> <p>Bütün yuxarıda göstərilənlər kök hüceyrələri mənşəli ekzosomların neyroiltihab zamanı və xronik iltihabın fəsadı olan neyrodegenerativ xəstəliklərdə müsbət nəticələr verəcəyi haqda fikir irəli sürməyə zəmin yaradır və bu istiqamətdə elmi araşdırmalara böyük ehtiyacın olduğunu nümayiş etdirir. Təsadüfi deyil ki, Alzheimer xəstəliyinə səbəb olan və faiz nisbət ilə daha çox rast gəlinən mutasiyalar da məhz sinir sisteminin immun müdafiəsini təmin edən mikrogliya hüceyrələrində müşahidə edilir [10]. Kök hüceyrələri mənşəli ekzosomlar son illərdə travmatik beyin zədələnmələri, işemiya və s. patologiyalarda tətbiqinin araşdırılmasına baxmayaraq baş beyin iltihabında onların effektivliyi hələ də ətraflı tədqiq olunmamışdır [5, 7, 8]. Hesab edirik ki, ilk dəfə olaraq SKH mənşəli ekzosomların neyroiltihab modelində yaranan morfo-funksional dəyişikliklərdə effektivliyinin fizioloji, histomorfoloji, molekulyar və ultrastruktur səviyyədə müqayisəli şəkildə öyrənilməsi sinir sisteminin digər xəstəliklərinin də yeni effektiv müalicə üsullarının tapılmasına kömək edə bilər.</p>
<p>Gözlənilən nəticələr və onların elmi-praktik əhəmiyyəti</p>	<p>Gözlənilən nəticələr kimi aşağıdakıları göstərmək olar:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Lipopolisaxaridin yeridilməsindən sonra baş beyin ayrı-ayrı şöbələrinin histoloji strukturunda və biokimyəvi göstəricilərində baş vermiş dəyişikliklərin müəyyənləşdirilməsi; 2. Immunohistokimyəvi metodların köməyi ilə neyroglia hüceyrələrinin istər sayında istərsə də morfologiyasında baş verən dəyişikliklərin aydınlaşdırılması; 3. İmmunofluoresent metodlarından istifadə etməklə beyin toxumasında aktivləşmiş iltihab-törədici M1 və iltihab-əleyhinə M2 mikroqliya hüceyrələrinin sayının və morfologiyasının təhlili; 4. Kök hüceyrələri mənşəli ekzosomların iltihab fonunda pozulmuş beyin funksiyalarına müsbət təsirini heyvanlar üzərində aparılan davranış testlərində aşkar etmək; 5. İltihabi proseslərin baş beyində yeni neyronların yaranmasına, yəni neyrogenezə təsirini və ekzosomların bu prosesə gözlənilən müsbət təsirini öyrənmək; 6. Kök hüceyrələri mənşəli ekzosomların neyrodegenerativ proseslərdə effektivliyini araşdırmaq və bu cür xəstəliklərin yeni effektiv müalicə startegiyalarının işlənilib hazırlanması istiqamətində tövsiyələr vermək.

	<p>Elmi yenilik:1. LPS-səbəli və streptozosinin təsirindən baş beyinin ayrı-ayrı şöbələrində struktur dəyişikliklər, hüceyrələrinin qarşılıqlı histotopografiyası, biokimyəvi, immunohistokimyəvi, stereometrik göstəriciləri kompleks şəkildə tədqiq olunacaq.</p> <p>2. İnsanın törədilmiş kök hüceyrələri kultivasiya olunaraq onlardan sinir kök hüceyrələri, sonunculardan isə ekzosomlar alınacaq.</p> <p>3. İlk dəfə olaraq sinir kök hüceyrələri mənşəli ekzosomların baş beyində LPS-səbəbli inkişaf edən iltihabi proseslərdə effektivliyi, eləcə yeni neyronların əmələ gəlməsindəki rolları araşdırılacaq.</p> <p>4. İlk dəfə olaraq sinir kök hüceyrələri mənşəli ekzosomların baş beyində inkişaf edən iltihabi proseslərdə effektivliyi, eləcə yeni neyronların əmələ gəlməsindəki rolları araşdırılacaq.İltihabın baş beyində inkişaf edən neyrodegenerasiya prosesindəki rolu biokimyəvi və histokimyəvi üsullarla araşdırılacaq.</p> <p>Praktik əhəmiyyəti: 1. Planlaşdırılan tədqiqat işi ölkəmizdə ilk dəfə olaraq Regenerativ Təbabətlə bağlı elmi tədqiqatlarda müasir metodologiyaların tətbiqi üçün zəmin yaradacaqdır; Azərbaycanda ilk dəfə olaraq sinir kök hüceyrələrinin tətbiqi ilə həyata keçirilən tədqiqat işi olub gələcəkdə bu istiqamətdə elmi tədqiqat işlərinin aparılmasına kömək edəcəkdir;</p> <p>2. Baş beyində inkişaf edən iltihabi xəstəliklərin müalicə və profilaktikasında yeni metodların tətbiqi istiqamətində tövsiyələrin verilməsi ilə yanaşı, sistem xarakterli patoloji proseslərin iltihabi və yaxud degenerativ olmasından asılı olmayaraq onların gələcəkdə mərkəzi sinir sistemində törədə biləcəyi müxtəlif fəsadların qarşısının alınması üçün təkliflər veriləcəkdir;</p> <p>3. Nevroloji xəstəliklərin və sindromların əsasında duran iltihabi proseslərin, eləcə də neyrodegenerativ xəstəliklərin müalicəsində yeni strategiyaların inkişafına kömək edəcəkdir.</p>
<p><i>Maddi və texniki imkanlar</i></p>	<p>Tədqiqatın yerinə yetirilməsi üçün maddi və texniki imkanların bir qismi ölkəmizdə var. Regenerativ təbabətə aid olan araşdırmalar Amerika Birləşmiş Ştatları Texas A&M Universitetinin Regenerativ Təbabət İnstitutu, Molekulyar və Hüceyrəvi Təbabət kafedrasında yerinə yetiriləcəkdir.</p> <p>Molekulyar analizlərin bir qismi isə Türkiyə Respublikası, İstanbul Universiteti Cərrahpaşa Tibb Fakültəsi Nevrologiya kafedrasında aparılması nəzərdə tutulur.</p>

<i>Tədqiqatın yerinə yetiriləcəyi yer</i>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Azərbaycan Tibb Universitetinin Sitologiya, embriologiya və histologiya kafedrası 2. Türkiyə Respublikası, İstanbul Universiteti Cərrahpaşa Tibb Fakültəsi Nevrologiya kafedrası. 3. Amerika Birləşmiş Ştatları Texas A&M Universitetinin Regenerativ Təbabət İnstitutu, Molekulyar və Hüceyrəvi Təbabət kafedrası
<i>İşin başlanması vaxtı</i>	2021-ci il
<i>İşin bitirmə vaxtı</i>	2026-cı il
<i>İşin müddəti</i>	5 il
<i>İşin mərhələləri</i>	<p style="text-align: center;">I mərhələ: 2021– ci il</p> <p>IV rüb:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Dissertasiya mövzusu üzrə elmi ədəbiyyatla tanışlıq və onların toplanılması; • Annotasiyanın tərtibi və kafedra iclasında müzakirəsinin keçirilməsi; • Nəzəri fənlər üzrə problem Komissiyasında müzakirənin keçirilməsi; • Dissertasiya işinin mövzusunun və tədqiqat planının təsdiqi ilə əlaqədar olaraq fakültə Elmi Şurasında müzakirənin keçirilməsi. <p style="text-align: center;">I mərhələ: 2022– ci il</p> <p>I və II rüblər:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ədəbiyyat icmalının tərtibi və çapa təqdim olunması; • Müayinə üsullarının öyrənilməsi, metodikanın mənimsənilməsi; • Eksperiment üçün heyvanların seçilməsi; • Kök hüceyrələrinin qidalı mühitdə yetişdirmək və onlardan sinir kök hüceyrələrini almaq; • Kök hüceyrələrindən ifraz olunan ekzosomlarla zəngin qidalı mühitin xüsusi qablarda toplanması; <p>III və IV rüblər:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Toplanmış qidalı mühitdən xromatoqrafiya üsulları vasitəsilə ekzosomları ekstraksiya etmək; • Əldə olunmuş ekzosomların ölçülərini, sayını, morfologiyasını Nanosayt, immunoferment və Vestern blot metodları vasitəsilə təhlil etmək; <p style="text-align: center;">III mərhələ: 2023 – cü il</p>

I və II rüblər:

- Təcrübə üçün heyvanları qruplara bölmək;
- Eksperimental heyvan qruplarında iltihab modelini yaratmaq;
- Eksperimental qrup heyvanların bir qisminə burundaxili fosfat buferi, digər qisminə isə ekzosomlar yeritmək;

III və IV rüblər:

- Tədqiqatların davam etdirilməsi;
- Heyvanlar üzərində müxtəlif davranış testləri keçirmək;
- Dissertasiya üzrə elmi məqalələr və tezislərin hazırlanması və çap etdirilməsi;
- Görülmüş işlər barədə hesabatın tərtibi və təqdim olunması;

IV mərhələ: 2024– cü il

I və II rüblər:

- Tədqiqat heyvanlarını dekapitasiya etmək və onlardan mikrotom, ultramikrotom və kriptomların vasitəsilə toxuma kəsiklərini əldə etmək; beyin kəsiklərindən preparatlar hazırlamaq;
- Təcrübə heyvalardan qan nümunələri toplamaq və sentrifugasiya üsulu ilə qan zərdabını toplayaraq sonrakı analizlər üçün soyuducuda saxlamaq;
- Qanda bəzi markerlərin, iltihab sitokinlərinin təyini;
- Dissertasiyanın mövzusu üzrə “Ədəbiyyat icmalı” və “Tədqiqatın material və metodları” fəsilələrinin ilkin hazırlanması;

V mərhələ: 2025-ci il

I və II rüblər:

- Təcrübələri davam etdirmək, beyin kəsiklərinin tərkibində lazımi hüceyrələr və maddələrin təyini məqsədi ilə onların immunohistokimyəvi və immunofluorescent üsullarla rənglənməsi;
- Nəzarət və eksperimental qrup heyvanlardan əldə olunmuş kəsikləri işıq, elektron və konfokal mikroskoplar vasitəsilə tədqiq etmək;
- Alınmış nəticələri təhlil etmək, məqalə və tezisləri çapa hazırlamaq.

III və IV rüblər:

- Homogenizasiyaya uğradılmış baş beyin hissələrinin tərkibində iltihab sitokinlərinin miqdarını və paylanmasını

	<p>biokimyəvi, Vestern blot və immunosorbent üsullar ilə təyin etmək;</p> <ul style="list-style-type: none"> • Problemə uyğun yerli və xarici elmi konfranslarda çıxışlar etmək; • Alınmış ilkin nəticələr barədə hesabatın hazırlanması və təqdimatı; • Dissertasiya mövzusu üzrə məqalə və tezisləri çapa hazırlamaq. <p style="text-align: center;">VI mərhələ: 2026-ci il</p> <p>I və II rüblər:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Tədqiqatın nəticələrini statistik proqramlar vasitəsilə işləmək və aralarında korrelyasion əlaqələri müəyyən etmək; Cədvəl, qrafik, slaydların hazırlanması; • Tədqiqat işlərinin tamamlanması, nəticələrin müzakirəsi • Əldə olunmuş nəticələrə əsaslanaraq metodik tövsiyyə hazırlamaq; <p>III və IV rüblər:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Dissertasiya işinin tərtibi; • İlkin müzakirənin (aprobasiyanın) keçirilməsi; Dissertasiyanın müdafiə şurasına təqdim olunması.
<p><i>Ədəbiyyat</i></p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Qasimov E.K., Əyyubova G.M., Qafarov İ.A. Eksperimental iltihab zamanı sinir hüceyrələrində baş verən patoloji dəyişikliklər və onların morfometrik göstəricilərinin təhlili. Professor D.V. Hacıyevin 90illik yubileyinə həsr olunmuş beynəlxalq konfrans. Bakı, 2019, s. 134-136. 2. Basso M, Bonetto V. Extracellular vesicles and a novel form of communication in the brain. <i>Front Neurosci.</i> 2016;10:127. 3. Di Trapani, M.; Bassi, G.; Midolo, M.; Gatti, A.; Kamga, P.T.; Cassaro, A.; Carusone, R.; Adamo, A.; Krampera, M. Differential and transferable modulatory effects of mesenchymal stromal cell-derived extracellular vesicles on T, B and NK cell functions. <i>Sci. Rep.</i>2016, 6, 24120. 4. Doeppner TR, Herz J, Görgens A, Schlechter J, Ludwig AK, Radtke S, de Miroshedji K, Horn PA, Giebel B, Hermann DM. Extracellular Vesicles Improve Post-Stroke Neuroregeneration and Prevent Postischemic Immunosuppression. <i>Stem Cells Transl Med.</i> 2015 Oct;4(10):1131-43. 5. Elia C.A., Losurdo M., Malosio M.L., Coco S. Extracellular

- Vesicles from Mesenchymal Stem Cells Exert Pleiotropic Effects on Amyloid-beta, Inflammation, and Regeneration: A Spark of Hope for Alzheimer's Disease from Tiny Structures? *Bioessays*. 2019;41:e1800199.
6. Galipeau, J.; Sensebe, L. Mesenchymal Stromal Cells: Clinical Challenges and Therapeutic Opportunities. *Cell Stem Cell* 2018, 22, 824–833.
 7. Ge M., Zhang Y., Hao Q., Zhao Y., Dong B. Effects of mesenchymal stem cells transplantation on cognitive deficits in animal models of Alzheimer's disease: A systematic review and meta-analysis. *Brain Behav*. 2018;8:e00982.
 8. Guy C. Brown The endotoxin hypothesis of neurodegeneration. *J Neuroinflammation*. 2019; 16: 180.
 9. Izadpanah M., Seddigh A., EbrahimiBarough S., Fazeli S.A.S., Ai J. Potential of Extracellular Vesicles in Neurodegenerative Diseases: Diagnostic and Therapeutic Indications. *J. Mol. Neurosci*. 2018;66:172–179.
 10. Karnoub A.E., Dash A.B., Vo A.P., Sullivan A., Brooks M.W., Bell G.W., Richardson A.L., Polyak K., Tubo R., Weinberg R.A. Mesenchymal stem cells within tumourstroma promote breast cancer metastasis. *Nature*. 2007;449:557–563.
 11. Kim DK, Nishida H, An SY, Shetty AK, Bartosh TJ, Prockop DJ. Chromatographically isolated CD63+CD81+ extracellular vesicles from mesenchymal stromal cells rescue cognitive impairments after TBI. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. 2016, 113: 170-175.
 12. Koniusz, S.; Andrzejewska, A.; Muraca, M.; Srivastava, A.K.; Janowski, M.; Lukomska, B. Extracellular Vesicles in Physiology, Pathology, and Therapy of the Immune and Central Nervous System, Tools. *Front. Cell Neurosci*. 2016, 10, 109.
 13. Li, B.; Liu, J.; Gu, G.; Han, X.; Zhang, Q.; Zhang, W. Impact of neural stem cell-derived extracellular vesicles on mitochondrial dysfunction, sirtuin 1 level, and synaptic deficits in Alzheimer's disease. *J. Neurochem*. 2020, 154, 502–518.
 14. Makela T., Takalo R., Arvola O., Haapanen H., Yannopoulos F., Blanco R., Ahvenjarvi L., Kiviluoma K., Kerkela E.,

- Nystedt J., et al. Safety and biodistribution study of bone marrow-derived mesenchymal stromal cells and mononuclear cells and the impact of the administration route in an intact porcine model. *Cytotherapy*. 2015;17:392–402.
15. Mead B., Tomarev S. Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells-Derived Exosomes Promote Survival of Retinal Ganglion Cells Through miRNA-Dependent Mechanisms. *Stem Cells Transl. Med.* 2017;6:1273–1285.
 16. Musial-Wysocka A., Kot M., Majka M. The Pros and Cons of Mesenchymal Stem Cell-Based Therapies. *Cell Transpl.* 2019.
 17. Raposo G, Stoorvogel W. Extracellular vesicles: exosomes, microvesicles, and friends. *J Cell Biol.* 2013;200(4):373–383.
 18. Riazifar M., Pone E.J., Lotvall J., Zhao W. Stem Cell Extracellular Vesicles: Extended Messages of Regeneration. *Annu. Rev. Pharm. Toxicol.* 2017;57:125–154.
 19. Robin L. Webb, Erin E. Kaiser et al. Human Neural Stem Cell Extracellular Vesicles Improve Tissue and Functional Recovery in the Murine Thromboembolic Stroke Model. *Transl Stroke Res.* 2018; 9(5): 530–539.
 20. Santos, M.F.d.; Roxo, C.; Solá, S. Oxidative-Signaling in Neural Stem Cell-Mediated Plasticity: Implications for Neurodegenerative Diseases. *Antioxidants* 2021, 10, 1088. <https://doi.org/10.3390/antiox10071088>
 21. Shetty AK, Hattiangady B. Grafted subventricular zone neural stem cells display robust engraftment and similar differentiation properties and form new neurogenic niches in the young and aged hippocampus. *Stem Cells Translational Medicine.* 2016, 5:1204-15
 22. Xin H, Li Y, Cui Y, Yang JJ, Zhang ZG, Chopp M. Systemic administration of exosomes released from mesenchymal stromal cells promote functional recovery and neurovascular plasticity after stroke in rats. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2013;33(11):1711–1715.
 23. Youssef H. El-Hayek, Ryan E. Wiley, Charles P. Khoury et al. Tip of the Iceberg: Assessing the Global Socioeconomic Costs of Alzheimer’s Disease and Related Dementias and Strategic Implications for Stakeholders. *Journal of Alzheimer's Disease*, 2019; 70 (2): 321

<i>Tədqiqatın hazırkı vəziyyəti</i>	Başlanma mərhələsi
<i>İşlə əlaqədar çap olunan məqalələr</i>	
<i>Abstract (in English)</i>	<p>Name of the study: Morpho-functional characteristics of the effectiveness of stem cell-derived exosomes in brain inflammatory processes.</p> <p>Background: LPS, a component of the cell wall of gram-negative bacteria, as well as injected streptozosine have already been shown to cause inflammatory processes throughout the body, as well as the central nervous system (CNS), and to play an important role in the onset and progression of Alzheimer's disease. On the other hand, the positive effects of nerve stem cells (NSCs) present in the brain are associated not only with the formation of new neurons, but also with the substances they secrete, especially exosomes. Exosomes contain micro-RNAs with neuroprotective, antiapoptotic, antioxidant, anti-inflammatory, blood-brain barrier regeneration, enhancing neurogenesis, improving synaptogenesis, synaptic plasticity and mental function, and reducing amyloid betta protein. Despite of the data mentioned before, the effectiveness of nerve stem cell exosomes in inflammatory processes developing in the brain under the influence of lipopolysaccharide has not yet been studied.</p> <p>Materials and methods: First, induced pluripotential stem cells will be grown in a nutrient medium using special bioengineering methods, from which nerve stem cells will be obtained. Exosomes removed from nerve stem cells will then be collected and extracted by chromatography methods. The quantity, size and markers of the obtained exosomes will be determined by Nanosight, ELISA, Western blot methods, as well as electron microscopy. 50 experimental male mice numbered in the protocol will be divided into 3 groups. After that, behavioral tests will be conducted to check the brain function of animals in all three groups. One week after streptozosin injection, the animals' blood sugar levels will be checked, and animals with ≥ 11.2 mmol / L will be considered suitable for the experiment. Animals will be decapitated 20 days after the start of the experiment. The brain pieces and blood of decapitated animals belonging to all three groups will be removed and used for histological and biochemical studies.</p>

Methods will include: cell culture, chromatography, Western blot, cultivation of stem cells using Nanosight methods, obtaining and analysis of exosomes. Carrying out various behavioral tests in animals using physiological methods. The obtained brain tissue sections will be studied by conventional light, fluorescent, confocal and electron microscopy after processing by histological, biochemical, immunohistochemical, immunofluorescent methods. Biochemical analysis of blood, determination of sugar, certain proteins, inflammatory cytokines. Statistical methods.

Primary outcome:

Brain samples taken from animals in groups II and III, as well as blood samples will be taken into account. Thus, in both groups of animals, an inflammatory model will be created by injecting LPS and streptozosin into the peritoneum. However, exosomes were also injected into the animals of group III, including inside the nose. For this reason, structural changes in both neuromuscular interactions and meninges and blood vessels in the background of inflammation in sequential sections obtained from different parts of the brain will be studied first, and then the effect of stem cell-derived exosomes on these changes will be studied.

Secondary outcome:

On the day the experimental inflammatory model was established, 10 mice in the control group injected with an appropriate amount of saline only into the peritoneum would be examined and compared with the main groups according to the time of groups II and III. The results of biochemical and histological analyzes and morphometric indicators will also be used. Accuracy of the obtained data will be ensured by statistical processing.

Key words:

Neural stem cells, exosomes, chromatography, hippocampus, neuroinflammation, neurodegeneration, lipopolysaccharide.

Study type and design - observational

Sitologiya, embriologiya və histologiya

kafedrasının baş müəllimi, t.ü.f.d.

G.M. Əyyubova