

produces degeneration and subsequent reinnervation of epidermal nerve fibers: Correlation with sensory function // J. Neurosci. – 1998. – Vol. 18. – P. 8947-8959.

43. Студницин А.А., Кочетков В.Д., Брайцев А.В. К вопросу о патогенезе и терапии различных форм круговидного облысения // Вестн. дерматол. и венерол. – 1978. – № 2. – С. 3-6.
44. Брагуца Е.В., Гончарова Л.Е. Микродинамические нарушения у больных алопецией // Торсуевские чтения: Сб. науч. практ. статей. – Донецк: Мединфо. – 1999. – С. 34-36.
45. Ронкин М.А., Шахтмейстер И.Я., Рябинина М.Е. и др. Роль сосудистого фактора в патогенезе гнездного облысения // Вестн. дерматол. и венерол. – 1993. – № 4. – С. 22-24.

РЕЗЮМЕ

ОСОБЕННОСТИ ПАТОГЕНЕЗА ГНЕЗДОВОЙ АЛОПЕЦИИ

Галкин А.Ю., Бондаренко Л.Б.

В обзоре литературы проведено обобщение и анализ особенностей патогенеза гнездовой алопеции. Анализ результатов исследований последних 20-ти лет подтверждает аутоиммунный механизм развития гнездовой алопеции. Показано, что активное участие в патогенезе заболевания принимают оба звена иммунитета – клеточное и гуморальное. На уровне гуморальных факторов иммунитета происходит взаимодействие с нервной системой, патологии которой также вносят важный вклад в патогенез заболевания. Достаточно вероятно роль генетических факторов в развитии гнездовой алопеции.

SUMMARY

FEATURES of PATHOGENESIS of ALOPECIA areata

Galkin A.Yu., Bondarenko L.B.

In the literature review synthesis and analysis of the characteristics of the pathogenesis of alopecia areata has been carried out. Analysis of research results of the past 20 years has been confirmed the autoimmune mechanism of alopecia areata. It is proved that the active involvement in the pathogenesis of the disease take both immunity – cellular and humoral. At the level of humoral immunity factors interact with the nervous system. Pathologies of nervous system are also an important contribution to the pathogenesis of the disease. Role of genetic factors in the development of alopecia areata is sufficiently probable.

УДК: 616-001.8+611.018.1:611.013

ОСОБЛИВОСТІ ІМУНОМОДУЛЮЮЧОГО ВПЛИВУ ПЕРІОДИЧНОГО ГІПОКСИЧНОГО ТРЕНУВАННЯ

НИКОЛЬСЬКИЙ І.С.¹, СЕРЕБРОВСЬКА Т.В.², НИКОЛЬСЬКА В.В.¹, ТАРАНУХА Л.І.¹, ГАЛИЦЬКА С.М.¹, ІЩУК В.О.³, СЕМЕНОВА Я-М.О.¹, ЛИСИЦЯ Н.А.¹, КИРИК В.М.¹

¹ДУ “Інститут генетичної та регенеративної медицини НАМН України”, Київ

²Інститут фізіології ім.О.О.Богомольця НАН України, Київ

³ДУ “Інститут геронтології імені Д.Ф.Чеботарева НАМН України”, Київ

На сьогодні накопичено великий експериментальний та клінічний матеріал, який свідчить про можливість значного збільшення опірності організму до різних патогенних факторів в результаті адаптації до нестачі кисню, зокрема, до періодичних гіпоксичних подразнень. Доведено, що періодична гіпоксія покращує функціонування дихальної, серцево-судинної та імунної систем, підвищує стійкість до екстремальних факторів зовнішнього середовища, стимулює очищення дихальних шляхів від сторонніх частинок, знижує негативні ефекти при дії іонізуючого випромінювання, а також сприяє підвищенню стійкості до дії чинників тваринного та хімічного походження [5, 8, 11, 13, 15]. Останні дані дозволяють припустити, що при цьому має поліпшуватись імунний статус організму.

Реакція з боку стовбурових клітин є одним з основних механізмів адаптації до гіпоксії [12]. Більш пізні дослідження показали, що гіпоксія запобігає проліферації CD34⁺-клітин і зберігає здатність колонієутворюючих клітин (colony-forming-cell, CFC) утворювати колонії у вторинних культурах (pre-CFC) [3], навіть незалежно від присутності факторів росту [16]. Показано, що найбільш важливими та універсальними факторами реакції стовбурових клітин на гіпоксію є індуквані гіпоксією фактори (hypoxia-inducible factors, HIF-1 та HIF-2) [7, 2].

Циркулюючі CD34⁺-клітини є гемопоетичними попередниками, які також можуть відігравати роль у репарації тканин. Ніша стовбурової клітини є унікальним тканинним мікрооточенням, що регулює самовідновлення та диференціювання

стовбурових клітин. Гіпоксія є необхідним атрибутом ніші кісткового мозку, що свідчить про фундаментальну роль гіпоксії в рециркуляції та інших механізмах функціонування стовбурових клітин [1].

Таким чином, гіпоксія є одним з головних для функціонування стовбурових клітин факторів мікрооточення. Однак на сьогодні ця проблема далека від розуміння. Різні напруга кисню та тривалість гіпоксичної експозиції можуть відігравати різну роль у розвитку клітин. Отже, дослідження впливу періодичної гіпоксії на імунний статус, гемопоетичні стовбурові клітини людини та на продукцію цитокінів може внести істотний вклад у фундаментальні дослідження з фізіології та буде мати практичне значення для розробки профілактики та лікування багатьох захворювань у майбутньому.

МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ

В дослідженні приймали участь 10 здорових чоловіків-добровольців (вік 30,9 ± 0,6 років, маса тіла 76,2 ± 2,8 кг, зріст 176,9 ± 1,8 см). За об'єктивними даними у обстежених не було виявлено ознак патології серцево-судинної, дихальної, ендокринної та імунної систем.

Періодичні гіпоксичні тренування (ПГТ) проводили на апараті «Гіпоксітрон» (Київ, Україна) тривалістю 5 хвилин 4 рази на день впродовж 14 днів.

Для проведення імунологічного аналізу венозну кров брали тричі: 1 – за один тиждень до ПГТ, 2 - одразу після ПГТ, 3 – через один тиждень після ПГТ.

Вміст гемоглобіну в периферичній крові визначали стандартним гемоглобінціанідним методом. Вміст еритроцитів, ретикулоцитів, тромбоцитів та лейкоцитів визначали, застосовуючи рутинні методи мікроскопічного аналізу мазків крові.

Кількість CD45⁺34⁻, CD4⁺- та CD8⁺-клітин визначали у відповідності зі стандартною техноло-

гією прямої імуофлуоресценції [14] на приладі FACSAria™ (Becton Dickinson & Co.).

Фагоцитарну функцію нейтрофілів вивчали за здатністю поглинати клітини Staphylococcus aureus [4]. Бактерицидну активність нейтрофілів визначали в тесті відновлення нітросинього тетразоліа (НСТ-тесті) [9].

Кількість IgM, IgG, IgA визначали методом радіальної імунодифузії, використовуючи моноспецифічні сироватки проти імуноглобулінів людини [10]. Циркулюючі імунні комплекси (ЦІК) визначали методом преципітації в 3,75% поліетилеңгліколі ПЕГ 6000 з наступним фотометричним вимірюванням густини преципітату [6].

Вміст цитокінів ІФН_γ, ФНП_α, ІЛ-4, ГМ-КСФ в сироватці крові визначали за допомогою імуоферментного методу та наборів Biosours Human ELISA (США), еритропоетину - Biomerica ERO ELISA (США). Вимірювання здійснювали за оптичною густиною отриманого розчину з використанням фотометра для багатофункціонального аналізу SUNRISE (Австрія).

Для статистичного аналізу використовували непараметричні критерії Вілкоксона-Манна-Уїтні (U), критерій знаків (z) та парний критерій Вілкоксона (T).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Як можна побачити з таблиці 1, під впливом періодичного гіпоксичного тренування (ПГТ) відбувається незначне, але суттєве підвищення кількості еритроцитів і тромбоцитів. При цьому вміст гемоглобіну, ретикулоцитів та гематокрит залишаються незмінними.

Через 1 тиждень після ПГТ відмічається зменшення кількості моноцитів (290 ± 40 /мкл проти 480 ± 50 /мкл; p<0,05) та деяке збільшення кількості лімфоцитів (2000 ± 190 /мкл проти 1710 ± 140 /мкл; p<0,05), що разом з нижченаведеними даними свідчить про вихід імунної системи на більш високий рівень потенційної активності.

Таблиця 1

Вміст еритроцитів і тромбоцитів в периферичній крові обстежених осіб

Показники n=10	Статистичні показники	Термін обстеження		
		До ПГТ	Після ПГТ	
		за 1 тиж.	відразу	через 1 тиж.
Еритроцити (×10 ⁶ /мл)	M±m	4,6±0,1	4,5±0,1	4,8±0,1*
Тромбоцити (×10 ³ /мкл)	M±m	130±10	170±10	170±10*

* Вірогідність різниці показників у порівнянні з показниками до гіпоксії (p<0,05)

Одночасно відбуваються активаційні процеси в системі неспецифічної резистентності: зростає активність комплементу, підсилюється поглинальна здатність нейтрофілів, знижується їх спонтанна бактерицидна активність через

тиждень після ПГТ, підвищується індукована і резервна бактерицидність відразу після ПГТ, що може бути пов'язане з проходженням фази напруги стресу (табл. 2).

У використаному режимі періодичне гіпоксичне тренування практично не впливає на рівень ЦІК та імуноглобулінів трьох основних класів в сироватці крові обстежених осіб.

Таблиця 2

Поглиняльна та бактерицидна активність нейтрофілів і рівень комплементу у обстежених осіб

Показники n=10	Статистичні показники	Термін обстеження		
		До ПГТ за 1 тиж.	Після ПГТ	
			відразу	через 1 тиж.
Поглиняльна активність (%)	M±m	65,5±1,6	66,4±2,2	75,0±2,6*
НСТ-тест спонтанний (%)	M±m	12,6±1,3	13,9±1,1	9,9±0,6*
НСТ-тест індукований (%)	M±m	25,5±2,7	33,2±3,0*	32,1±3,8
НСТ-тест резерв (%)	M±m	12,9±2,4	20,3±2,5*	22,3±3,2
Комплемент (мл)	M±m	0,059±0,008	0,032±0,003*	0,029±0,004*

* Вірогідність різниці показників у порівнянні з показниками до гіпоксії (p<0,05)

З даних, наведених в таблиці 3, можна побачити, що після ПГТ в сироватці крові обстежених осіб значно знижується рівень ФНП α . та еритропоетину; рівень ІЛ-4 має тенденцію до зниження, а рівень ІФН γ , навпаки, суттєво підвищується. Визначення рівня ГМ-КСФ не виявило наявності цього цитокіну в крові пацієнтів на всіх етапах обстеження.

Після ПГТ відмічається тенденція до зменшення кількості CD45⁺34⁺-клітин в периферичній крові (1,639±0,176 /мкл проти 1,214±0,155 /мкл, p>0,05), а кількість CD4⁺- та CD8⁺-лімфоцитів через тиждень після ПГТ суттєво не змінюється.

Таблиця 3

Вміст ФНП α , ІЛ-4, ІФН γ та еритропоетину в сироватці крові обстежених осіб

Показники n=10	Статистичні показники	Термін обстеження		
		До ПГТ за 1 тиж.	Після ПГТ	
			відразу	через 1 тиж.
ФНП α (пг/мл)	M±m	1,13±0,49	0,12±0,08*	0,11±0,11*
ІЛ-4 (пг/мл)	M±m	1,30±1,28	0,57±0,31	0,48±0,35
Еритропоетин (МО/мл)	M±m	7,83±1,07	7,77±1,22	5,67±0,85*
ІФН γ (пг/мл)	M±m	5,84±1,47	6,33±1,4	7,64±1,11*

* Вірогідність різниці показників у порівнянні з показниками до гіпоксії (p<0,05)

Таким чином, до застосованого режиму ПГТ виявилися чутливими гуморальні та клітинні фактори неспецифічної резистентності, активність яких при цьому суттєво підвищується, що зазвичай приводить до підсилення природного захисту організму. Стосовно червоної крові можна відмітити, що підвищення кількості еритроцитів через тиждень після ПГТ супроводжується зменшенням рівню еритропоетину. Зважаючи на те, що одразу після ПГТ цей рівень був високим, можна припустити, що при вивченому режимі ПГТ і достатньому зростанні кількості еритроцитів потреба в еритропоетині на кінець терміну спостереження зменшується.

Заслугує уваги те, що під впливом ПГТ значно зменшується в крові концентрація ФНП α , котрий, як відомо, є прозапальним цитокіном, що може вносити певний вклад у потенціювання боротьби з інфекційно-запальними процесами. А зростання кількості ІФН γ скоріш за все свідчить про підсилення можливостей імунної системи в ініціації і розгортанні імунної відповіді. До того ж, виявлений такий суттєвий дисбаланс у цитокіновому спектрі не може не позначитися на активаційних і міграційних властивостях різних клітин.

Зменшення концентрації ГСК в периферичній крові, ймовірно, пов'язано зі зміною мігра-

ційної здібності цих клітин. Однак, залишається незрозумілим, чи зменшується входження ГСК в циркуляцію, чи збільшується їх вихід із циркуляції. В обох випадках в тканинах можуть накопичуватись більші, ніж звичайно, кількості ГСК, що підсилює, можливо потенційні можливості кровотворення, а також загальний регенеративний потенціал, який забезпечується здатністю ГСК до трансдиференціювання та міжклітинної кооперації.

ВИСНОВКИ

1. Проведення ПГТ призводить до зменшення в периферичній крові пацієнтів кількості моноцитів, збільшення кількості еритроцитів, лімфоцитів та деякого зменшення вмісту ГСК з фенотипом CD45⁺34⁺.
2. В результаті ПГТ відбувається підсилення системи природної резистентності: активація комплементу, збільшення кількості тромбоцитів, зростання поглинальної активності нейтрофілів, зниження їх спонтанної бактерицидної активності та підвищення резервної.
3. Після ПГТ в сироватці крові обстежених осіб рівень ІФН_γ стає достовірно вищим, рівень ФНП_α та еритропоетину знижується, а рівень ІЛ-4 має тенденцію до зниження. Визначення рівня ГМ-КСФ не виявило наявності цього цитокіну в крові пацієнтів на всіх етапах обстеження.
4. Проведені дослідження відкривають перспективу для майбутнього застосування ПГТ з метою імунокорекції та імунотерапії.

ЛІТЕРАТУРА

1. Ceradini D.J., Gutner D.C. (2005). Homing to hypoxia: HIF-1 a mediator of progenitor cell recruitment to injured tissue. *Trends Cardiovasc Med.* Vol.15, № 2.: 57-63.
2. Covello K.L., Kehler J., Yu H., Gordan J.D., Arsham A.M., Hu C.-J., Labosky P.A. (2006). HIF-2 α regulates Oct-4: effect of hypoxia on stem cell function, embryonic development, and tumor growth. *Genes & Development*, Vol.20: P.557-570.
3. Desplat V., Faucher JL, Mahon FX, Dello Sbarba P, Praloran V, Ivanovic Z. Hypoxia modifies proliferation and differentiation of CD34(+) CML cells. *Stem Cells.* 2002; 20(4):347-54
4. Duglas S.D., Kuy P.G. Research of the phagocytosis in clinical practice. Moscow: Medicine, 1983.- 193p.
5. Foster C, Lucia A. (2005). Positive effects of intermittent hypoxia (live high:train low) on exercise performance are/are not mediated

primarily by augmented red cell volume. *J Appl Physiol* Dec;99(6):2461.

6. *Haskova V., Kaslik L., Malejerwa M.* A new method of the determination of the circulating immune complexes in liquor (in Russian). *Gasopis Lekarů Ceskych*, 116 (14): 436-437 (1977)
7. *Iyer N.V., Kotch L.E., Agani F., Leung S.W., Laughener E., Wenger R.H., Gassmann M., Gearhart J.D., Lawler A.M., Yu A.Y., Semenza G.L.* (1998). Cellular and developmental control of O₂ homeostasis by hypoxia-inducible factor 1 alpha. – *Genes Dev.* Vol.15 : 149-162.
8. *Levine BD.* (2002). Intermittent hypoxic training: fact and fancy. *High Alt Med Biol*, Summer;3(2):177-93.
9. *Mayansky A.N., Mayansky D.N.* Review about the neutrophile and macrophage Novosibirsk: Science, 1989. 343p.
10. *Manchini G., Vaerman J.-P., Carbonera A.O., Heremans J.F.* A simple radial-diffusion method for the immunological quantitation of protein. In Peeters N. (Ed.) *Proceedings of the biological fluids*, Amsterdam, L., N.Y.: Elsevier, 370-379 1964.
11. *Mitchell G.S., Baker T.L., Nanda S.A., Fuller D.D., Zabka A.G., Hodgeman B.A., Bavis R.W., Mack K.J., and Olson E.B.Jr.* (2001). Invited review: Intermittent hypoxia and respiratory plasticity. *J Appl Physiol* 90 (6): 2466-2475
12. *Murphy M.J.Jr., Lord B.I.* hematopoietic stem cell regulation. I. Acute effects of hypoxic-hypoxia on CFU kinetics // *Blood.* - 1973. – Vol.42, № 1. – P.81-87.
13. *Neubauer JA* (2001) Physiological and pathophysiological responses to intermittent hypoxia. *J Appl Physiol.* 90:1593-1599. Review.
14. *Ojeda-uribe M., Sovalat H., Bourderont D., Brunot A., Marr A., Levwandowski H., Chaboute V., Peter P., Henon P.* Peripheral blood and BM CD34⁺ CD38⁻ cells show better resistance to cryopreservation than CD34⁺ CD38⁺ cells in autologous stem cell transplantation // *Cytotherapy.* – 2004. – Vol. 6, № 6. – P.571-583.
15. *Serebrovskaya TV.* Invited review: Intermittent Hypoxia Research in the Former Soviet Union and the Commonwealth of Independent States (CIS): History and Review of the Concept and Selected Applications. *High Altitude Medicine & Biology*, 2002, v.3, #2, 205-221.
16. *Sun B., Bai C.X., Feng K., Li L., Zhao P., Pei X.T.* Effects of hypoxia on the proliferation and differentiation of CD 34⁺ hematopoietic stem/progenitor cells and their response to cytokines. - *Sheng Li Xue Bao.* – 2000. – Vol.52, № 2. – P.143-146.

РЕЗЮМЕ

**ОСОБЕННОСТИ ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕГО
ВЛИЯНИЯ ПЕРИОДИЧЕСКИХ ГИПОКСИЧЕСКОГО
ТРЕНИРОВОК**

Никольский И.С.¹, Серебровская Т.В.², Никольская В.В.¹, Тарануха Л.И.¹, Галицкая С.Н.¹, Ищук В.А.³, Семенова Я.М.А.¹, Лисица Н.А.¹, Кирик В.М.¹

- ¹ ГУ «Институт генетической и регенеративной медицины НАМН Украины», Киев
² Институт физиологии им. А.А.Богомольца НАН Украины, Киев
³ ГУ «Институт геронтологии имени Д.Ф.Чеботарева НАМН Украины», Киев

Целью исследования было изучение влияния периодических гипоксических тренировок (ПГТ) на иммунную систему человека. Нами изучено влияние ПГТ на гемопоэтические стволовые клетки (ГСК), основные гуморальные и клеточные компоненты адаптивного иммунитета и факторы естественной резистентности у 10 практически здоровых людей в возрасте от 25 до 35 лет. Показано, что в результате ПГТ происходит усиление системы естественной резистентности: активация комплемента, увеличение количества тромбоцитов, повышение поглотительной активности нейтрофилов с уменьшением их спонтанной и увеличением резервной бактерицидности. В проведенном режиме ПГТ не влияют на состояние клеток красной крови. После ПГТ в сыроворотке крови повышается уровень ИФН- γ , снижается уровень ФНО- α и эритропоэтина. Показано, что ПГТ приводит к снижению количества циркулирующих ГСК, что, вероятно, связано с изменением их миграционной способности.

SUMMARY

peculiarities of periodic normobaric hypoxic training immunomodulating influence

I.S. Nikolskiy, T.V. Serebrovskaya, V.V. Nikolskaya, L.I. Taranukha, S.M.Halytska, V.A. Ishchuk, Y.-M.O. Semenova, N.A. Lisitsa, V.M. Kirik

- State Institute for Genetic and Regenerative Medicine AMS of Ukraine, Kiev
 Institute of Physiology A.A. Bogomoltsa National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev
 State Institute of Gerontology D.F. Chebotareva AMS of Ukraine, Kiev

The research aim was to investigate the periodic normobaric hypoxic training (PHT) influence on immune system. We have studied effects of PHT on human hematopoietic stem cells (HSCs), factors of natural resistance of organisms and basic humoral and cellular components of adaptive immunity in the peripheral blood of 10 healthy subjects (25-35 years). It is shown that as a result of PHT is enchancement of natural protective system, including activation of complement, increase number of platelets, increased phagocytic activity of neutrophils with decrease in their spontaneous and increase in reserve bactericidal. In the holding mode, PHT does not affect the status of red blood cells. After PHT, there are increasing level of IFN- α , reducing TNF- α and eritropoietin contents in examined people serum. It is shown that PHT reduces the number of circulating HSCs, which is probably due to chanches in their migratiry ability.

УДК: 591.481.1:616-091.8:591.881:616-089.843-092.9

**МОРФОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ МОЗКУ ПРИ ВНУТРІШНЬОМОЗКОВІЙ
ІМПЛАНТАЦІЇ АЛОГЕННИХ НЕЙРОКЛІТИН В ЕКСПЕРИМЕНТІ**

ЛЮБИЧ Л.Д., СЕМЕНОВА В.М., ЛІСЯНИЙ М.І.

ДУ «Інститут нейрохірургії ім.акад.А.П.Ромоданова АМН України», Київ

Трансплантація нейральних стовбурових клітин (НСК) і нейроклітин - прогеніторів (НКП) вважається перспективною для лікування травматичних пошкоджень головного і спинного мозку, а також деяких нейродегенеративних захворювань. Інтенсивна розробка напрямку реконструктивної нейрохірургії сприяла відновленню зацікавленості у питанні про імунологічний статус мозку та його відповідь на пересаджані тканини. Зокрема відкритим залишається питання про тривале виживання у мозку алотрансплантатів та про механізми відторгнення НСК.

Панівна донедавна точка зору про «абсолютну імунопривілейованість» мозку, що забезпечує виживаність клітинних трансплантатів без відторгнення, на даний час спростована [1,2]. Згідно сучасних уявлень у мозку може розвиватися імунна відповідь, яка при певних обставинах досягає такої ж сили, як і у периферичних зонах організму [3,4]. На сьогодні складні взаємовідносини між імунними та нейральними клітинами залишаються остаточно не з'ясованими.

Як відомо, успішна стратегія нейротрансплантації НСК та НКП з метою відновлення

втрачених або порушених функцій ЦНС можлива лише при тривалому виживанні пересаджених нейроклітин та при досягненні їх інтеграції з органною системою реципієнта при відсутності несприятливих побічних наслідків. Необхідно також враховувати реакцію імунної системи як безпосередньо на оперативне втручання при нейротрансплантації, так і у відповідь на пересаджані клітини. За умови підвищення на НСК експресії антигенів МНС та наявності коstimуляторних молекул ало- та ксенографти можуть активувати ефекторну фазу природної та адаптивної імунної відповіді на нейротрансплантацію [5-7].

У дослідженні [8] із застосуванням біолюмінісцентної візуалізації показано, що НКП при трансплантації у правий базальний ганглії головного мозку виживали не менше 14 діб і проліферували активніше у Т-дефіцитних мишей (nude), ніж у імунокомпетентних мишей ліній C57B1/6 або CD-1, у яких визначалася прогресивна імунозалежна втрата нейроклітин. Таким чином, стан імунітету реципієнта впливає на виживання трансплантованих у мозок НКП.