

УДК:576.8.097.3:577.112:612.8:591.881

ВИЗНАЧЕННЯ АНТИТІЛОУТВОРЕННЯ ДО НЕЙРОСПЕЦИФІЧНИХ БІЛКІВ (НСБ) ПРИ ВНУТРІШНЬОМОЗКОВОМУ ВВЕДЕННІ СИНГЕННИХ ТА АЛОГЕННИХ ФЕТАЛЬНИХ НЕЙРОКЛІТИН-ПРЕКУРСОРІВ (НКП)

ЛЮБИЧ Л.Д.

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

Успішна стратегія трансплантації нейрогенних стовбурових клітин (НСК) та НКП для заміщення втрачених або порушених функцій ЦНС потребує тривалого виживання пересаджених клітин та інтеграції з системою реципієнта, а також відсутності несприятливих побічних наслідків. Необхідно враховувати роль імунної системи як безпосередньо в процесі втручання при трансплантації, так і у відповідь на пересажені клітини.

Останні дослідження свідчать, що можливою здатністю алогенних НСК викликати імунну активацію у віддаленому періоді після трансплантації не можна нехтувати: алотрансплантати НСК та НКП індукують ефекторну фазу імунної відповіді при трансплантації у мозок за умови експресії ними антигенів гістосумісності та коstimуляторних молекул, проте рівень імунної відповіді недостатній для відторгнення трансплантату [11,15,16,20,28]. НСК людини розпізнаються і викликають імунну відповідь в ало- і ксеногенних системах *ex vivo*, тобто вони мають низький, проте не незначний імунологічний потенціал, рівень якого є достатнім для активації периферичних лімфоцитів реципієнта [35].

У зв'язку з цим з метою уникнення небажаних побічних ефектів при трансплантації алогенних НКП значні зусилля дослідників спрямовано на отримання НКП із сингенних джерел (кісткового мозку, жирової тканини тощо). Оскільки дані щодо імуногенних властивостей НСК *in vivo* є неоднозначними, метою даної роботи було порівняти розвиток нейроспецифічних імунних реакцій при внутрішньомозковому введенні сингенних і алогенних фетальних НКП.

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ

Матеріалом для дослідження слугували: 1) НКП мишей СВА (термін гестації 13-15 днів); 2) НКП мишей С57В1/6 (термін гестації 13-15 днів); 3) сироватка периферичної крові дорослих мишей-реципієнтів С57В1/6. Усі роботи з експериментальними тваринами проводилися з дотриманням Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження», «Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, які використовуються з експериментальною та іншою науковою метою», а також принципів біоетики та норм біологічної безпеки.

Отримання суспензій НКП з мозку мишей 13-15 доби ембріонального розвитку проводили за методикою, описаною раніше [1].

НКП мишей-донорів вводили внутрішньомозково мишам-реципієнтам С57В1/6 у кількості 1×10^6 клітин на тварину. Експериментальних тварин розділили на групи:

- 1) внутрішньомозкове введення алогенних фетальних НКП донорів СВА ($n=15$);
- 2) внутрішньомозкове введення сингенних фетальних НКП донорів С57В1/6 ($n=15$);
- 3) інтактні (контрольні) тварини С57В1/6 ($n=5$).

Рівень аутоантитіл до нейроспецифічних білків (НСБ): основного білка мієліну (ОБМ), білка S-100 та нейронспецифічної енолази (NSE) в сироватках периферичної крові тварин експериментальних груп визначали твердофазним імуноферментним методом [3] через 6, 12, 18 та 37 днів після трансплантації. Всього досліджено 35 тварин.

Математична обробка отриманих результатів проводилася з використанням пакету статистичних програм «Microsoft Office Excel 2003».

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ І ОБГОВОРЕННЯ

У групі тварин з внутрішньомозковим введенням алогенних фетальних НКП рівень аутоантитіл до ОБМ наростав з 6-ї по 12-у добу (відповідно $p < 0,00003$ та $p < 0,031$ у порівнянні з контролем), дещо знижуючись на 18-у добу після трансплантації, проте на 37-у добу достовірно перевищуючи контроль ($p < 0,05$) (рис. 1, А). На противагу, у групі тварин з введенням сингенних фетальних НКП рівень аутоантитіл до ОБМ не відрізнявся від нормального протягом всього терміну дослідження. Показники рівня аутоантитіл до ОБМ достовірно відрізнялись у групах тварин з введенням алогенних та сингенних фетальних НКП на 6-у ($p < 0,014$), 12-у ($p < 0,04$) та 37-у ($p < 0,05$) добу дослідження.

Рівень аутоантитіл до S-100 у групі тварин з введенням алогенних фетальних НКП зростав з 6-ї по 37-у добу, дещо перевищуючи в останній термін контрольні показники; тоді як після введення сингенних НКП цей показник статистично вірогідно не відрізнявся від нормального (рис. 1, Б).

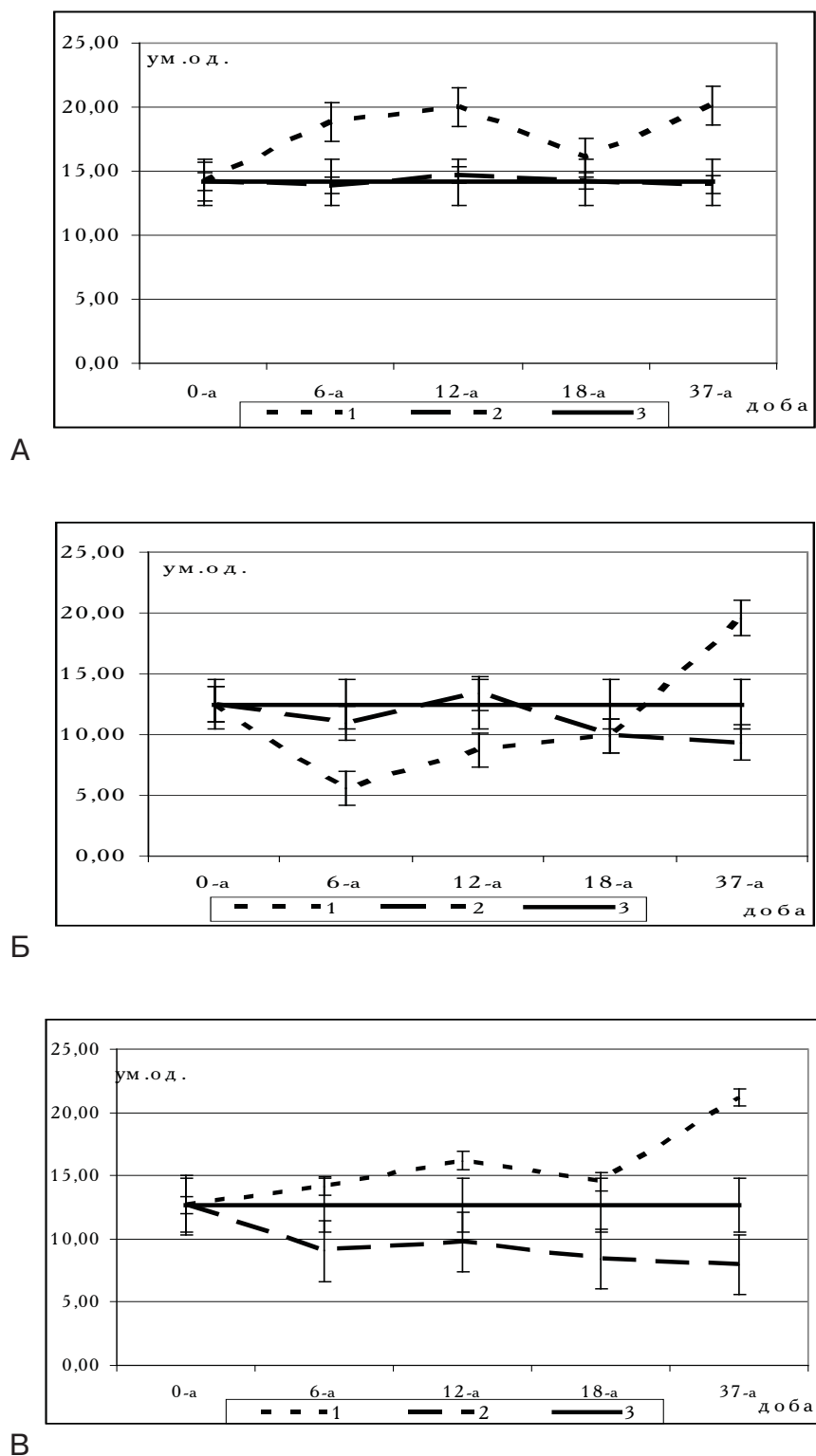


Рис. 1. Рівень аутоантитіл до нейроспецифічних білків в сироватках периферичної крові мишей-реципієнтів С57В1/6 при внутрішньомозковому введенні клітин мишей-донорів (ум.од.):
А – до ОБМ; Б - до S-100; В - до NSE.

- 1 в/мозкове введення алогенних фетальних НКП (Е13-15)СВА донорів
- 2 в/мозкове введення сингенних фетальних НКП (Е13-15)С57В1 донорів
- 3 контроль С57В1 донор (інтактні)

Рівень аутоантитіл до NSE у тварин із введенням алогенних фетальних НКП плавно наростав до 12-ї доби ($p < 0,03$ у порівнянні з контролем), в подальшому достовірно перевищуючи контрольний рівень на 37-у добу ($p < 0,05$) (рис.1,С). Після введення сингенних НКП цей показник був нижчим за контроль протягом всього терміну дослідження ($p < 0,00013 - 0,00004$). Показники рівня аутоантитіл до NSE достовірно відрізнялись у групах тварин з введенням алогенних та сингенних фетальних НКП на 18-у ($p < 0,0003$) та 37-у ($p < 0,05$) добу дослідження.

Розвиток специфічної імунної відповіді на маркерні антигени клітин нервової системи у тварин із трансплантатами алогенних фетальних НКП і відсутність такої відповіді у тварин із трансплантатами сингенних НКП може свідчити про те, що антигенні детермінанти НСБ розпізнаються у комплексі з антигенами гістосумісності. Доказом цього припущення, зокрема, можуть бути відомі дані про те, що амінокислотна послідовність молекули ОБМ 84-102 є імунодомінантним епітопом для Т-клітинної відповіді, вона приєднується у людини до молекул (HLA)-DR2a (DRB5*0101) та HLA-DR2b (DRB1*1501) HLA-DR2 гаплотипу. Показано, що HLA-DP2 також зв'язує ОБМ 85-99 з високою афінністю та може представляти ОБМ85-99 пептид таким же чином, як HLA-DRB1*1501 [12; 23].

Відомо, що в нормальних умовах НСБ присутні у СМР та сироватці крові у низьких концентраціях внаслідок природної загибелі нейроклітин [5]. В нормі до нейроантігенів підтримується імунологічна толерантність за рахунок кількох механізмів [24]: у тимусі експресуються аутоантигени ЦНС, що забезпечує елімінацію дозріваючих аутореактивних Т-клітин; у вторинних лімфоїдних органах аутореактивні Т-клітини, що залишилися, стримуються під контролем регуляторних CD4+Foxp3+ Т-клітин; в тканині ЦНС залучаються численні механізми, в тому числі локальна активація регуляторних Т-клітин. Для запобігання делеції аутореактивних Т-клітин під час негативної селекції аутореактивні Т-клітинні рецептори можуть формувати нестабільні комплекси з комплексом власний пептид-молекула МНС шляхом набування оптимальної топології зв'язку; а також уникання селекції може відбуватись за рахунок слабого з'єднання власного пептиду та молекули МНС [36].

В фізіологічних умовах у інтактних організмів крім НСБ, що присутні у сироватці крові у низьких концентраціях, також існує базовий низький рівень природних аутоантитіл до власних НСБ; в нормі підтримується динамічна рівновага між рівнями НСБ та відповідними специфічними аутоантитілами.

Вважають, що підвищені кількості НСБ за «межами» паренхіми мозку прямо вказують на

пошкодження нервової тканини [5]. НСБ (ОБМ, S-100, NSE, GFAP) є маркерами дисфункції гематоенцефалічного бар'єру та тими біомаркерами, вміст яких у сироватці та спинномозковій рідині (СМР) може бути інструментом моніторингу та прогнозу неврологічного стану у хворих з гострими та хронічними ураженнями ЦНС [8-10,13,17,21,22,26,33,34]. Встановлено, що пошкодження ЦНС можуть спричинювати антимозкову імунну реактивність. Зокрема, у хворих з гострим ішемічним інсультом у сироватці підвищувались рівні аутоантитіл до NSE, GFAP, S100 [18,31]. Протягом 3 міс після експериментального забою мозку у щурів Sprague-Dawley та Lewis виявлялись антитіла IgG до судин базальної ламіни; через 2 тижні після експериментального забою та фіктивного оперативного втручання виявлялись антинейрональні та антиastroцитарні антитіла. Вважають, що присутність антимозкових антитіл може бути потенційною загрозою відстроченої дегенерації мозкової тканини та нейропатології [7,30]. Високоафінні антитіла до НСБ можуть проникати в ЦНС протягом запалення та здатні модулювати клінічні прояви хвороби [27], корелюючи з тяжкістю та клінічним виходом пацієнта [32].

Виявлене нами достовірне підвищення рівня аутоантитіл до нейроантігенів у тварин із трансплантатами алогенних фетальних НК, пов'язане з розвитком специфічної імунної відповіді на маркерні антигени клітин нервової системи, є свідченням того, що фетальні НК 13-15 доби гестації експресують досліджувані нейроантигени.

За даними літератури, вміст НСБ збільшується в процесі дозрівання структур мозку у ссавців і корелює з функціональним розвитком нервової тканини [4]. Наприклад, S-100 в мозку ембріонів людини з'являється у спинному, довгастому, середньому мозку, мості та мозочку у віці 10-15 тижнів пренатального онтогенезу, а в корі переднього мозку ідентифікується тільки у віці 30 тижнів і його вміст корелює з появою електричної активності цієї зони [4]. При диференціації фетальних клітин-попередників олігодендроцитів із спинального мозку щурів 16 доби гестації в олігодендроцити в умовах культивування підвищувалася експресія 83 генів, в тому числі ОБМ [14]. Рівень ОБМ підвищувався втричі у білій речовині фетального мозку вівці у період гестації 0.75-0.90, відображаючи активну диференціацію олігодендроцитів та зростаючу мієлінізацію в цей період розвитку; рівень ГФКБ у цей термін зростав як у сірій, так і у білій речовині, відображаючи диференціацію радіальної глії у зрілі астроцити [29]. З середини гестаційного терміну виявлено експресію ОБМ у фетальному мозку морських свинок [19]. ОБМ-позитивні олігодендроцитальні

клітини у людини зареєстровані, починаючи з 20-го тижня гестації, між 21-и та 35-м тижнями з'являються мієлінізовані аксони, а на 39 тижні - короткі та тонкі мієлінові волокна присутні у гіпокампі. Мієлінізація продовжується після народження, і навіть у віці 11 років щільність мієлінових волокон не досягає рівня дорослого віку [6]. Вважають, що період експоненціального зростання НСБ в онтогенезі співпадає із закінченням проліферації, диференціювання та початком функціонування клітин [4,25]. Виходячи з вищевикладеного, НКП з фетального мозку миші 13-15 доби гестації експресують досліджувані НСБ на рівні, достатньому для індукції гуморальної аутоімунної відповіді.

Вірогідно, при внутрішньомозковому введенні фетальних НКП частина клітин гине, вивільняючи НСБ. Можна припустити, що основними механізмами загибелі імплантованих клітин є апоптоз (у випадку сингенних НКП) та реакції імунного відторгнення (у випадку алогенних НКП). На користь останнього свідчить наше попереднє дослідження, в якому показано, що фетальні НКП (E13-15) здатні індукувати алоспецифічну клітинно-гуморальну імунну відповідь до антигенів гістосумісності, подібну за динамікою до відповіді на клітини лімфовузлів дорослих тварин-донорів, на яких антигени гістосумісності експресуються повноцінно [2].

У тварин з внутрішньомозковим алотрансплантатом фетальних НКП (E13-15) процеси деструкції загиблих імплантованих клітин внаслідок розвитку реакції відторгнення, а також процеси активізації функції та проліферації різних популяцій клітин в зоні вогнища імплантації та на віддаленні від неї супроводжуються, вочевидь, зростанням виходу НСБ через лікворні простори у кров, контактом з антигенпрезентуючими клітинами (дендритними клітинами із міжклітинної та спинномозкової рідини) та індукцією специфічних антитілопродукуючих клітин. При цьому гуморальна аутоімунна відповідь до нейроспецифічних антигенів досягає найбільшого рівня на 37-у добу після трансплантації, що дозволяє припускати, що поряд з антитілами до алоантигенів в реакціях імунного відторгнення можуть брати участь також аутоантитіла до нейроантигенів, які виявляються в різні терміни після алотрансплантації.

У тварин з внутрішньомозковим сингенним трансплантатом фетальних НКП (E13-15) не реєструвалась гуморальна аутоімунна відповідь до нейроспецифічних антигенів. Можна припустити, що у цьому випадку можливими шляхами утилізації НСБ в результаті загибелі імплантованих клітин є: а) деградація НСБ тканинними протеазами; б) поглинання тканинними макрофагами та макрофагами периферичної крові НСБ, що вийшли за межі мозку; в) зв'язування НСБ

циркулюючими природними аутоантитілами.

Отже, необхідно враховувати, що при внутрішньомозковій трансплантації алогенних фетальних НКП гуморальна відповідь може розвиватись не тільки до алоантигенів, але і до специфічних нейроантигенів. Застосування імуноферментного аналізу визначення антитіл до НСБ дозволяє провести діагностику аутоімунної відповіді до нейроантигенів та оцінити ризик імунообумовлених ускладнень при лікуванні неврологічних захворювань методом нейротрансплантації прогеніторних нейроклітин фетального мозку. Додатковим аргументом на користь можливого застосування сингенних НКП з метою клітинної терапії, на нашу думку, може слугувати відсутність розвитку гуморальної аутоімунної відповіді до нейроспецифічних антигенів у тварин з внутрішньомозковим сингенним трансплантатом фетальних НКП.

ВИСНОВКИ

1. У тварин з внутрішньомозковим алотрансплантатом фетальних НКП (E13-15) розвивається гуморальна аутоімунна відповідь до нейроспецифічних антигенів, яка досягає найбільшого рівня на 37-у добу після трансплантації.
2. У тварин з внутрішньомозковим сингенним трансплантатом фетальних НКП (E13-15) не зареєстрована гуморальна аутоімунна відповідь до нейроспецифічних антигенів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Зозуля Ю.А., Лисяний Н.И., Любич Л.Д., Грищенко В.И., Петренко А.Ю., Бабийчук Г.А. Длительное культивирование in vitro криоконсервированных и нативных нейроклёток эмбрионов человека // Укр. Нейрохірургічний журнал. – 2003. – № 2. – С.11-14.
2. Лисяний М.І., Любич Л.Д. Особливості розвитку імунної відповіді на внутрішньомозкове введення алогенних фетальних нейроклітин в експерименті // Імунологія та алергологія. – 2009. – №4. – С.99-109.
3. Лисяний М.І., Любич Л.Д., Черченко А.П., Верхоглядюв Ю.П. Дослідження рівня аутоантитіл до нейроспецифічних білків у кролів після алогенної внутрішньомозкової трансплантації ембріональних клітин-попередників нервової системи // Фізіологічний журнал. – 2006. – т.52, № 3. – С.64-69.
4. Никандров В.Н., Чаплинская Е.В. Протеин S-100: структурно-функциональные свойства и роль в нервной ткани // Біополімери і клітина. – 2005. – Т.21, №1. – С.12-27.

5. Чехонин В.П., Лебедев С.В., Гурина О.И. и др. Элиминация нейроспецифических белков из ЦНС (патогенетические и методические аспекты) // Вестник Российской АМН.– 2006.–№6.–С.3-12.
6. *Abrahám H., Vincze A., Jewgenow I. et al.* Myelination in the human hippocampal formation from midgestation to adulthood. *Int J Dev Neurosci.* 2010;40:1-10.
7. *Ankeny D. P., Lucin K. M., Sanders V. M. et al.* Spinal cord injury triggers systemic autoimmunity: evidence for chronic B lymphocyte activation and lupus-like autoantibody synthesis // *J. Neurochem.*-2006.-99(4):1073-87.
8. *Berger R. P., Adelson P. D., Pierce M. C. et al.* Serum neuron-specific enolase, S100B, and myelin basic protein concentrations after inflicted and noninflicted traumatic brain injury in children. *J Neurosurg.* 2005;103 (1 Suppl):61-8.
9. *Berger R.P., Bazaco M.C., Wagner A.K. et al.* Trajectory analysis of serum biomarker concentrations facilitates outcome prediction after pediatric traumatic and hypoxic brain injury. *Dev Neurosci.* 2010;32(5-6):396-405.
10. *Brouns R., De Vil B., Cras P. et al.* Neurobiochemical markers of brain damage in cerebrospinal fluid of acute ischemic stroke patients. *Clin Chem.* 2010;56(3):451-8.
11. *Chen Z., Palmer T.D.* Cellular repair of CNS disorders: an immunological perspective. *Hum Mol Genet.*2008; 17: 84-92.
12. *Hansen B.E., Nielsen C.H., Madsen H.O. et al.* The HLA-DP2 protein binds the immunodominant epitope from myelin basic protein, MBP85-99, with high affinity. *Tissue Antigens.* 2011;77(3):229-34.
13. *Honda M., Tsuruta R., Kaneko T. et al.* Serum glial fibrillary acidic protein is a highly specific biomarker for traumatic brain injury in humans compared with S-100B and neuron-specific enolase. *J Trauma.* 2010;69(1):104-9.
14. *Hu J.G., Wang Y.X., Zhou J.S. et al.* Differential Gene Expression in Oligodendrocyte Progenitor Cells, Oligodendrocytes and Type II Astrocytes. *Tohoku J Exp Med.* 2011;223(3):161-76.
15. *Ideguchi M., Shinoyama M., Gomi M. et al.* Immune or inflammatory response by the host brain suppresses neuronal differentiation of transplanted ES cell-derived neural precursor cells. *J.Neurosci.Res.*2008; 86(9): 1936-1943.
16. *Imitola J., Comabella M., Chandraker A.K. et al.* Neural stem/progenitor cells express costimulatory molecules that are differentially regulated by inflammatory and apoptotic stimuli. *Am.J.Pathol.* 2004; 164(5): 1615-1622.
17. *Kaca-Oryńska M, Tomasiuk R, Friedman A.* Neuron-specific enolase and S 100B protein as predictors of outcome in ischaemic stroke. *Neurol Neurochir Pol.* 2010;44(5):459-63.
18. *Kamchatov P.R., Ruleva N.Iu., Dugin S.F. et al.* [Neurospecific proteins and autoantibodies in serum of patients with acute ischemic stroke]. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova.* 2009;109(5 Suppl 2):69-72.
19. *Kelleher M.A., Palliser H.K., Walker D.W., Hirst J.J.* Sex-dependent effect of a low neurosteroid environment and intrauterine growth restriction on foetal guinea pig brain development. *J Endocrinol.* 2011;208(3):301-9.
20. *Kim D.E., Tsuji K., Kim Y.R. et al.* Neural stem cell transplant survival in brains of mice: assessing the effect of immunity and ischemia by using real-time bioluminescent imaging. *Radiology* 2006; 241(3): 822-830.
21. *Lamers K.J., Vos P., Verbeek M.M. et al.* Protein S-100B, neuron-specific enolase (NSE), myelin basic protein (MBP) and glial fibrillary acidic protein (GFAP) in cerebrospinal fluid (CSF) and blood of neurological patients. *Brain Res Bull.* 2003;61(3):261-4.
22. *Levine G.J., Levine J.M., Witsberger T.H. et al.* Cerebrospinal fluid myelin basic protein as a prognostic biomarker in dogs with thoracolumbar intervertebral disk herniation. *J Vet Intern Med.* 2010;24(4):890-6.
23. *Li Y., Li H., Martin R., Mariuzza R.A.* Structural basis for the binding of an immunodominant peptide from myelin basic protein in different registers by two HLA-DR2 proteins. *J Mol Biol.* 2000 Nov 24;304(2):177-88.
24. *Liblau R., Cassan C.* [Immune tolerance and control of CNS autoimmunity: from animal models to MS patients] // *Rev Neurol (Paris).*- 2007.- 163, 1.-P.12-22.
25. *Modi P.K., Kanungo M.S.* Age-dependent expression of S100beta in the brain of mice. *Cell Mol Neurobiol.* 2010;30(5):709-16.
26. *Murillo-Cabezas F., Muñoz-Sánchez M.A., Rincón-Ferrari M.D. et al.* The prognostic value of the temporal course of S100beta protein in post-acute severe brain injury: A prospective and observational study. *Brain Inj.* 2010;24(4):609-19.
27. *O'Connor K.C., Lopez-Amaya C., Gagne D. et al.* Anti-myelin antibodies modulate clinical expression of childhood multiple sclerosis. *Neuroimmunol.* 2010;223(1-2):92-9.
28. *Preynat-Seauve O., de Rham C., Tirefort D. et al.* Neural progenitors derived from human embryonic stem cells are targeted by allogeneic T and natural killer cells // *J.Cell Mol.Med.* - 2009.- 13(9B):3556-69.

29. Rocha E., Totten S., Hammond R. et al. Structural proteins during brain development in the preterm and near-term ovine fetus and the effect of intermittent umbilical cord occlusion. *Am J Obstet Gynecol.* 2004;191(2):497-506.
30. Rudehill S., Muhallab S., Wennersten A. et al. Autoreactive antibodies against neurons and basal lamina found in serum following experimental brain contusion in rats // *Acta Neurochir. (Wien).* -2006.-148(2):199-205.
31. Ruleva N.Iu., Kuzin V.M., Martynov M.Iu. et al. [Markers of inflammation, autoantibodies to neurospecific antigens and outcome in patients with acute ischemic stroke]. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova.* 2004;(Suppl 12):60-5.
32. Sorokina E.G., Semenova Zh.B., Granstrem O.K. et al. [S100B protein and autoantibodies to S100 B protein in diagnostics of brain damage in craniocerebral trauma in children]. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova.* 2010;110(8):30-5.
33. Sjödin M.O., Bergquist J., Wetterhall M. Mining ventricular cerebrospinal fluid from patients with traumatic brain injury using hexapeptide ligand libraries to search for trauma biomarkers. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2010;878(22):2003-12.
34. Vos P.E., Jacobs B., Andriessen T.M. et al. GFAP and S100B are biomarkers of traumatic brain injury: an observational cohort study. *Neurology.* 2010;75(20):1786-93.
35. Ubiali F., Nava S., Nessi V. et al. Allorecognition of human neural stem cells by peripheral blood lymphocytes despite low expression of MHC molecules: role of TGF-beta in modulating proliferation. *Int.Immunol.* 2007; 19(9): 1063-1074.
36. Yin Y., Li Y., Kerzic M.C. et al. Structure of a TCR with high affinity for self-antigen reveals basis for escape from negative selection. *EMBO J.* 2011;30(6):1137-48.

РЕЗЮМЕ

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИТЕЛООБРАЗОВАНИЯ К НЕЙРОСПЕЦИФИЧЕСКИМ БЕЛКАМ (НСБ) ПРИ ВНУТРИМОЗГОВОМ ВВЕДЕНИИ СИНГЕННЫХ И АЛЛОГЕННЫХ ФЕТАЛЬНЫХ НЕЙРОКЛЕТОК-ПРЕКУРСОРІВ (НКП)

Любич Л.Д.

ГУ «Институт нейрохирургии им. акад.А.П.Ромоданова АМН України», Киев, Украина

Целью данной работы было сравнить развитие нейроспецифических иммунных реакций при внутримозговом введении сингенных и аллогенных фетальных НКП. НКП мышей-доноров CBA или C57Bl/6 (срок гестации 13-15 суток) вводили в мозг мышам-реципиентам C57Bl/6 в количестве 1x10⁶ клеток на животное. Уровень аутоантител к нейроспецифическим белкам (НСБ): основному белку миеллина (ОБМ), белка S-100 и нейронспецифической енолазе (NSE) в сыворотках периферической крови животных экспериментальных групп определяли твердофазным иммуноферментным методом через 6, 12, 18 и 37 суток после трансплантации.

У животных с внутримозговым аллотрансплантатом фетальных НКП (E13-15) развивался гуморальный аутоиммунный ответ к нейроспецифическим антигенам, достигавший максимума к 37-м суткам после трансплантации. У животных с внутримозговым сингенным трансплантатом фетальных НКП (E13-15) не зарегистрирован гуморальный аутоиммунный ответ к нейроспецифическим антигенам.

SUMMARY

EVALUATION OF ANTIBODY GENERATION TO NEUROSPECIFIC PROTEINS (NSP) BY THE INTRACEREBRAL IMPLANTATION OF SYNGENEIC AND ALLOGENEIC FOETAL NEUROCELLS-PRECURSORS (NPC)

Liubych L.D.

SI «Acad.A.P.Romodanov Institute of Neurosurgery Acad.Med.Sci. of Ukraine», Kyiv

The purpose of paper was the comparative study of neurospecific immune response in mice by intracerebral implantation of syngeneic and allogeneic foetal NPC. NPC (E13-15) from mice-donors CBA or C57Bl/6 were inoculated by standart procedure in right cerebral hemisphere of mice-recipients C57Bl/6 (1x10⁶ cells per animal). The antibodies' level to neurospecific proteins (NSP): myelin basic protein (MBP), protein S-100 and neuronspecific enolase (NSE) in peripheral blood serum of experimental animals were detected by ELISA on day 6, 12, 18 and 37 after neurotransplantation.

Animals with intracerebral allotransplantat of foetal NPC (E13-15) generated the humoral autoimmune response to neurospecific antigens, which achieved maximum till day 37 after neurotransplantation. In animals with intracerebral syngeneic transplantat of foetal NPC (E13-15) the humoral autoimmune response to neurospecific antigens was not generated.

Key words: allogeneic foetal neural progenitor cells, syngeneic foetal neural progenitor cells, neurotransplantation, autoimmune response to neurospecific antigens, ELISA.