

УДК : 612.017.1:591.481.1:616-001.001.57-092.9.259-089.843

ДОСЛІДЖЕННЯ ІМУННИХ РЕАКЦІЙ ПРИ МОДЕЛЮВАННІ ДОЗОВАНОГО ТРАВМАТИЧНОГО ПОШКОДЖЕННЯ ПІВКУЛІ МОЗОЧКА У ЩУРІВ ТА ТРАНСПЛАНТАЦІЇ АЛОГЕННИХ НСК-ВМІСНИХ ТКАНИН

*ЦИМБАЛЮК В.І., ЛІСЯНИЙ М.І., ГНЄДКОВА І.О.,
ЛЮБИЧ Л.Д., СЕНЧИК Ю.Ю., МЕДВЕДЄВ В.В.*

ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П.Ромоданова НАМН України»

Як відомо, для відновлення втрачених або порушених функцій ЦНС застосовують трансплантацію нейрогенних стовбурових клітин (НСК) та нейрогенних прогеніторних клітин (НКП). Для позитивного результату трансплантації НСК та НКП необхідне тривале виживання пересаджених клітин, їх інтеграція в нервову тканину реципієнта, а також відсутність несприятливих побічних наслідків. У зв'язку з цим важливими є дослідження реакції імунної системи реципієнтів у відповідь на пересаджувані клітини.

Останні дослідження свідчать, що алогенні НСК можуть викликати імунну активацію у віддаленому періоді після трансплантації. Зокрема показано, що 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 [1-5]. НСК людини розпізнаються і викликають імунну відповідь в ало- і ксеногенних системах *ex vivo*, вони мають хоча і низький імунологічний потенціал, проте рівень його є достатнім для активації периферичних лімфоцитів реципієнта [6].

Оскільки дані щодо можливості НСК викликати імунологічні ускладнення при трансплантації є недостатніми, метою даної роботи було дослідити розвиток імунних реакцій при внутрішньомозковій трансплантації алогенних фетальних тканин, що містять НСК.

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ

Матеріалом для дослідження слугувала периферична кров білих безпородних щурів експериментальних груп розводки віварію ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П.Ромоданова АМН України». 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.

Експериментальних тварин розділили на групи:

- 1) локальна дозована травма лівої гемісфери мозочка середнього ступеня тяжкості (n=30);
- 2) локальна дозована травма лівої гемісфери мозочка з хірургічним видаленням некрозу в ділянці вогнища забою на 7-у добу (n=21);
- 3) локальна дозована травма лівої гемісфери мозочка з хірургічним видаленням некрозу в ділянці вогнища забою на 7-у добу з одночасною трансплантацією алогенної тканини фетального мозочка (ТФМ) (n=20);
- 4) локальна дозована травма лівої гемісфери мозочка з хірургічним видаленням некрозу в ділянці вогнища забою на 7-у добу з одночасною трансплантацією алогенної тканини ольфакторної цибулини (ТОЦ) (n=21);
- 5) локальна дозована травма лівої гемісфери мозочка з хірургічним видаленням некрозу в ділянці вогнища забою на 7-у добу з одночасною трансплантацією алогенної тканини фетальної нирки (ТФН) (n=20);
- 6) інтактні (контрольні) тварини (n=13).

На 7-у, 14-у, 30-у та 60-у добу після нанесення травми у тварин експериментальних груп забирали периферичну кров та проводили імунологічні дослідження.

Рівень проліферативної активності лімфоцитів периферичної крові експериментальних тварин визначали в реакції бласттрансформації за методикою [7] з додаванням мітогенів (фітогемаглютиніну (ФГА), конканаваліну А (ConA), індометацину (Ind), декстрансульфату (Dx), загального мозкового антигену (МАГ)).

Рівень аутоантитіл до нейроспецифічних антигенів: сірої речовини мозку (SPM) та нейронспецифічної енолази (NSE) в сироватках периферичної крові тварин експериментальних груп визначали твердофазним імуноферментним методом [8].

Всього досліджено 125 тварин.

Статистична обробка отриманих результатів проводилася у програмному середовищі Matlab R2010B (Mathworks, Natick, Massachusetts, U.S.A).

РЕЗУЛЬТАТИ**Визначення проліферативної активності лімфоцитів периферичної крові при моделюванні локального дозованого травматичного пошкодження півкулі мозочка у щурів та трансплантації алогенних НСК-вмісних тканин**

Метою даного фрагменту дослідження було охарактеризувати стан клітинної ланки імунної системи щурів експериментальних груп у відповідь на Т-мітогени (ФГА, ConA), В-мітоген (декстрансульфат) та специфічну клітинну відповідь до нейроантигенів (аутоімунну клітинну відповідь).

У інтактних експериментальних тварин частка лімфоцитів периферичної крові, що спонтанно трансформувались у бласти, становила (12,7±4,88)%. У групі тварин з локальною дозованою травмою лівої гемісфери мозочка спонтанна проліферативна активність лімфоцитів дещо зростала на 14-у добу, різко зменшувалась на 30-у добу ($p < 0,00356$ у порівнянні з контролем), дещо підвищуючись до 60-ї доби, але не досягаючи фізіологічного рівня ($p < 0,03527$ у порівнянні з контролем) (рис. 1, А). У групі тварин з локальною дозованою травмою лівої гемісфери мозочка та хірургічним видаленням некрозу в ділянці вогнища забою спонтанна проліферативна активність лімфоцитів знижувалась відносно фізіологічної норми на 30-у добу ($p < 0,047296$ у порівнянні з контролем), достовірно не відрізняючись від неї в інші терміни дослідження (14-а та 60-а доба). Даний показник у цій групі на 30-у добу достовірно перевищував показник тварин у групі з травмою мозочка без наступної операції ($p < 0,03$).

У тварин з локальною дозованою травмою лівої гемісфери мозочка та хірургічним видаленням некрозу в ділянці вогнища забою на 7-у добу з одночасною трансплантацією фетальних тканин спонтанна проліферативна активність лімфоцитів достовірно знижувалась відносно фізіологічної норми: на 14-у, 30-у та 60-у добу у тварин з трансплантацією ТФМ ($p < 0,04396$, $p < 0,02844$, $p < 0,02846$ відповідно у порівнянні з контролем); на 60-у добу у тварин з трансплантацією ТОЦ ($p < 0,01186$ у порівнянні з контролем) та ТФП ($p < 0,0006$ у порівнянні з контролем). При цьому через 2 міс після травми даний показник був найменшим у групі тварин з трансплантацією ТФП, достовірно відрізняючись від показника тварин з травмою лівої гемісфери мозочка та хірургічним видаленням некрозу в ділянці вогнища забою ($p < 0,016$).

У інтактних експериментальних тварин частка лімфоцитів периферичної крові, що трансформувались у бласти у відповідь на ФГА, становила (44,41±8,69)%. У групі тварин з локальною дозованою травмою лівої гемісфери мо-

зочка проліферативна відповідь лімфоцитів на ФГА різко зменшувалась на 7-у добу ($p < 0,00259$ у порівнянні з контролем), поверталась до фізіологічної норми на 14-у добу та поступово зменшувалась до 60-ї доби ($p < 0,0015$ у порівнянні з контролем) (рис. 1, В). У групі тварин з локальною дозованою травмою лівої гемісфери мозочка та хірургічним видаленням некрозу в ділянці вогнища забою проліферація лімфоцитів у відповідь на ФГА після різкого зменшення на 7-у добу поступово підвищувалась до фізіологічного рівня, практично досягаючи його через 2 міс після втручання. Даний показник у цій групі на 60-у добу достовірно перевищував показник тварин у групі з травмою мозочка без наступної операції ($p < 0,08$).

У тварин з локальною дозованою травмою лівої гемісфери мозочка та хірургічним видаленням некрозу в ділянці вогнища забою на 7-у добу з одночасною трансплантацією фетальних тканин проліферативна активність лімфоцитів у відповідь на ФГА була достовірно нижчою за контроль у всі терміни спостереження ($p < 0,00009-0,04$); достовірно нижчою за показники тварин з травмою мозочка без наступної операції на 14-у добу ($p < 0,01-0,03$) та достовірно нижчою за показники тварин з травмою мозочка і наступним хірургічним видаленням некрозу на 60-у добу ($p < 0,0003-0,02$). При цьому даний показник у тварин цих груп так і не досягав фізіологічної норми ні до 30-ї, ні до 60-ї доби спостереження.

Схожа, але дещо менш різка динаміка проліферативної активності лімфоцитів тварин експериментальних груп спостерігалась у відповідь на ФГА з додаванням індометацину – умови, що характеризують стан індометацинчутливих супресорів. У інтактних експериментальних тварин частка лімфоцитів периферичної крові, що трансформувались у бласти у відповідь на ФГА+індометацин, становила (53,06±13,30)%. У групі тварин з локальною дозованою травмою лівої гемісфери мозочка проліферативна відповідь лімфоцитів на ФГА+індометацин різко зменшувалась на 7-у добу ($p < 0,01164$ у порівнянні з контролем), підвищувалась майже до фізіологічної норми на 14-у добу та утримувалась на досягнутому рівні до 60-ї доби (рис. 1, С). У групі тварин з локальною дозованою травмою лівої гемісфери мозочка та хірургічним видаленням некрозу в ділянці вогнища забою проліферація лімфоцитів у відповідь на ФГА+індометацин після різкого зменшення на 7-у добу поступово підвищувалась до фізіологічного рівня, практично досягаючи його через 2 міс після втручання.

У тварин з локальною дозованою травмою лівої гемісфери мозочка та хірургічним видаленням некрозу в ділянці вогнища забою на 7-у добу з одночасною трансплантацією фетальних тканин проліферативна активність лімфоцитів

у відповідь на ФГА+індометацин була достовірно нижчою за контроль у всі терміни спостереження ($p < 0,0002-0,01$); достовірно нижчою за показники тварин з травмою мозочка без наступної операції на 60-у добу ($p < 0,001-0,037$) та достовірно нижчою за показники тварин з травмою мозочка і наступним хірургічним видаленням некрозу на 60-у добу ($p < 0,0008-0,009$). При цьому даний показник у тварин цих груп так і не досягав фізіологічної норми ні до 30-ї, ні до 60-ї доби спостереження, та був мінімальним у групі тварин з травмою і трансплантацією ТФМ на 60-у добу.

Дещо іншою була динаміка проліферативної активності лімфоцитів тварин експериментальних груп у відповідь на ConA. У інтактних експериментальних тварин частка лімфоцитів периферичної крові, що трансформувались у бласти у відповідь на ConA, становила (35,59+16,60)%. У групі тварин з локальною дозованою травмою лівої гемісфери мозочка проліферативна відповідь лімфоцитів на ConA підвищувалась на 14-у добу, а потім знижувалась на 30-у добу та утримувалась на низькому рівні до 60-ї доби (рис. 2, D). У групі тварин з локальною дозованою травмою лівої гемісфери мозочка та хірургічним видаленням некрозу в ділянці вогнища забою проліферація лімфоцитів у відповідь на ConA різко підвищувалась на 14-у добу ($p < 0,026$ порівняно з контролем), через 1 міс поверталась до фізіологічного рівня, проте через 2 міс після втручання знову дещо зростала. При цьому даний показник у тварин з травмою та видаленням некрозу достовірно перевищував показник тварин з травмою без наступної операції через 30 та 60 днів ($p < 0,03$ та $p < 0,005$ відповідно).

У тварин з локальною дозованою травмою лівої гемісфери мозочка та хірургічним видаленням некрозу в ділянці вогнища забою на 7-у добу з одночасною трансплантацією ТФМ проліферативна активність лімфоцитів у відповідь на ConA дещо знижувалась відносно контролю через 1-2 міс спостереження та була достовірно нижчою за показники тварин з травмою мозочка без наступної операції на 14-у добу ($p < 0,03$) та достовірно нижчою за показники тварин з травмою мозочка і наступним хірургічним видаленням некрозу на 14-у та 60-у добу ($p < 0,047$ та $p < 0,015$ відповідно).

У тварин з локальною дозованою травмою лівої гемісфери мозочка та хірургічним видаленням некрозу в ділянці вогнища забою на 7-у добу з одночасною трансплантацією ТОЦ рівень проліферації лімфоцитів у відповідь на ConA виявився достовірно нижчим за контроль та показники тварин з травмою мозочка та у тварин з травмою і наступною операцією на 14-у добу (відповідно $p < 0,048$, $p < 0,007$, $p < 0,007$); в наступні терміни цей показник поступово збільшу-

вався, досягаючи фізіологічної норми та достовірно відрізняючись на 30-у та 60-у добу від показника тварин з локальною травмою мозочка ($p < 0,047$ та $p < 0,01$ відповідно).

У тварин з локальною дозованою травмою лівої гемісфери мозочка та хірургічним видаленням некрозу в ділянці вогнища забою на 7-у добу з одночасною трансплантацією ТФП рівень проліферації лімфоцитів у відповідь на ConA поступово знижувався, починаючи з 7-ї доби; на 14-у добу був достовірно нижчим за показники тварин з травмою мозочка та тварин з травмою і наступною операцією (відповідно $p < 0,007$, $p < 0,01$) та досягав мінімальних показників на 30-у добу, достовірно нижчих за контроль та показники тварин з травмою мозочка і наступною операцією та травмою мозочка і трансплантацією ТОЦ (відповідно $p < 0,0068$, $p < 0,008$, $p < 0,017$); через 2 міс значно підвищувався, але не досягав фізіологічної норми.

У відповідь на декстрансульфат у інтактних експериментальних тварин частка лімфоцитів периферичної крові, що трансформувались у бласти, становила (58,53+11,68)%. У групі тварин з локальною дозованою травмою лівої гемісфери мозочка проліферативна відповідь лімфоцитів на Dx була в межах норми протягом 14-ти діб, різко знижувалась на 30-у добу ($p < 0,04$ порівняно з контролем), та поверталась до норми через 2 міс (рис. 2, E). У групі тварин з локальною дозованою травмою лівої гемісфери мозочка та хірургічним видаленням некрозу в ділянці вогнища забою проліферація лімфоцитів у відповідь на Dx різко зменшувалась на 14-у добу ($p < 0,028$ порівняно з контролем та $p < 0,01$ порівняно з показниками тварин з травмою без наступної операції), через 1-2 міс поступово підвищуючись, але не досягаючи фізіологічного рівня.

У тварин з локальною дозованою травмою лівої гемісфери мозочка та хірургічним видаленням некрозу в ділянці вогнища забою на 7-у добу з одночасною трансплантацією ТФМ проліферативна активність лімфоцитів у відповідь на Dx була в межах норми протягом 2-х тижнів, різко знижувалась на 30-у добу ($p < 0,019$ порівняно з контролем), потім збільшувалась, але не досягала норми через 2 міс. При цьому показники тварин цієї групи були достовірно нижчими за показники тварин з травмою мозочка та наступною операцією на 14-у добу ($p < 0,04$) та показники тварин з травмою мозочка без хірургічного видалення некрозу на 60-у добу ($p < 0,004$).

У тварин з локальною дозованою травмою лівої гемісфери мозочка та хірургічним видаленням некрозу в ділянці вогнища забою на 7-у добу з одночасною трансплантацією ТОЦ рівень проліферації лімфоцитів у відповідь на Dx практично не відрізнявся від контролю у всі терміни спостереження.

У тварин з локальною дозованою травмою лівої гемісфери мозочка та хірургічним видаленням некрозу в ділянці вогнища забою на 7-у добу з одночасною трансплантацією ТФП рівень проліферації лімфоцитів у відповідь на Dх фактично не відрізнявся від контролю протягом 1 міс спостереження, а потім знижувався на 60-у добу, досягаючи рівня, достовірно нижчого за показники тварин з травмою мозочка ($p < 0,004$).

Зовсім іншою була динаміка проліферативної активності лімфоцитів тварин експериментальних груп у відповідь на МАГ. У інтактних експериментальних тварин частка лімфоцитів периферичної крові, що трансформувались у бласти у відповідь на МАГ, становила $(14,65 \pm 5,01)\%$. У групі тварин з локальною дозованою травмою лівої гемісфери мозочка проліферативна відповідь лімфоцитів на МАГ знижувалась на 7-у добу ($p < 0,0016$ порівняно з контролем), потім різко підвищувалась на 14-у добу ($p < 0,0013$ порівняно з контролем), через 1 міс знижувалась та знову підвищувалась через 2 міс (рис.2,F). У групі тварин з локальною дозованою травмою лівої гемісфери мозочка та хірургічним видаленням некрозу в ділянці вогнища забою проліферація лімфоцитів у відповідь на МАГ мала подібну динаміку, однак підвищення показника на 14-у добу було значно меншим різким (меншим у 1,5 разу).

У тварин з локальною дозованою травмою лівої гемісфери мозочка та хірургічним видаленням некрозу в ділянці вогнища забою на 7-у добу з одночасною трансплантацією ТФМ проліферативна активність лімфоцитів у відповідь на МАГ після зниження на 7-у добу поверталась до норми на 14-у добу (у цей термін показник був достовірно нижчим за показники тварин з травмою мозочка ($p < 0,023$)), у подальшому поступово підвищуючись до 60-ї доби ($p < 0,019$ порівняно з контролем).

У тварин з локальною дозованою травмою лівої гемісфери мозочка та хірургічним видаленням некрозу в ділянці вогнища забою на 7-у добу з одночасною трансплантацією ТОЦ рівень проліферації лімфоцитів у відповідь на МАГ виявився достовірно нижчим за контроль та показники тварин з травмою мозочка та у тварин з травмою і наступною операцією на 14-у добу (відповідно $p < 0,021$, $p < 0,007$, $p < 0,02$); на 30-у добу різко підвищувався ($p < 0,0053$ порівняно з контролем) та зменшувався до 60-ї доби, однак не досягав нормальних показників.

У тварин з локальною дозованою травмою лівої гемісфери мозочка та хірургічним видаленням некрозу в ділянці вогнища забою на 7-у добу з одночасною трансплантацією ТФП рівень проліферації лімфоцитів у відповідь на МАГ після зниження на 7-у добу поступово підвищувався до 30-ї доби, залишаючись на високому рівні

через 2 міс спостереження ($p < 0,016$ порівняно з контролем).

Таким чином, у тварин з локальною травмою мозочка та наступною трансплантацією фетальних тканин відбувається пригнічення проліферативної відповіді лімфоцитів на Т-мітогени (ФГА, ConA), тобто пригнічення клітинної імунної відповіді, що розвивається за Th1-шляхом, як у гострий період, так і у віддалені терміни спостереження (2 міс).

Проліферативна відповідь на В-мітоген (декстрансульфат) також знижувалась у тварин з локальною дозованою травмою лівої гемісфери мозочка (30-а доба), у тварин з травмою і хірургічним видаленням некрозу (14-а доба), у тварин з травмою і трансплантацією ТФМ (30-а доба); в інші терміни та у інших групах наближаючись до фізіологічного контролю. Таким чином, у певні терміни імунна відповідь, що розвивається за Th2-шляхом, була пригнічена, особливо у групі тварин з травмою і трансплантацією ТФМ, тоді як в інших групах цей показник залишався відносно збереженим.

На противагу, клітинні аутоімунні реакції, які характеризувались проліферативною відповіддю лімфоцитів на МАГ – сумарний нейроспецифічний антиген – активізувались, починаючи з 14-ї доби та досягали максимальних показників через 1-2 міс спостереження.

Визначення аутоантитілоутворення до нейроспецифічних антигенів при моделюванні локального дозованого травматичного пошкодження півкулі мозочка у щурів та трансплантації алогенних НСК-вмісних тканин

Метою даного фрагменту дослідження було охарактеризувати стан гуморальної аутоімунної відповіді щурів експериментальних груп до специфічних антигенів мозку. В якості останніх використовували сумарний антиген сірої речовини мозку (SPM) та нейронспецифічну енолазу (NSE), що вважається маркером нейронів.

У групі тварин з локальною дозованою травмою лівої гемісфери мозочка рівень аутоантитіл до СРМ дещо зростав на 14-у добу, утримувався на тому ж рівні до 30-ї доби, а до 60-ї доби повертався до фізіологічних значень (рис.3,A). На противагу, у групі тварин з локальною дозованою травмою лівої гемісфери мозочка та хірургічним видаленням некрозу в ділянці вогнища забою на 7-у добу рівень аутоантитіл до СРМ достовірно підвищувався на 14-у добу ($p < 0,0061$ у порівнянні з контролем), зменшуючись у наступні терміни дослідження (30-а та 60-а доба). Однак через 2 міс цей показник у групі тварин з хірургічним видаленням некрозу достовірно перевищував показник у групі з травмою мозочка без наступної операції ($p < 0,01$).

У тварин з локальною дозованою травмою лівої гемісфери мозочка та хірургічним вида-

ленням некрозу в ділянці вогнища забою на 7-у добу з одночасною трансплантацією ТФМ рівень аутоантитіл до СРМ зростав на 14-у добу, достовірно перевищуючи показник тварин з травмою і хірургічним видаленням некрозу ($p < 0,015$), і залишався підвищеним через 2 міс дослідження, достовірно перевищуючи показники інтактних тварин, а також тварин з травмою мозочка та тварин з травмою і наступною операцією (відповідно $p < 0,0076$, $p < 0,003$, $p < 0,021$).

У тварин з локальною дозованою травмою лівої гемісфери мозочка та хірургічним видаленням некрозу в ділянці вогнища забою на 7-у добу з одночасною трансплантацією ТОЦ рівень аутоантитіл до СРМ на 14-у добу виявився достовірно нижчим, ніж у групах тварин з травмою мозочка і наступною операцією та у тварин з трансплантацією ТФМ (відповідно $p < 0,0079$, $p < 0,007$); в наступні терміни цей показник поступово збільшувався, достовірно відрізняючись на 60-у добу від показника тварин з локальною травмою мозочка ($p < 0,0009$).

У тварин з локальною дозованою травмою лівої гемісфери мозочка та хірургічним видаленням некрозу в ділянці вогнища забою на 7-у добу з одночасною трансплантацією ТФП рівень аутоантитіл до СРМ зростав на 14-у добу, достовірно перевищуючи контроль та показники тварин з травмою мозочка і трансплантацією ТОЦ (відповідно $p < 0,0023$, $p < 0,0079$); дещо знижувався на 30-у добу, проте на 60-у добу значуще підвищувався і достовірно відрізнявся від контролю та показників тварин усіх інших груп ($p < 0,00054$, $p < 0,00003$, $p < 0,001$, $p < 0,037$, $p < 0,0079$ відповідно).

Таким чином, рівень аутоантитіл до СРМ досягав максимальних показників на 14-у добу дослідження у групах тварин з локальною дозованою травмою лівої гемісфери мозочка та хірургічним видаленням некрозу в ділянці вогнища забою та тварин з трансплантацією ТФН, а також на 60-у добу дослідження у групах тварин з травмою мозочка і трансплантацією ТФМ та ТФН.

У групі тварин з локальною дозованою травмою лівої гемісфери мозочка рівень аутоантитіл до NSE зростав на 7-у добу, достовірно перевищуючи контрольний показник ($p < 0,0013$), а в наступні терміни знижувався і утримувався на рівні, дещо вищому за контроль (рис.3,Б). У тварин з локальною дозованою травмою лівої гемісфери мозочка та хірургічним видаленням некрозу в ділянці вогнища забою рівень аутоантитіл до NSE після підвищення на 7-у добу різко зменшувався на 14-у добу, а в подальшому знову зростав (30-а та 60-а доба), достовірно перевищуючи на 60-у добу показники інтактних тварин та тварин з травмою мозочка без наступної операції ($p < 0,028$ та $p < 0,0076$ відповідно).

У тварин з локальною дозованою травмою лівої гемісфери мозочка та хірургічним видаленням некрозу в ділянці вогнища забою на 7-у добу з одночасною трансплантацією ТФМ рівень аутоантитіл до NSE підвищувався на 7-у добу ($p < 0,0013$ у порівнянні з контролем) та утримувався на високому рівні на 14-у ($p < 0,0023$ у порівнянні з контролем) та 30-у добу, знижуючись до фізіологічного рівня лише через 2 міс дослідження. При цьому показник цієї групи достовірно перевищував аналогічний показник тварин з травмою мозочка і наступною операцією на 14-у добу ($p < 0,007$) та показник тварин з травмою мозочка на 30-у добу ($p < 0,01$).

У тварин з локальною дозованою травмою лівої гемісфери мозочка та хірургічним видаленням некрозу в ділянці вогнища забою на 7-у добу з одночасною трансплантацією ТОЦ рівень аутоантитіл до NSE підвищувався на 7-у та 14-у добу ($p < 0,0039$ у порівнянні з контролем), дещо знижуючись на 30-у ($p < 0,026$ у порівнянні з контролем) та 60-у добу, але не досягаючи фізіологічного рівня. При цьому показник цієї групи достовірно перевищував аналогічний показник тварин з травмою мозочка і наступною операцією на 14-у добу ($p < 0,007$).

У тварин з локальною дозованою травмою лівої гемісфери мозочка та хірургічним видаленням некрозу в ділянці вогнища забою на 7-у добу з одночасною трансплантацією ТФП рівень аутоантитіл до NSE зростав на 7-у добу, достовірно перевищуючи контроль ($p < 0,0013$), а в наступні терміни дещо знижувався (на 30-у добу перевищуючи контроль ($p < 0,038$)), але не досягав рівня інтактних тварин.

Таким чином, рівень аутоантитіл до NSE досягав максимальних показників з 7-ї по 14-у добу дослідження у групах тварин з травмою та хірургічним видаленням некрозу в ділянці вогнища забою і одночасною трансплантацією ТФМ та ТОЦ, а також на 30-у добу дослідження у тварин з травмою мозочка і трансплантацією ТФМ. Через 2 міс дослідження рівень аутоантитіл до NSE зменшувався у всіх групах тварин, але найбільш значуще (практично до фізіологічного рівня) – у тварин з травмою мозочка і трансплантацією ТФМ.

ОБГОВОРЕННЯ

Підсумовуючи проведені імунологічні дослідження, в цілому можна констатувати пригнічення проліферативної відповіді на Т-мітогени (ФГА, ConA) лімфоцитів тварин з локальною травмою мозочка та наступною трансплантацією СК-вмісних тканин, тобто пригнічення клітинної імунної відповіді, що розвивається за Th1-шляхом, як у гострий період, так і у віддалені терміни спостереження (2 міс). В результаті проведених досліджень встановлено відміннос-

ті між імунологічними показниками у тварин з локальною дозованою травмою лівої гемісфери мозочка і хірургічним видаленням некрозу та тварин з травмою і трансплантацією СК-вмісних тканин. У групі тварин з травмою і видаленням некрозу відбувалось пригнічення проліферації лімфоцитів (спонтанної, у відповідь на ФГА, на ФГА+індометацин), починаючи з 7-ї доби, яке у подальші терміни поступово відновлювалось з тенденцією досягнення фізіологічного рівня на 60-у добу, на відміну від тварин з травмою і трансплантацією СК-вмісних тканин, у яких через 2 міс спостереження розвивалось глибоке пригнічення проліферативної активності лімфоцитів. Значно нижчими у тварин з травмою і трансплантацією СК-вмісних тканин, порівняно з групою тварин з травмою і видаленням некрозу, були показники проліферативної активності лімфоцитів у відповідь на ConA.

Оскільки для трансплантації ми застосовували алогенні тканини – фетальний мозочок, ольфакторну цибулину, фетальну нирку – такий імунодепресивний вплив, вочевидь, пов'язаний із значною кількістю стовбурових та прогеніторних клітин, які містяться в цих тканинах, і який підтверджується даними інших дослідників. Так, відомо, що успішна алотрансплантація СК пояснюється дією СК на активовані Т-лімфоцити [9]. Показано, що мезенхімальні та стромальні СК здатні *in vitro* зупиняти розмноження Т-лімфоцитів, активованих присутністю алогенних клітин чи неспецифічних мітогенів. Таким чином, контакт із СК може гальмувати розвиток реакцій трансплантаційного імунітету, а також – призупиняти утворення нових клонів Т-лімфоцитів. В процесі відновлення імунної системи після імуносупресивної терапії та трансплантації гемопоетичних СК спостерігається тривала затримка поповнення кількості CD4+ Т-лімфоцитів, а також об'єму репертуару Т-лімфоцитів по специфічності. Припускають, що цей ефект пов'язаний з імуномодулюючою властивістю трансплантованих СК [9].

Проліферативна відповідь на В-мітоген (декстрансульфат) також знижувалась у тварин з локальною дозованою травмою лівої гемісфери мозочка (30-а доба), у тварин з травмою і хірургічним видаленням некрозу (14-а доба), у тварин з травмою і трансплантацією ТФМ (30-а доба); в інші терміни та у інших групах наближаючись до фізіологічного контролю. Таким чином, у певні терміни імунна відповідь, що розвивається за Th2-шляхом, була пригнічена, особливо у групі тварин з травмою і трансплантацією ТФМ, тоді як в інших групах цей показник залишався відносно збереженим.

На противагу, клітинні аутоімунні реакції, які характеризувались проліферативною відповіддю лімфоцитів на МАГ – сумарний нейроспе-

цифічний антиген – активізувались, починаючи з 14-ї доби, та досягали максимальних показників через 1-2 міс спостереження. Така активація проліферації лімфоцитів на аутоантигени цілком узгоджується з пригніченням проліферативної активності лімфоцитів у відповідь на ФГА+індометацин у тварин з травмою мозочка та одночасною трансплантацією фетальних тканин, що відбувалось у всі терміни спостереження. За нашими даними, відновлення проліферативної активності лімфоцитів у відповідь на ФГА+індометацин так і не відбувалось ні через 1 міс, ні через 2 міс спостереження. Пригнічення індометацин-чутливих супресорів є одним із пояснень стимуляції аутоімунних реакцій у дослідних групах тварин.

Динаміка розгортання клітинних аутоімунних реакцій перекликалась за часом з нарощуванням антитілопродукції до нейроспецифічних антигенів. Так, рівень аутоантитіл до СРМ досягав максимальних показників на 14-у добу дослідження у групах тварин з локальною дозованою травмою лівої гемісфери мозочка та хірургічним видаленням некрозу в ділянці вогнища забою та тварин з трансплантацією ТФН, а також на 60-у добу дослідження у групах тварин з травмою мозочка і трансплантацією ТФМ та ТФН. Рівень аутоантитіл до NSE досягав максимальних показників з 7-ї по 14-у добу дослідження у групах тварин з травмою та хірургічним видаленням некрозу в ділянці вогнища забою і одночасною трансплантацією ТФМ та ТОЦ, а також на 30-у добу дослідження у тварин з травмою мозочка і трансплантацією ТФМ. Через 2 міс дослідження рівень аутоантитіл до NSE зменшувався у всіх групах тварин, але найбільш значуще (практично до фізіологічного рівня) – у тварин з травмою мозочка і трансплантацією ТФМ. Однак, як клітинна, так і гуморальна відповідь на сумарний нейроспецифічний антиген (МАГ, СРМ) у тварин з трансплантацією фетальних тканин через 2 міс спостереження залишалась на високому рівні.

Таким чином, результати наших досліджень показали, що у тварин із трансплантатами алогенних фетальних НКП відбувається індукція специфічної імунної відповіді на маркерні антигени клітин нервової системи.

Відомо, що в нормальних умовах НСБ присутні у спинномозковій рідині (СМР) та сироватці крові у низьких концентраціях внаслідок природної загибелі нейроклітин [10]. В нормі до нейроантигенів підтримується імунологічна толерантність за рахунок кількох механізмів [11]: 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 залучають-

ся численні механізми, в тому числі локальна активація регуляторних Т-клітин.

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 [10]. НСБ (ОБМ, S-100, NSE, GFAP) є маркерами дисфункції гематоенцефалічного бар'єру та тими біомаркерами, вміст яких у сироватці та СМР може бути інструментом моніторингу та прогнозу неврологічного стану у хворих з гострими та хронічними ураженнями ЦНС [1, 12-19]. Встановлено, що пошкодження ЦНС можуть спричинювати антимозкову імунну реактивність. Вважають, що присутність антимозкових антитіл може бути потенційною загрозою відстроченої дегенерації мозкової тканини та нейропатології [20, 21]. Високоафінні антитіла до НСБ можуть проникати в ЦНС протягом запалення та здатні модулювати клінічні прояви хвороби [22], корелюючи з тяжкістю та клінічним виходом пацієнта [23].

Зокрема, після експериментального забою мозку у щурів Sprague-Dawley та Lewis протягом 3 міс виявлялись антитіла IgG до судин базальної ламіни; через 2 тижні після експериментального забою та фіктивного оперативного втручання виявлялись антинейрональні та антиастроцитарні антитіла.

У пацієнтів протягом 3 год після травматичного ураження мозку середні рівні S100B та NSE зростали відповідно 60-кратно та 7-кратно, порівняно з контролем. Концентрація біомаркерів підвищувалась у пацієнтів з несприятливими наслідками; найнижчі рівні біомаркерів були у тих, хто вижив, найбільш високі - у пацієнтів з фатальним виходом [24]. Таку ж тенденцію встановлено стосовно концентрації GFAP [19].

Цікавим є дослідження [23], в якому проведено моніторинг рівня антитіл до S100B та рівень протеїну у сироватці крові дітей з травматичним ураженням мозку з 1-ї по 15-75-у добу після ураження. Тяжкість ураження оцінювали за шкалою Глазго та виділили групи: 1) повне одужання; 2) помірна недієздатність; 3) висока недієздатність; 4) вегетативний стан; 5) фатальний кінець. У пацієнтів груп 1-3 зміни рівня S100B у сироватці крові не залежали від тяжкості ураження мозку; значне підвищення рівня S100B на 1-у добу супроводжувалось зниженням до норми у наступні 2-3 дні. На противагу, рівні антитіл у цих групах підвищувались, починаючи з 3-5-ї доби, залежно від тяжкості ураження мозку. Розвиток вегетативного стану супроводжувався низьким

рівнем S100B та високим рівнем анти-S100B-антитіл у сироватці крові. Максимальний рівень S100B та підвищені рівні антитіл зареєстровані у хворих з фатальним кінцем. У більшості пацієнтів з комбінованим травматичним ураженням мозку рівні обох параметрів були вищими, порівняно з окремим травматичним ураженням [23].

У новонароджених з гіпоксично-ішемічним перинатальним ураженням ЦНС [25] концентрація NSE змінювалась залежно від характеру ушкодження ЦНС (внутрішньошлуночкова геморагія, перивентрикулярна лейкомаляція) та мала хвилеподібний характер з максимумом концентрації на 1-му та 3-му тижні життя. В експерименті у щурів з перинатальним гіпоксично-ішемічним ураженням ЦНС [26] концентрація NSE різко підвищувалась через 1 тиждень після ураження, підвищуючись в подальшому на 6-му та 10-му тижні, тоді як у інтактних тварин сироваткові рівні NSE та GFAP не відрізнялись протягом постнатального розвитку. Рівень GFAP досягав максимуму через 1 тиждень, пізніше значно коливаючись та досягаючи піків на 3-му та 8-му тижнях, попереджаючи зростання вмісту NSE у периферичній крові.

Ішемічне ушкодження ЦНС спричиняє клітинну активацію та розпад, що призводить до виходу клітинно-специфічних протеїнів у СМР [1]. Так, на 4-й день після ішемічного інсульту рівень NSE та S100B в периферичній крові хворих з ішемічним інсультом значно підвищувався (в 2,5 рази та 8,5 рази відповідно), проте тільки рівні S100B корелювали з розміром інфаркту та об'ємом інсульту, неврологічним статусом та функціональним виходом [15]. У хворих з гострим ішемічним інсультом у сироватці підвищувались рівні NSE, GFAP, S100 та аутоантитіла до них [27, 28].

Виявлене нами достовірне підвищення рівня аутоантитіл до нейроантигенів у тварин із трансплантами алогенних фетальних НК, пов'язане з розвитком специфічної імунної відповіді на маркерні антигени клітин нервової системи, є свідченням того, що фетальні НК 18-ї 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 [29]. 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 [29]. 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 зростає як у сірій, так і у білій речовині, відображаючи диференціацію радіальної глії у зрілі астроцити [30]. З середини гестаційного терміну виявлено експресію ОБМ у фетальному мозку морських свинок [31]. ОБМ-позитивні олігодендрогліальні клітини у людини зареєстровані, починаючи з 20-го тижня гестації у *fimbria fornicis* та *alveus* (трубці). Між 21-м та 35-м тижнями з'являються мієлінізовані аксони у *fimbria fornicis*. На 39-у тижні гестації короткі та тонкі мієлінові волокна присутні у *fimbria*, *alveus* та гіпокампі [32]. Вважають, що період експоненціального зростання НСБ в онтогенезі співпадає із закінченням проліферації, диференціювання та початком функціонування клітин [29]. Таким чином, НКП з фетального мозку щура 18-ї доби гестації експресують досліджувані НСБ на рівні, достатньому для індукції клітинної та гуморальної аутоімунної відповіді.

Вірогідно, при внутрішньомозковій трансплантації алогенних фетальних НКП частина клітин гине, вивільняючи НСБ. Можна припустити, що основними механізмами загибелі імплантованих клітин є апоптоз та реакції імунного відторгнення. На користь останнього свідчить дослідження [33], 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.

У тварин з внутрішньомозковим алотрансплантатом фетальних НКП 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 14-30-у добу після трансплантації, що дозволяє припускати, що аутоантитіла до нейроантигенів, які виявляються в різні терміни після алотрансплантації, можуть брати участь в реакціях імунного відторгнення.

Виявлені нами зміни в імунній системі експериментальних тварин з локальною травмою мозочка та трансплантацією фетальних тканин звертають увагу на подібність цих змін з такими, що встановлені при повторній ЧМТ [34]: пригнічення окремих ланок Т-клітинної відповіді, клітинна та гуморальна сенсибілізація до нейроантигенів. Вважається, що при переважанні Т-клітинного шляху (Th-1) аутоімунної відповіді відбувається синтез великої кількості прозапальних цитокінів, що посилюють набряк мозку, порушують проникність судин як у вогнищі травми, так і у всьому органі. При переважанні гуморальної аутоімунної відповіді (Th-2) відбувається утворення імунних комплексів, порушення проникності судин, а також можливим є проникнення антитіл за межі ГЕБ та модуляція функції нейронів (гіперактивація) або цитотоксична дія на них. За прогредієнтного перебігу повторної ЧМТ має місце більш виражена запальна реакція та переважання Th-2-імунної відповіді, що супроводжується продукцією антитіл (зокрема, підвищенням рівня аутоантитіл до NSE); за регредієнтного - Th-1-імунна відповідь [34].

Отже, необхідно враховувати, що при внутрішньомозковій трансплантації алогенних фетальних НКП імунна 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.

ВИСНОВКИ

1. У тварин з локальною травмою мозочка та наступною трансплантацією СК-вмісних тканин відбувається пригнічення проліферативної відповіді лімфоцитів на Т-мітогени та пригнічення індометацин-чутливих супресорних клітин.
2. У тварин з локальною травмою мозочка та наступною трансплантацією СК-вмісних тканин відбувається індукція специфічної імунної відповіді на маркерні антигени клітин нервової системи. Клітинні та гуморальні аутоімунні реакції досягають максимальних показників через 1-2 міс спостереження.

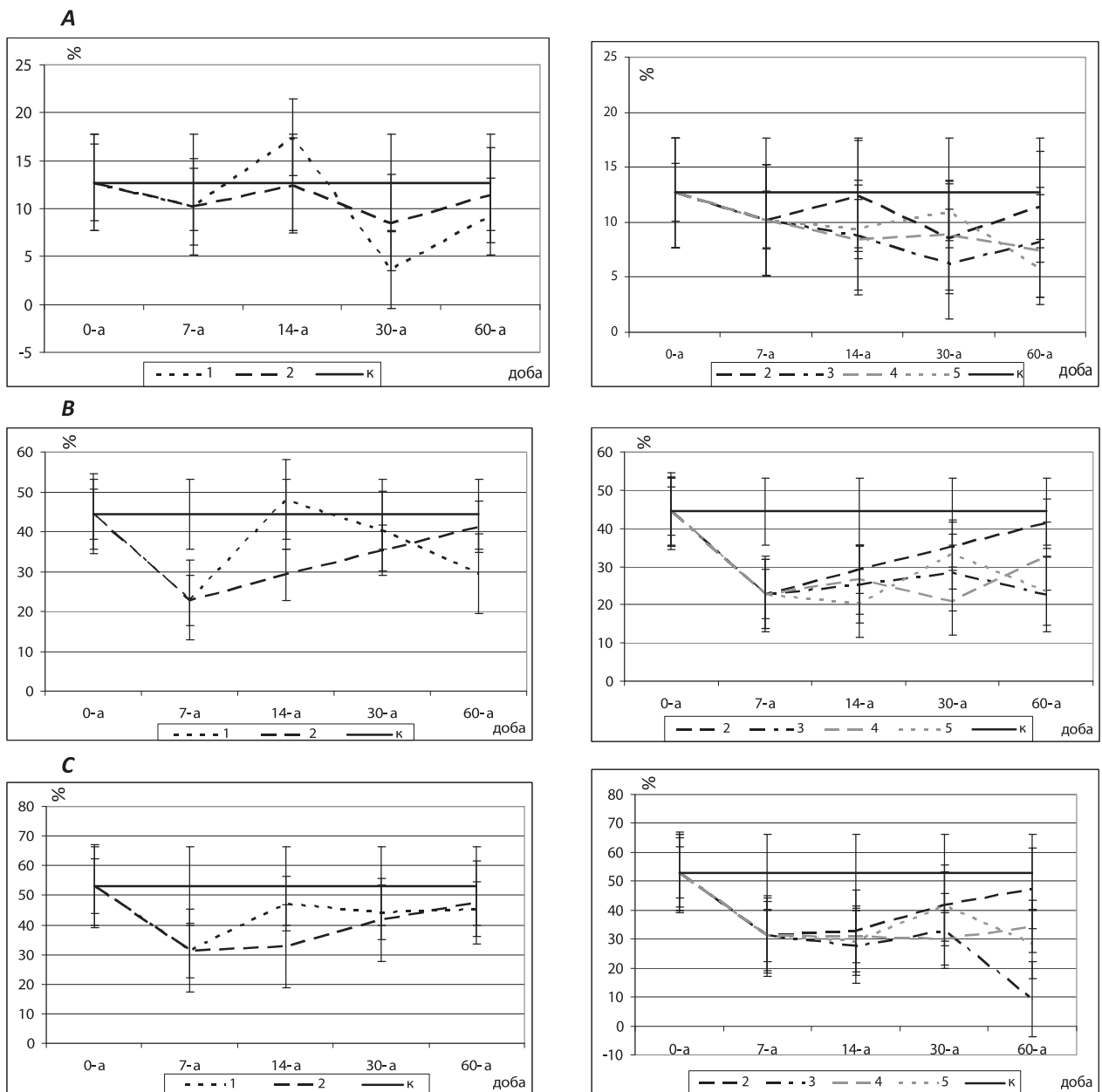


Рис. 1. Рівень проліферативної активності ліфоцитів периферичної крові у тварин з локальною дозованою травмою лівої гемісфери мозочка та наступною трансплантацією НСК-вмісних тканин: А –спонтанна; В – у відповідь на ФГА; С – у відповідь на ФГА+індометацин.

- 1 ЧМТ мозочка
- 2 ЧМТ мозочка + видалення некрозу
- 3 ЧМТ мозочка + видалення некрозу + ТФМ
- 4 ЧМТ мозочка + видалення некрозу + ТОЦ
- 5 ЧМТ мозочка + видалення некрозу + ТФН
- К інтактний контроль

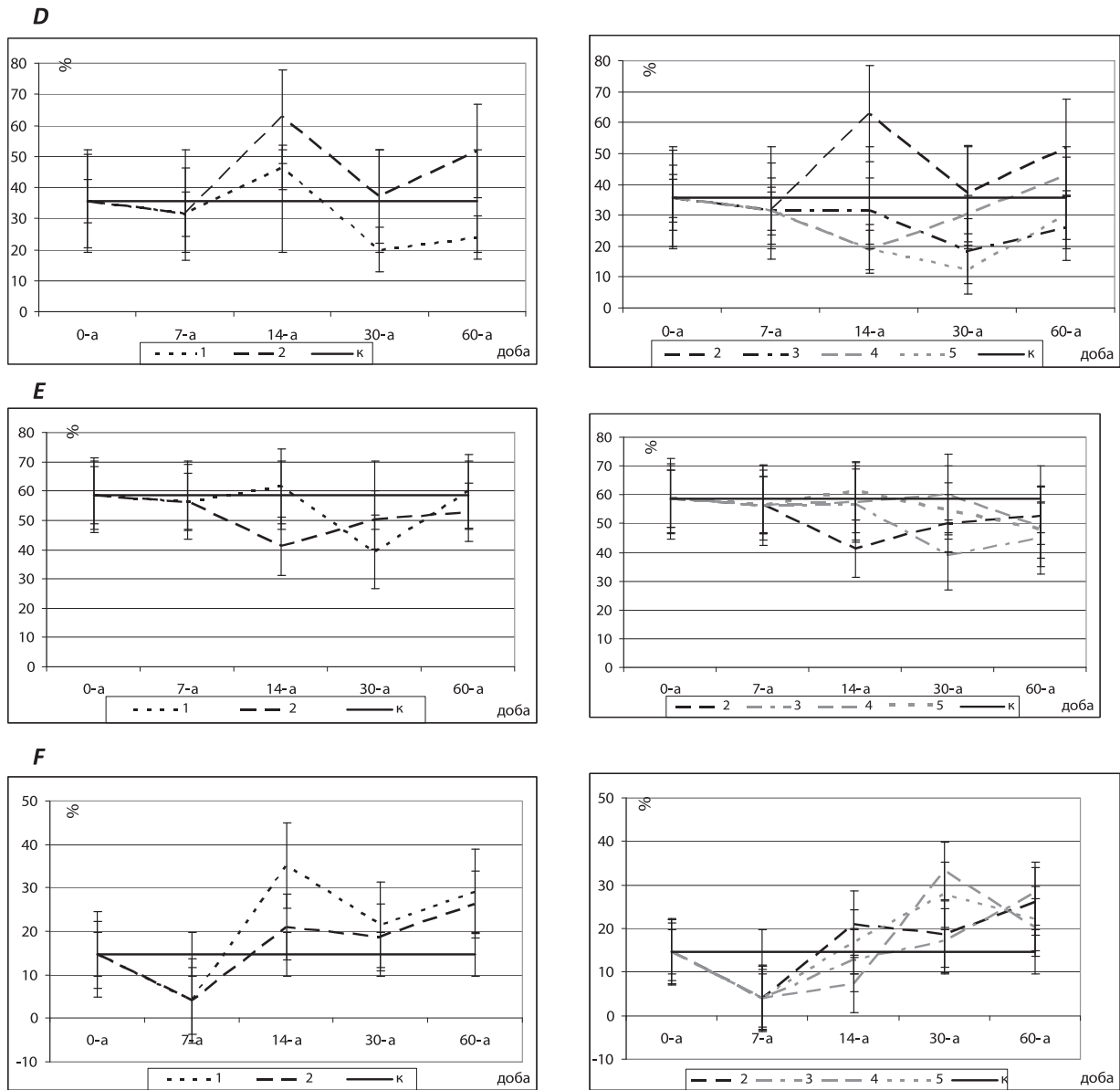


Рис.2. Рівень проліферативної активності лімфоцитів периферичної крові у тварин з локальною дозованою травмою лівої гемісфери мозочка та наступною трансплантацією НСК-вмісних тканин: D - у відповідь на конканавалін А; Е – у відповідь на декстран; F- у відповідь на МАГ.

- 1 ЧМТ мозочка
- 2 ЧМТ мозочка + видалення некрозу
- 3 ЧМТ мозочка + видалення некрозу + ТФМ
- 4 ЧМТ мозочка + видалення некрозу + ТОЦ
- 5 ЧМТ мозочка + видалення некрозу + ТФН
- К інтактний контроль

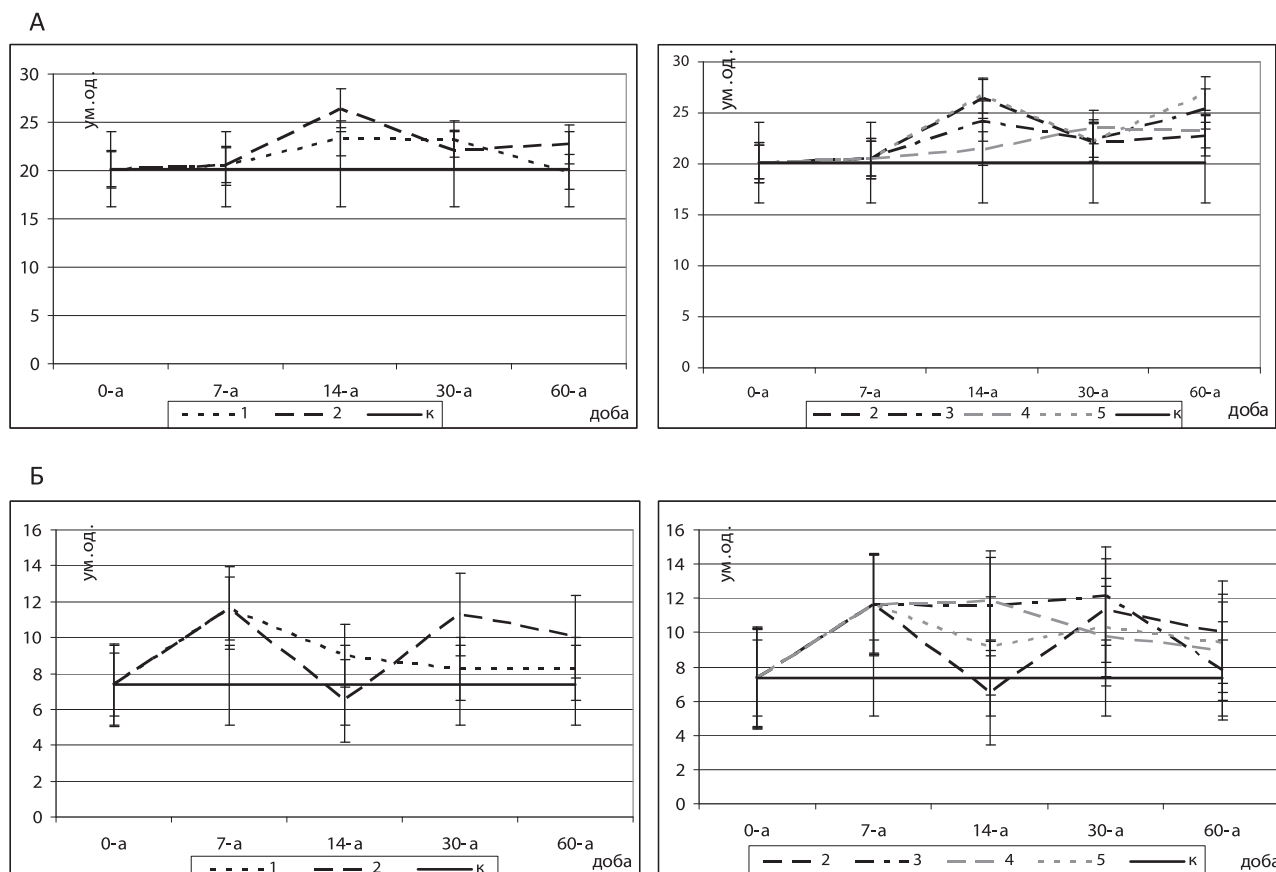


Рис.3. Рівень антитіл до сірої речовини мозку (А) та до NSE (Б) у тварин з локальною дозованою травмою лівої гемісфери мозочка та наступною трансплантацією НСК-вмісних тканин:

- | | |
|---|---------------------------------------|
| 1 | ЧМТ мозочка |
| 2 | ЧМТ мозочка + видалення некрозу |
| 3 | ЧМТ мозочка + видалення некрозу + ТФМ |
| 4 | ЧМТ мозочка + видалення некрозу + ТОЦ |
| 5 | ЧМТ мозочка + видалення некрозу + ТФН |
| К | інтактний контроль |

ЛІТЕРАТУРА

1. Neurobiochemical markers of brain damage in cerebrospinal fluid of acute ischemic stroke patients / R.Brouns, B.De Vil, P.Cras [et al.] // Clin. Chem.- 2010.-56(3).-P.451-458.
2. Immune or inflammatory response by the host brain suppresses neuronal differentiation of transplanted ES cell-derived neural precursor cells/M.Ideguchi, M.Shinoyama, M.Gomi[etal.] // J.Neurosci.Res.-2008.-86(9).-P.1936-1943.
3. Neural stem/progenitor cells express costimulatory molecules that are differentially regulated by inflammatory and apoptotic stimuli / J.Imitola, M.Comabella, A.K.Chandraker [et al.] // Am.J.Pathol.-2004.-164(5).-P.1615-1622.
4. Neural stem cell transplant survival in brains of mice: assessing the effect of immunity and ischemia by using real-time bioluminescent imaging / D.E.Kim, K.Tsuji, Y.R.Kim [et al.] // Radiology.-2006.-241(3).-P.822-830.
5. Neural progenitors derived from human embryonic stem cells are targeted by allogeneic T and natural killer cells / O.Preynat-Seauve, C.de Rham, D.Tirefort [et al.] // J.Cell Mol. Med.- 2009.- 13(9B).-P.3556-3569.
6. Allorecognition of human neural stem cells by peripheral blood lymphocytes despite low expression of MHC molecules: role of TGF-beta in modulating proliferation / F.Ubiali, S.Nava, V.Nessi [et al.] // Int.Immunol.-2007.-19(9).-P.1063-1074.
7. Копелян И.И. Разработка микромодификации культивирования клеток крови человека

- ка / И.И.Копелян, М.П.Григорьева // Бюл. эксперим.биологии и медицины.-1972.-№ 8.-С.119-122.
8. Дослідження рівня аутоантитіл до нейроспецифічних білків у кролів після алогенної внутрішньомозкової трансплантації ембріональних клітин-попередників нервової системи / М.І.Лісяний, Л.Д.Любич, А.П.Черченко // Фізіологічний журнал.-2006.-т.52, № 3.-С.64-69.
 9. Ляшенко В.А. Воздействие стволовых клеток на ранние этапы формирования трансплантационного иммунитета / В.А.Ляшенко, А.А.Ржанинова, Д.В.Гольдштейн // Медицинская иммунология.-2005.- № 5-6.-С.489-494.
 10. Елиминация нейроспецифических белков из ЦНС (патогенетические и методические аспекты) / В.П.Чехонин, С.В.Лебедев, О.И.Гурина [та ін.] // Вестник Российской АМН.-2006.-№6.-С.3-12.
 11. Liblau R. [Immune tolerance and control of CNS autoimmunity: from animal models to MS patients] / R.Liblau, C.Cassan // Rev Neurol (Paris).-2007.-163, 1.-P.12-22.
 12. Serum neuron-specific enolase, S100B, and myelin basic protein concentrations after inflicted and noninflicted traumatic brain injury in children / R.P.Berger, P.D.Adelson, M.C.Pierce [et al.] // J.Neurosurg.-2005.-103(1).-P.61-68.
 13. Trajectory analysis of serum biomarker concentrations facilitates outcome prediction after pediatric traumatic and hypoxic brain injury / R.P.Berger, M.C.Bazaco, A.K.Wagner [et al.] // Dev Neurosci.-2010.-32(5-6).-P.396-405.
 14. Serum glial fibrillary acidic protein is a highly specific biomarker for traumatic brain injury in humans compared with S-100B and neuron-specific enolase / M.Honda, R.Tsuruta, T.Kaneko [et al.] // J.Trauma.-2010.-69(1).-P.104-109.
 15. Каса-Орыńska М. Neuron-specific enolase and S 100B protein as predictors of outcome in ischaemic stroke / М.Каса-Орыńska, R.Tomasiuk, A.Friedman // Neurol.Neurochir. Pol.- 2010.-44(5).-P.459-463.
 16. Cerebrospinal fluid myelin basic protein as a prognostic biomarker in dogs with thoracolumbar intervertebral disk herniation / G.J.Levine, J.M.Levine, T.H.Witsberger [et al.] // J.Vet.Intern.Med.-2010.-24(4).-P.890-896.
 17. The prognostic value of the temporal course of S100beta protein in post-acute severe brain injury: A prospective and observational study / F.Murillo-Cabezas, M.A.Muñoz-Sánchez, M.D.Rincón-Ferrari [et al.] // Brain.Inj.-2010.-24(4).-P.609-619.
 18. Sjödin M.O. Mining ventricular cerebrospinal fluid from patients with traumatic brain injury using hexapeptide ligand libraries to search for trauma biomarkers / M.O.Sjödin, J.Bergquist, M.Wetterhall // J.Chromatogr.B.Analyt.Technol. Biomed.Life Sci.-2010.-878(22).-P.2003-2012.
 19. GFAP and S100B are biomarkers of traumatic brain injury: an observational cohort study / P.E.Vos, B.Jacobs, T.M.Andriessen [et al.] // Neurology.-2010.-75(20).-P.1786-1793.
 20. Spinal cord injury triggers systemic autoimmunity: evidence for chronic B lymphocyte activation and lupus-like autoantibody synthesis / D.P.Ankeny, K.M.Lucin, V.M.Sanders [et al.] // J.Neurochem.-2006.-99(4).-P.1073-1087.
 21. Autoreactive antibodies against neurons and basal lamina found in serum following experimental brain contusion in rats / S.Rudehill, S.Muhallab, A.Wennersten [et al.] // Acta Neurochir.(Wien).-2006.-148(2).-P.199-205.
 22. Anti-myelin antibodies modulate clinical expression of childhood multiple sclerosis / K.C.O'Connor, C.Lopez-Amaya, D.Gagne [et al.] // Neuroimmunol.-2010.-223(1-2).-P.92-99.
 23. [S100B protein and autoantibodies to S100B protein in diagnostics of brain damage in craniocerebral trauma in children] / E.G.Sorokina, Zh.B.Semenova, O.K.Granstrem [et al.] // Zh.Nevrol.Psikhiatr.Im.S.S.Korsakova.-2010.-110(8).-P.30-35.
 24. Resuscitation with hypertonic saline-dextran reduces serum biomarker levels and correlates with outcome in severe traumatic brain injury patients / A.J.Baker, S.G.Rhind, L.J.Morrison [et al.] // J.Neurotrauma.-2009.-26(8).-P.1227-1240.
 25. Mukhtarova SN. [Significance of neurospecific enolase determination in estimation of severity of hypoxic-ischemic injury of newborn brain] // Georgian Med.News.-2010.- (181).-P.49-54.
 26. Enzyme immunoassay of NSE and GFAP as the criterion of dynamic evaluation of the rat blood-brain barrier in perinatal hypoxic ischemic injury of the CNS / V.P.Chekhonin, S.V.Lebedev, T.B.Dmitrieva [et al.] // Bull.Exp.Biol.Med.-2003.-136(3).-P.261-265.
 27. [Markers of inflammation, autoantibodies to neurospecific antigens and outcome in patients with acute ischemic stroke] / N.Iu.Ruleva, V.M.Kuzin, M.Iu.Martynov [et al.] // Zh.Nevrol.Psikhiatr.Im.S.S.Korsakova.-2004.- (12).-P.60-65.
 28. [Neurospecific proteins and autoantibodies in serum of patients with acute ischemic stroke] / P.R.Kamchatov, N.Iu.Ruleva, S.F.Dugin [et al.] // Zh.Nevrol.Psikhiatr.Im.S.S.Korsakova.-2009.-109(2).-P.69-72.

29. Никандров В.Н. Протеин S-100: структурно-функциональные свойства и роль в нервной ткани / В.Н.Никандров, Е.В.Чаплинская // Биополимеры і клітина.- 2005.-Т.21, №1.- С.12-27.
30. Structural proteins during brain development in the preterm and near-term ovine fetus and the effect of intermittent umbilical cord occlusion / E.Rocha, S.Totten, R.Hammond [et al.] // Am.J.Obstet.Gynecol.-2004.-191(2).-P.497-506.
31. Sex-dependent effect of a low neurosteroid environment and intrauterine growth restriction on foetal guinea pig brain development / M.A.Kelleher, H.K.Palliser, D.W.Walker [et al.] // J.Endocrinol.-2011.-208(3).-P.301-309.
32. Myelination in the human hippocampal formation from midgestation to adulthood / H.Abrahám, A.Vincze, I.Jewgenow [et al.] // Int.J.Dev.Neurosci.-2010.-P.401-410.
33. Лісяний М.І. Особливості розвитку імунної відповіді на внутрішньомозкове введення алогенних фетальних нейроклітин в експерименті / М.І.Лісяний, Л.Д.Любич // Імунологія та алергологія.- 2009.-№4.- С.99-109.
34. Каджая М.В. Повторна черепно-мозкова травма: патогенез, клініка, діагностика, принципи лікування(клінічне та експериментальне дослідження) / М.В.Каджая // Автореферат дисертації на здобуття наук. ступеня д.мед.н.-К., 2010.-26 с.

РЕЗЮМЕ

ИССЛЕДОВАНИЕ ИММУННЫХ РЕАКЦИЙ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ДОЗИРОВАННОГО ТРАВМАТИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПОЛУШАРИЯ МОЗЖЕЧКА У КРЫС И ТРАНСПЛАНТАЦИИ АЛЛОГЕННЫХ НСК-СОДЕРЖАЩИХ ТКАНЕЙ

Цимбалюк В.И., Лісяний Н.И., Гнедкова И.А., Любич Л.Д., Сенчик Ю.Ю., Медведев В.В.

ДУ „Институт нейрохирургии им. акад. А.П.Ромоданова НАМН Украины”

Целью данной работы было исследовать состояние клеточного звена иммунной системы крыс экспериментальных групп в ответ на Т-митогены (ФГА, ConA), В-митоген (декстрансульфат), специфический клеточный ответ на нейроантигены (аутоим-

мунный клеточный ответ), а также гуморальный ауто-иммунный ответ на специфические антигены мозга (суммарный антиген серого вещества мозга (СВМ) и нейронспецифическую енолазу (NSE)).

Установлено угнетение пролиферативного ответа на Т-митогены (ФГА, ConA) лимфоцитов животных с локальной дозированной травмой мозжечка и последующей трансплантацией фетальных тканей как в острый период, так и в отдаленные сроки наблюдения (2 мес.).

У исследуемых животных, которым была нанесена локальная дозированная травма левой гемисферы мозжечка, а затем на 7-е сутки произведена трансплантация алогенных фетальных НКП, происходит индукция специфического иммунного ответа на маркерные антигены клеток нервной системы. Достоверное повышение уровня аутоантител к нейроантигенам у животных экспериментальных групп свидетельствует о том, что фетальные НКП 18-х суток гестации экспрессируют исследуемые нейроантигены.

SUMMARY

THE STUDY OF IMMUNE RESPONSES IN MODELLED DOSE TRAUMATIC INJURY OF CEREBELLAR HEMISPHERES IN RATS AND TRANSPLANTATION OF THE ALLOGENEIC NSC-CONTAINING TISSUES

The purpose of this study was to investigate the state of the immune system cell component of the experimental groups of rats in response to T-mitogens (PHA, ConA), B-mitogen (dextran sulphate), the specific cellular response to neuroantigens (autoimmune cellular response), as well as the humoral autoimmune response to brain specific antigens (the total antigen of the brain gray matter (BGM) and neurospecific enolase (NSE)).

The inhibition of the proliferative lymphocytes' response to T-mitogens (PHA, ConA) of animals with dosed local injury of the cerebellum and the subsequent transplantation of fetal tissues in the acute phase and in the later periods of observation (2 months) was established.

The specific immune response to antigen markers of the nervous system cells was occurred in studied animals that were applied to the dosed local injury of left hemisphere of the cerebellum, and then on day 7 - allogeneic transplantation of fetal NPC. Significant increase of the autoantibodies' level to neuroantigens in experimental animals suggesting that fetal NPC (E18) express the studied neuroantigens.