

Особенности изменения цитокино-иммунного статуса крыс разного возраста после введения криоконсервированных фетальных нервных клеток в остром периоде ишемического инсульта

Д.В. ЛЕБЕДИНЕЦ, И.В. РАССОХА, Е.А. ПОРОЖАН, О.Ю. КОЖИНА
Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Peculiarities of Cytokine-Immune Status Changing of Various Aged Rats after Introduction of Cryopreserved Fetal Nerve Cells at Acute Ischaemic Stroke

D.V. LEBEDINETS, I.V. RASSOKHA, E.A. POROZHAN, O.YU. KOZHINA
Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

Доказано, что микроглия как иммунокомпетентный компартмент ЦНС участвует во всех реакциях ткани мозга на ишемию. Важную роль в развитии данной патологии играют иммунные медиаторы межклеточных взаимодействий, в частности ИЛ-1 α . Его синтез, осуществляемый иммунокомпетентными (Т-клетки, макрофаги, микроглия) и «неиммунокомпетентными» (нейроны, астроциты) клетками ЦНС, является одним из важных звеньев реакции иммунной системы (ИС) на патологический процесс. Кора обоих полушарий головного мозга влияет на ИС, которая, в свою очередь, также изменяет активность и функцию нервных клеток, вызывая их повреждение и гибель. С возрастом изменяются метаболизм и гемодинамика мозга, что отражается и на ИС больных инсультом.

Цель работы – оценка цитокино-иммунного статуса крыс разного возраста в остром периоде ишемического инсульта и после введения криоконсервированных фетальных нервных клеток (ФНК).

Эксперименты проведены на 6- и 18-месячных крысах в соответствии с правилами «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1985 г). Суспензию ФНК из мозга эмбрионов крыс 11 суток гестации криоконсервировали на программном замораживателе УОП-1 (СКТБ с ОП ИПКиК НАНУ). Ишемический инсульт (ИИ) моделировали окклюзией средней мозговой артерии (СМАо). Вводили ФНК внутривентрикулярно в дозе 5×10^6 клеток на 100 г массы животного через 6 ч после развития ИИ. Субпопуляционный состав исследовали методом проточной цитофлуориметрии с использованием МАТ к CD3, CD4, CD8, IFN- γ , IL-10 (BD, США). Животных декапитировали на 1-, 3- и 7-е сутки после инициации ИИ и лечения. Статистическую обработку результатов проводили с использованием критерия Манна-Уитни.

Установлено, что криоконсервированные ФНК обеспечивали коррекцию субпопуляционного состава иммунокомпетентных клеток (ИКК) у крыс с ИИ независимо от возраста, увеличивая процент CD3 $^{+}$, CD4 $^{+}$, CD8 $^{+}$ и снижая процент CD4 $^{+}$ CD25 $^{+}$ -клеток. Результаты показали, что ФНК положительно воздействуют на цитокиновый профиль, в большей степени влияя на синтез противовоспалительного ИЛ-10 и подавление активации провоспалительного цитокина IFN- γ у молодых особей.

Таким образом, сравнительный анализ состояния ИС у молодых и старых крыс продемонстрировал способность криоконсервированных ФНК воздействовать на состояние цитокино-иммунного статуса животных с патологией, изменяя в разной степени их цитокиновый профиль и содержание ИКК.

It has been established that microglia as immunocompetent compartment of CNS takes part in all the reactions of brain tissue at ischemia. The immune mediators of intracellular interactions have an important role in development of this pathology, particularly IL-1 α . Its synthesis, performed by immunocompetent cells of CNS (T-cells, macrophages, microglia) and non-immunocompetent ones is one of the important links of immune system (IS) responses to pathological process. Cortex of both cerebral hemispheres affects IS, which, in its turn changes activity and function of nerve cells, manifesting their damage and death. Metabolism and hemodynamics of brain change with age, affecting IS of stroke patients.

The research aim is estimation of cytokine-immune status of variously aged rats at acute ischaemic stroke and after introduction of cryopreserved fetal nerve cells (FNCs).

The experiments were carried out in 6 and 18 months' rats according to the statements of "European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes" (Strasbourg, 1985). Suspension of FNCs from rat embryo brain of 11 days' gestation was cryopreserved with programmable freezer UOP-1 (SDTB with EU of IPC&C). Ischaemic stroke (IS) was simulated with occlusion of medial cerebral artery (MCAo). FNCs were introduced intraperitoneally at 5×10^6 cells per 100 g of animal mass 6 hours later IS development. Subpopulation composition was studied by flow cytometry with application of monoclonal antibodies to CD3, CD4, CD8, IFN- γ , IL-10 (BD, USA). Animals were decapitated to the 1st, 3rd and 7th days after initiation and treatment of IS. Statistical processing of results was carried out by the Mann-Whitney's method.

It has been established that cryopreserved FNCs provide correction of subpopulation composition of immunocompetent cells (ICCs) in rats with IS not depending on age, increasing the percentage of CD3 $^{+}$, CD4 $^{+}$, CD8 $^{+}$ cells and decreasing for CD4 $^{+}$ CD25 $^{+}$ cells. The results have shown that FNCs positively affect the cytokine profile, with bigger influence synthesis of anti-inflammatory IL-10 and reduction of anti-inflammatory IFN- γ cytokine activation in young animals.

Thus, comparative analysis of IS state in young and aged rats demonstrated the viability of cryopreserved FNCs to affect the state of animal cytokine-immune status with pathology, changing their cytokine profile and ICC content in various degrees.