

# Вплив «Сандіму» на розвиток імунної відповіді при внутрішньоочеревинному введенні алогенних фетальних нейроклітин у мишей

Л.Д. Любич, М.І. Лісяний

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

## Effect of Sandimmun on Development of Immune Response Under Intraperitoneal Injection of Allogeneic Fetal Neural Cells in Mice

L.D. LYUBICH, M.I. LISYANY

A.P. Romodanov Institute of Neurosurgery  
of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Успішність трансплантації нейральних стовбурових клітин (НСК) та нейральних клітин-прекурсорів (НКП) для заміщення втрачених або порушених функцій ЦНС визначається тривалим виживанням пересаджених клітин, інтеграцією з системою реципієнта, а також відсутністю імунообумовлених ускладнень. Згідно з даними [Ubiali F. *et al.*, 2007; Wang X.J. *et al.*, 2007; Ideguchi M. *et al.*, 2008] НСК розпізнаються і викликають імунну відповідь в ало-і ксеногенних системах *ex vivo*, тобто рівень їх імунологічного потенціалу є достатнім для активації периферичних лімфоцитів реципієнта. Для пригнічення імунних реакцій при трансплантації застосовують різні підходи: призначення імуносупресивних препаратів, моделювання імунологічної толерантності у реципієнта, застосування для трансплантації генетично модифікованих НСК.

Метою даної роботи була оцінка можливості пригнічення імунної відповіді при системному введенні фетальних нейроклітин за допомогою препарату «Сандімум» (циклоспорин А для парентерального введення) – циклічного поліпептиду з вираженою імуносупресивною дією, який інгібує розвиток реакцій клітинного типу і Т-залежне утворення антитіл.

Клітинні суспензії фетальних НКП (E13–15) від мишей-донорів лінії СВА вводили внутрішньоочеревинно мишам-реципієнтам C57BL/6 у кількості  $1 \times 10^6$  клітин на тварину ( $n=42$ ). Частині тварин ( $n=18$ ) проводили імуносупресію «Сандімумом» у кількості 100 мкг на тварину на 0, 3, 6-у доби. Контролем були інтактні тварини ( $n = 12$ ). Через 6, 12, 18 та 37 діб після введення клітин проведено дослідження алоімунних та антигенспецифічних реакцій.

Клітинні алоцитотоксичні імунні реакції генерувалися у відповідь на внутрішньоочеревинне введення фетальних НКП (E13–15) з максимальним проявом на 6–12-у доби після імунізації і подальшим поступовим зниженням до 37-ї доби. Призначення «Сандімуму» зменшувало ці прояви, починаючи вже з 12-ї доби. Гуморальні алоцитотоксичні імунні реакції досягали максимуму на 12–18-у доби і зменшувалися з 18-ї по 37-у добу дослідження. Рівень алоцитотоксичних антитіл знижувався до норми під впливом «Сандімуму» до 37-ї доби.

Після системного введення фетальних НКП (E13–15) зафіксовано підвищений рівень антитіл до ОБМ (18 доба) та S-100 (37 доба). Корекція «Сандімумом» в дозі 100 мкг на 0, 3 та 6-у доби зменшувала рівень нейроаутоантитіл на 37-у добу до норми.

Використання імуносупресорного препарату «Сандімум» дозволяє значно знизити прояви реакцій трансплантаційного імунітету та рівень гуморальної нейросенсibiliзації, це обґрунтовує показання до обов'язкового застосування імуносупресії при клінічній нейротрансплантації клітин фетального мозку.

Successful transplantation of neural stem cells (NSCs) and neural precursor cells (NPCs) for the replacement of lost or damaged functions of CNS is determined by long-term survival of transplanted cells, integration with the recipient system, as well as absence of immune-mediated complications. According to Ubiali F. *et al.* (2007), Wang X.J. *et al.* (2007), Ideguchi M. *et al.* (2008), NSCs are recognized and initiate an immune response in allo- and xenogeneic systems *ex vivo*, i.e. the level of their immunological potential is sufficient to activate peripheral lymphocytes of the recipient. For suppression of immune responses after transplantation there are used various approaches such as prescription of immunosuppressive preparations, initiation of immunological tolerance in the recipient, the use for transplantation of genetically modified NSCs.

The research aim was to evaluate the possibilities of suppression of immune response by systemic injection of fetal neural cells with preparation Sandimmun (cyclosporin A for parenteral introduction) that is cyclic polypeptide with a pronounced immunosuppressive effect, which inhibits the development of cell-type reactions and T-dependent anti-body formation.

Cell suspensions of fetal NPCs (E13–15) from donor CBA mice were injected intraperitoneally in mice-recipients S57BL/6 in amount of  $1 \times 10^6$  cells per animal ( $n = 42$ ). Part of animals ( $n = 18$ ) were subjected to immunosuppression with Sandimmun of 100  $\mu$ g per animal in 0, 3, 6<sup>th</sup> day. The control were intact animals ( $n = 12$ ). In 6, 12, 18 and 37 days after injection of cells the study of alloimmune and antigen reactions.

Cellular alocytotoxic immune reactions generated as a response to intraperitoneal introduction of fetal NPCs (E13–15) with maximum expression to the 6–12<sup>th</sup> day after immunization and following gradual decrease to the 37<sup>th</sup> day. Prescription of Sandimmun reduced these manifestations starting from the 12<sup>th</sup> day. Humoral alocytotoxic immune responses reached their maximum to the 12–18<sup>th</sup> day and decreased from the 18<sup>th</sup> to 37<sup>th</sup> day of the study. The level of alocytotoxic antibodies decreased to the norm under the influence of Sandimmun to the 37<sup>th</sup> day.

After systemic introduction of fetal NPCs (E13-15) an elevated level of antibodies to myelin basic protein (18<sup>th</sup> day) and S-100 (37<sup>th</sup> day) was reported. Correction with Sandimmun in the dose of 100  $\mu$ g in 0, 3 and 6<sup>th</sup> days decreased the level neuroautoantibodies to the 37<sup>th</sup> day to the norm.

The use of immunosuppressive preparation Sandimmun enables to significantly reduce the manifestation of transplantation immunity reactions and the level of humoral neurosensibilization. This substantiates the indications for mandatory use of immunosuppression in the clinical neurotransplantation in fetal brain cells.