

## КЛІНІЧНА ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА

© В.В. Соколік, Н.О. Кіріллова

УДК 616.153.96:616-089.843: 616.894-053.9

**В.В. Соколік, Н.О. Кіріллова**

### РОЛЬ ЦИТОКІНОВОЇ СИСТЕМИ У ТЕРАПЕВТИЧНОМУ ЕФЕКТІ НЕЙРОТРАНСПЛАНТАЦІЇ НА МОДЕЛІ ХВОРОБИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

ДУ «Інститут неврології, психіатрії і наркології АМН України» (м. Харків)

Дана робота є фрагментом наукової теми «Дослідити нейробіологічні закономірності терапевтичних ефектів трансплантації на функціональних і дегенеративних моделях патології мозку», номер державної реєстрації 0111U001310.

**Вступ.** Намагання лікувати генетично-обумовлені нейродегенеративні хвороби (хвороба Альцгеймера, хвороба Паркінсону, хвороба Хантінгтона, системний АА-амілоїдоз та інші) методами медикаментозної терапії і класичної нейрохірургії не досягли очікувальних результатів. Альтернативний підхід полягає у тканинній, клітинній або генетичній трансплантації [8, 12, 13, 16, 18, 19, 25, 27].

Причини виникнення і розвитку хвороби Альцгеймера до кінця не з'ясовані [3, 21, 28]. Існує три основні теорії цієї патології. Найбільш стара – холінергічна гіпотеза, згідно якої ХА є наслідком порушення синтезу нейротрансміттера ацетилхоліну. Амілоїдна гіпотеза постулює, що причиною ХА є відкладання на пресинаптичній мембрані нейронів мозку агрегатів  $\beta$ -амілоїдного пептиду, які викликають руйнацію нейронів [6, 9, 10, 22]. Тау-гіпотеза полягає у тому, що гиперфосфорільзований  $\tau$ -протеїн запускає патологічний каскад у нейронах, починаючи з дезінтеграції мікротрубочок аксону і колапсом усієї мікротрубулярної транспортної системи нейрону [4, 11, 14, 15, 23]. Тому ХА характеризується зниженням кількості синаптичних контактів і зменшенням пулу самих нейронів у корі мозку і центральній субкортиkalній зоні, що призводить до деградації нейрональної мережі і деменції. Іншими словами, спостерігається грандіозна і незворотна атрофія зони розпізнавання, аналізу і зберігання інформації у найважливіших регіонах мозку. Безумовно, не останню роль у цьому процесі відіграє імуно-запальна система цитокінів. Останні наукові дослідження виявили роль неспецифічного запалення у патогенезі ХА [20, 26, 29]. Зокрема було встановлено, що підвищення вмісту інтерлейкіну-6 (IL-6) та С-реактивного білку у сироватці крові асоціюється з погіршенням пізnavальних здібностей у пацієнтів з ХА. Проте роль цитокінів у розвитку амілоїдної патології та ефект аллонейротрансплантації ще недостатньо вивчена.

За мету дослідження постало дослідження ролі цитокінової системи у терапевтичному ефекті нейротрансплантації на експериментальній моделі хвороби Альцгеймера у щурів.

**Об'єкт і методи дослідження.** Дослідження було проведено на 45 щурах-самцях статевозрілого віку вагою 200-250 г, які було попередньо розподілені до 4 груп:

• Контрольну групу (К) склали 17 інтактних тварин, у 8 з яких не формували умовно-рефлекторний стереотип і не проводили ніяких маніпуляцій (К-), тоді як у 9 був сформований стійкий умовно-рефлекторний стереотип (К+).

• Група порівняння 1 (ГП-) об'єднала 6 тварин теж без умовно-рефлекторного стереотипу, яким була проведена електролітична руйнація лівої лобно-фронтальної кори (коагуляція).

• До групи порівняння 2 (ГП+) ввійшло 13 щурів, у яких на базі умовно-позитивного рефлексу (реакція уникання) був сформований складний умовно-рефлекторний стереотип та була проведена електролітична руйнація лівої лобно-фронтальної кори (коагуляція).

• Дослідна (Д) група включала 9 тварин зі сформованим стійким умовно-рефлекторним стереотипом, яким на 11 добу після електролітичного руйнування лівої області лобно-фронтальної кори провели внутрішньо мозкову трансплантацію нервової тканини мозку новонароджених щурят.

У якості адекватної моделі для вивчення когнітивних функцій у щурах використали методику формування складного умовно-рефлекторного стереотипу. Суть підходу полягала у формуванні умовної реакції уникання на певний істотний звуковий сигнал. Звуковим сигналом слугувало звучання метроному з частотою 300 ударів за хвилину протягом 10 с, який надалі підкріплювався впливом електричного струму ( $U = 40-60$  В) ще 15 с. Експеримент включав 5 умовно-рефлекторних реакцій по 3-4 хвилини. Умовний рефлекс вважали сформованим, якщо тварини реагували протягом 5 пред'явлень умовного сигналу. Умовно-рефлекторний стереотип формували на базі міцно вироблених позитивних рефлексів. Він включав диференційний умовний подразник – звучання метроному з частотою 100 ударів за хвилину без підкріплення електричним струмом. При тренуванні стереотипу здійснювали чергування позитивного і диференційного сигналів (усього 5). Умовно-рефлекторний стереотип у щурах вважали змодельованим, якщо тварини безпомилково реагували на умовні сигнали. Отже, тестом когнітивних здібностей і пам'яті слугувало утворення, наявність або відновлення після нейротрансплантації умовно-рефлекторного стереотипу у щурах з попередньо коагульованою лівою лобно-фронтальною корою. Детекцію здійснювали за відносною кількістю відповідей на позитивні і диференційні умовно-рефлекторні сигнали (у %).

Хворобу Альцгеймера у щурах груп ГП і Д моделювали шляхом електролітичного руйнування

## КЛІНІЧНА ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА

(коагуляції) області лівої лобно-фронтальної кори ( $t = 10-15$  с,  $I = 1-5$  mA).

З метою корекції когнітивних функцій у щурів з експериментальною моделлю хвороби Альцгеймера задіяли аллонейротрансплантацію ембріональної тканини лівої лобно-фронтальної кори [1, 2]. Ембріональну нервову тканину отримували в стерильних умовах на холоду. Тваринам групи Д під кетаміновим наркозом проводили інтрацеребральну трансплантацію ембріональної нервової тканини в область лівої лобно-фронтальної кори через трепанаційний отвір ( $d = 2-3$  мм). Час від отримання транспланту до його імплантації у мозок реципієнта складав 10-20 хвилин.

Тестування умовно-рефлекторного стереотипу у групах ГП+ і Д здійснювали у періоди 5-11 доби і

22-32 доба після коагуляції. У Д групі лише у 70% тварин виявилось поновлення стереотипу умовно-рефлекторної реакції уникання. Тому тварин дослідної групи розділили на дві підгрупи: Д+ позитивну дослідну групу (6 щурів) та Д- негативну дослідну групу (3 щури) в залежності від поновлення стереотипу після трансплантації.

Забір венозної крові здійснювали на 32 добу після коагуляції (рис. 1). Саме у цей період відбувалося поновлення умовно-рефлекторного стереотипу завдяки нейротрансплантації. Забір капілярної крові з хвістових судин щурів здійснювали протягом усього часу дослідження: перед електролітичним руйнуванням лівої області лобно-фронтальної кори, через 1 добу після коагуляції та через 4 доби після нейротрансплантації (рис. 1).

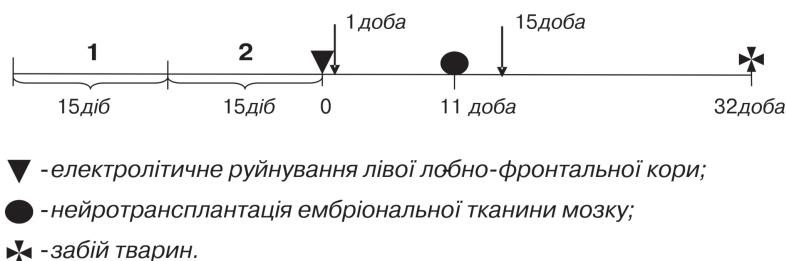


Рис. 1. Часова схема експерименту: 1 - виробка умовного рефлексу реакції уникання; 2 - формування умовно-рефлекторного стереотипу;

Сироватку крові отримували шляхом центрифугування зразків венозної або капілярної крові при 3 тис. об/хв. протягом 15 хв. та зберігали до вимірювання концентрації цитокінів при  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Детекцію запального процесу здійснювали за рівнем окремих цитокінів у сироватці крові: інтерлейкіну-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), інтерлейкіну-6 (IL-6), інтерлейкіну-10 (IL-10) і фактору некрозу пухлин- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). Вміст цитокінів вимірювали у сироватці крові методом твердофазного «сендвичу» імуно-ферментного аналізу (ІФА) на мікропланшетному аналізаторі GBG Stat Fax 2100 (USA) наборами реагентів ІНТЕРЛЕЙКИН-1бета-ІФА-БЕСТ (A-8766), ІНТЕРЛЕЙКИН-6-ІФА-БЕСТ (A-8768), ІНТЕРЛЕЙКИН-10-ІФА-БЕСТ (A-8774) і альфа-ФНО-ІФА-БЕСТ (A-8766) для ІФА визначення концентрації відповідних цитокінів фірми «Вектор-БЕСТ», Росія і виражали в фмоль/л.

Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Отримані дані опрацьовували статистично, вірогідність розбіжностей оцінювали за t-критерієм Фішера-Стьюдента. В окремих випадках оцінювали коефіцієнт кореляції Спірмена ( $r$ ). Критичним рівнем значущості ( $p$ ) при перевірці статистичних гіпотез вважали 0,05; для тенденції до змін – 0,1.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Формування у щурів (групи К+, ГП+ і Д+) умовного рефлексу реакції уникання відбувалося на 15 добу, а стійкого умовно-рефлекторного стереотипу ще через 15 діб. Протягом перших 3-4 діб щури умовний подразник тільки як сигнал про небезпеку. Лише на 5-6 добу тварини почали визначати умовний подразник як ситуаційно-необхідний і їх поведінка була спрямована на уникнення болювої дії (рис. 2). Помітні спостереження показали, що кількість правильних позитивних відповідей зростала і чітка умовно-рефлекторна реакція уникнення протягом 4 днів поспіль відзначалася на 15 добу у 100% тварин, яких розподілили до груп К+, ГП+ і Д+.

На загальній виборці щурів (групи К- і К+, ГП- і ГП+, Д- і Д+) встановили, що формування умовно-рефлекторного стереотипу не впливало на рівень IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$  і лише вміст IL-1 $\beta$  мав тенденцію до збільшення у 1,8 рази (рис. 3). Неактивовані макрофаги, нарівні з іншими клітинними джерелами цього цитокіну у кровообігу, не продукують IL-1 $\beta$  і не мають його мРНК. Експресія гену IL-1 $\beta$  з подальшим синтезом біологічно-активного білку починається тільки після активації макрофагів відповідними індукторами. Отже саме індукцією синтезу IL-1 $\beta$  можна обґрунтувати зареєстроване підвищення його рівня у наявному дослідженні.

Інтерлейкін-1 $\beta$  у низьких концентраціях відіграє важливу роль в регуляції імунної відповіді і тканинного гомеостазу [7].

Встановлено, що IL-1 $\beta$  стимулює проліферацію Т-клітин і є головним медіатором розвитку місцевої

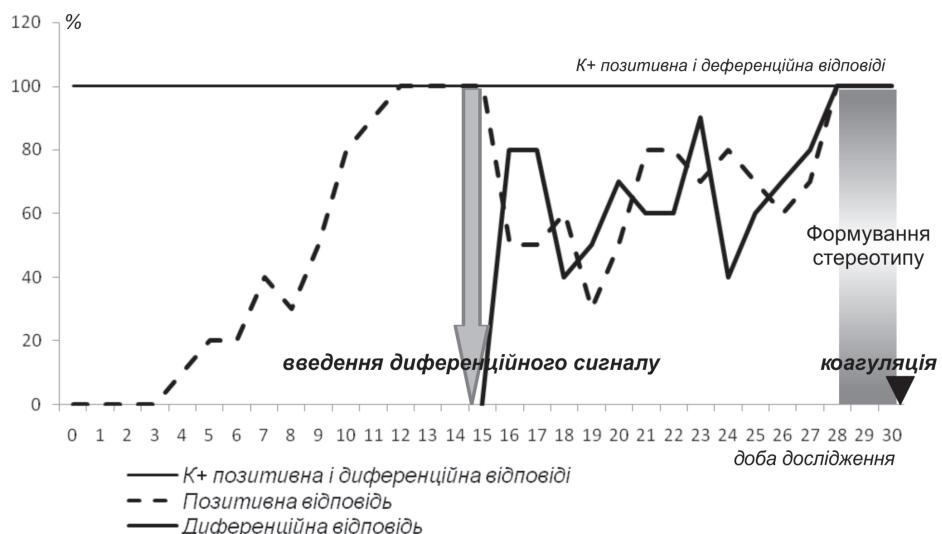


Рис. 2. Динаміка відносної кількості позитивних і диференційних відповідей у щурів груп  $K^+$ , ГП+ і Д+ під час формування умовно-рефлексорного стереотипу.

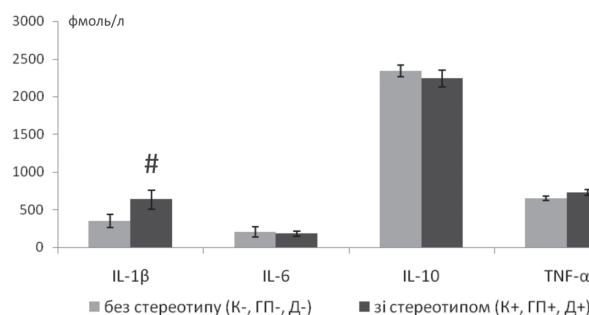
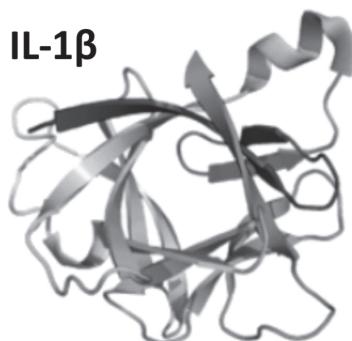


Рис. 3. Ефект формування умовно-рефлексорного стереотипу у щурів груп К, ГП і Д на показники імунної системи (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$ ). # -  $p \leq 0,1$ .



запальної реакції. За його дію «нульові» Т-хелперні лімфоцити диференцуються у Т-хелперні клітини першого і другого класів, які, у свою чергу, секретують  $\gamma$ -інтерферону і IL-4, відповідно. Базовим джерелом IL-1 $\beta$  є мононуклеари, що фагоцитують, різної тканинної локалізації, а також клітини мікроглії нервової тканини і ендотеліоцити.

Як видно з **рисунка 4**, електролітичне руйнування лівої лобно-фронтальної кори призводило до випадіння позитивних умовно-рефлексорних відповідей та до розгальмування диференціювань на

5 добу дослідження. На 13 добу було встановлено повне стирання диференційної відповіді, яке проявлялось у тому, що щури перебігали на всі пред'явлені сигнали, і така тенденція зберігалася до кінця експерименту (32 доба).

Надалі з'ясували, що електролітичне руйнування області лівої лобно-фронтальної кори мозку (експериментальна модель ХА) впливало на регулятори запалення переважно відстроковано. Ранішні ж ефекти характеризувались лише тенденцією до змін (**рис. 5**). А саме: за добу після коагуляції лобно-фронтальної кори спостерігали збільшення на 35% рівня інтерлейкіну-10, тоді як вже через 32 доби вірогідно зменшувався вміст усіх досліджених цитокінів у сироватці крові щурів: IL-1 $\beta$  на 62%, IL-6 на 28%, IL-10 на 40% і TNF- $\alpha$  на 45%.

IL-10 синтезують здебільшого Т-хелпери 2-го типу. Його продукція знаходиться під всебічним контролем інших цитокінів. А саме, IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-3, IL-6, IL-7, IL-12, IL-15, TNF- $\alpha$ ,  $\alpha$ -інтерферон стимулюють синтез IL-10 в моноцитах, тоді як IL-4, IL-13,  $\gamma$ -інтерферон інгібують експресію гена IL-10. Цей

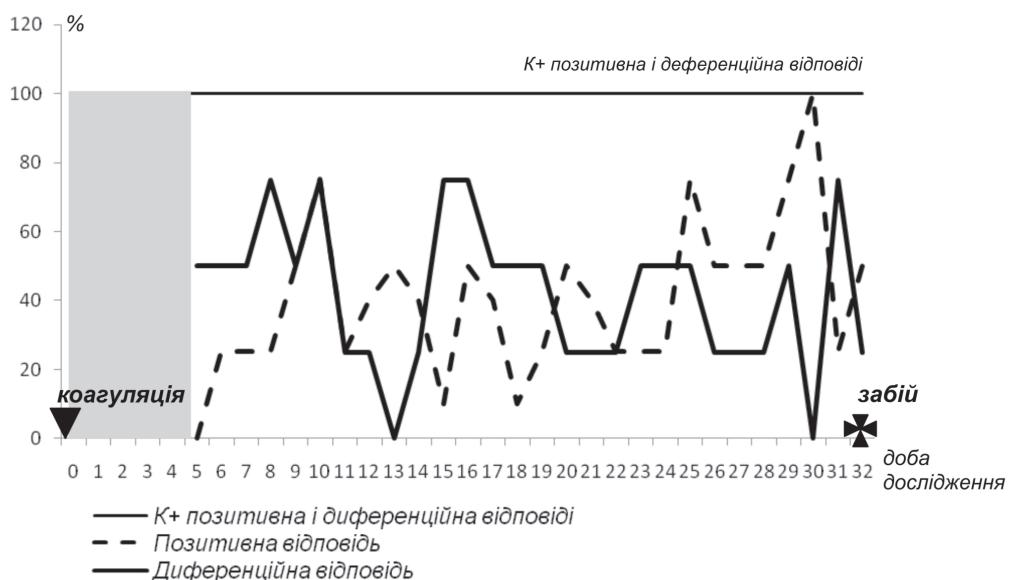


Рис. 4. Динаміка відносної кількості позитивних і диференційних відповідей у щурів групи ГП+ зі сформованим умовно-рефлексорним стереотипом після електролітичного руйнування лівої лобно-фронтальної кори мозку (експериментальна модель хвороби Альцгеймера).

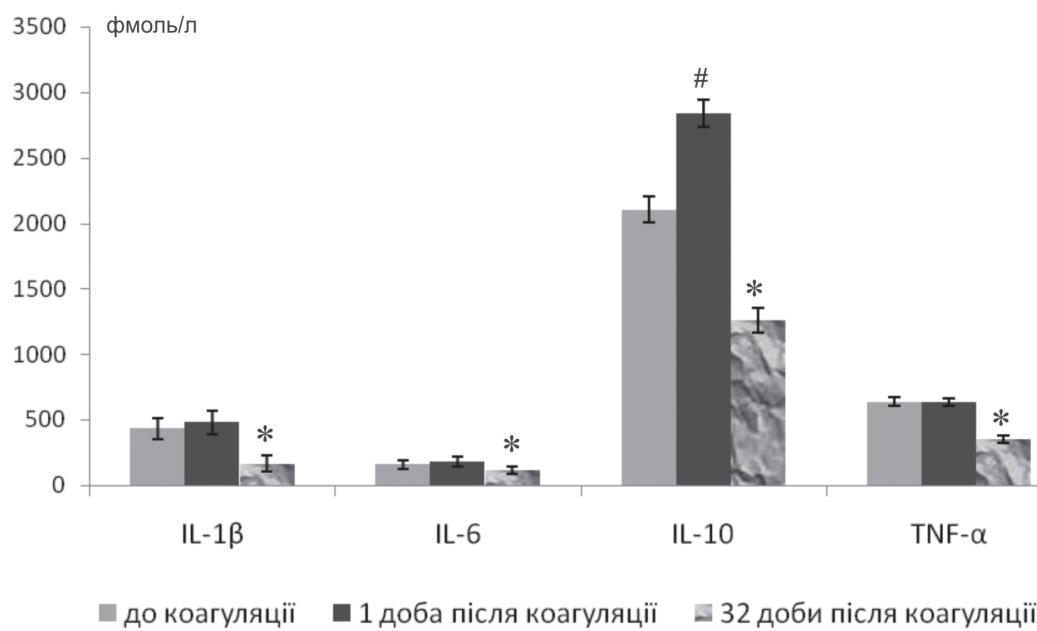


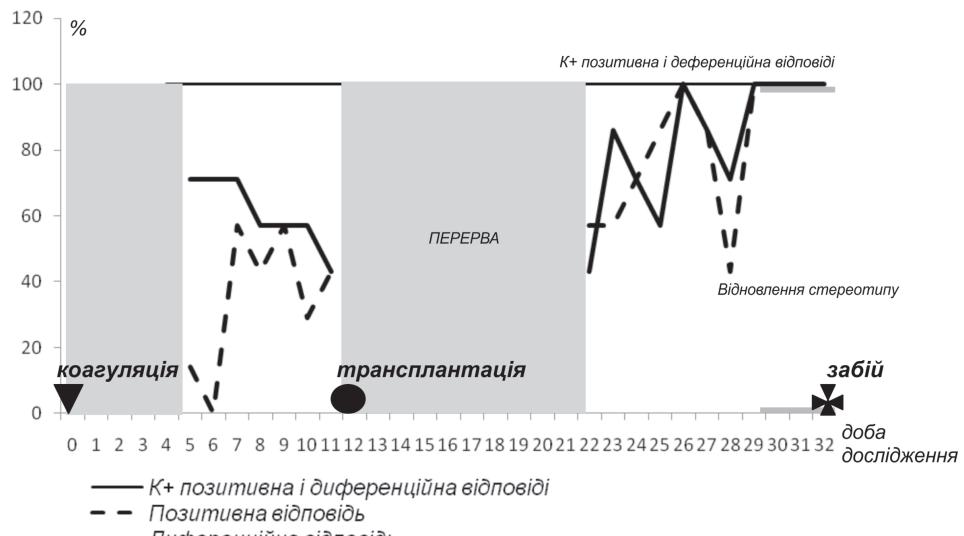
Рис. 5. Вплив електролітичного руйнування області лівої лобно-фронтальної кори (модель хвороби Альцгеймера) на рівень цитокінів у сироватці крові щурів груп ГП, \* -  $p \leq 0,05$ , # -  $p \leq 0,01$ .

протизапальний цитокін сам здатен пригнічувати функцію моноцитів, T-хелперів 1-го типу і ЕК-клітин, знижувати продукцію IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-12, TNF- $\alpha$ ,  $\gamma$ -інтерферону, тощо. IL-10 стимулює проліферацію тканинних базофілів і В-лімфоцитів та секрецію IL-3, IL-4, тобто переключає імунну відповідь з TH1 на TH2. IL-10 притаманна ауторегуляторна активність і він здатен сильно пригнічувати синтез власної мРНК. Нещодавно з'ясували, що IL-10 блокує гальмівну дію IL-1 $\beta$  на розвиток довгострокової

потенціації синаптичної передачі сигналу *in vivo* – феномен, який, як вважають, складає основу клітинних механізмів навчання і пам'яті [17].

Дослідження умовно-рефлексорного стереотипу у дослідній групі з моделлю хвороби Альцгеймеру після алонеїротрансплантації ембріональної тканини лівої лобно-фронтальної кори привело до зростання загальної локомоторної активності з відновленням умовно-рефлексорного стереотипу (рис. 6). Аналіз позитивних і диференційних відповідей показав

## КЛІНІЧНА ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА

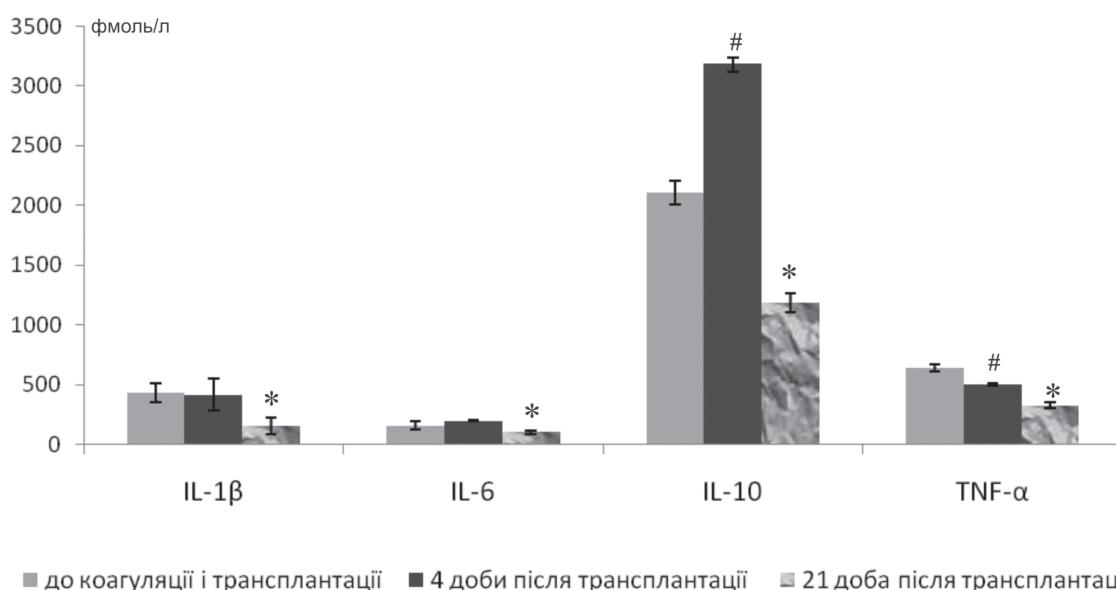


**Рис. 6.** Динаміка відносної кількості позитивних і диференційних відповідей у щурів групи Д+ зі сформованим умовно-рефлекторним стереотипом після електролітичного руйнування лівої лобно-фронтальної кори мозку (експериментальна модель хвороби Альцгеймера) та інтрацеребральної аллонейротрансплантації ембріональної нервової тканини.

відновлення умовно-рефлекторного стереотипу на 26 добу, а також його стійке відтворення і закріплення на 30 добу дослідження.

Нейротрансплантація ембріональної мозкової тканини щуром, яким була змодельована хвороба Альцгеймера, впливала на цитокінову систему (рис. 7). Ранішній ефект (через 4 доби після трансплантації) проявився у тенденції до підвищенні на 50% рівня IL-10 та зменшення на 21% концентрації TNF- $\alpha$ . Відстикований ефект (через 21 добу після нейротрансплантації або через 32 доби рахуючи від попередньої коагуляції) полягав у істотному зменшенні рівня всіх цитокінів у сироватці крові щурів: IL-1 $\beta$  на 65%, IL-6 на 36%, IL-10 на 44% і TNF- $\alpha$  на 49%.

IL-6 відносять до категорії ранніх медіаторів запалення. Продукція IL-6 навзаєм корегується IL-1 $\beta$  і TNF- $\alpha$ . Його активність полягає у депресії генів, що контролюють синтез гострофазних білків при запальному процесі. Дія IL-6 на нейрони мозку сприяє викиду адренокортикопропного гормону (АКТГ). Сукупність властивостей цього цитокіну як фактору диференціровки відносить його до пулу найбільш важливих регуляторів імунних і запальніх процесів в організмі. Не індукуючи проліферації, він посилює термінальну диференцію підготовлених до синтезу антитіл клітин у їх активні продуценти. Синтез і секреція IL-6 відбувається у багатьох різновидах клітин: макрофаги, Т і В-лимфоцити, фібробласти, ендотеліальні, епідермальні і мікрогліальні клітини,



**Рис. 7.** Вплив нейроаллотрансплантації на рівень цитокінів у сироватці крові щурів групи Д, яким була змодельована хвороба Альцгеймера, \* -  $p \leq 0,05$ , # -  $p \leq 0,1$ .



хондроцити, остеоцити. Цей інтерлейкін змушує нейрональні стовбурові клітини диференціюватись у клітини нейроглії, а не в нейрони. Загалом, IL-6 характеризується більшим переліком ефектів, порівняно з іншими цитокінами, та істотною подібністю з прозапальною дією IL-1 $\beta$  і TNF- $\alpha$  [5].

Аналіз позитивних диференційних відповідей у щурів з не відновившимся стереотипом (30% тварин) показав зниження кількості цих відповідей та повне їх випадіння на 28 і 30 добу в порівнянні зі стійким стереотипом у цих тварин до коагуляції (рис. 8). Динаміка диференційних відповідей мала тенденцію до відновлення на 26 добу і знову до розгалужування на 29 добу.

TNF- $\alpha$  є прозапальний цитокін, який належить до медіаторів апоптозу клітин через індукцію синтезу IL-1 $\beta$  і IL-6. Дисрегуляція його рівня асоціюється з хворобою Альцгеймера та іншими патологіями [30]. Припускають, що TNF- $\alpha$  несе відповідальність за хронізацію запального процесу. Час напівжиття цього цитокіну у крообігу складає 15 хвилин. Його ефекти залежать від локальної концентрації. Так, у низьких дозах TNF- $\alpha$  діє як регулятор імуно-запальної реакції, стимулює адгезію нейтрофілів, міграцію

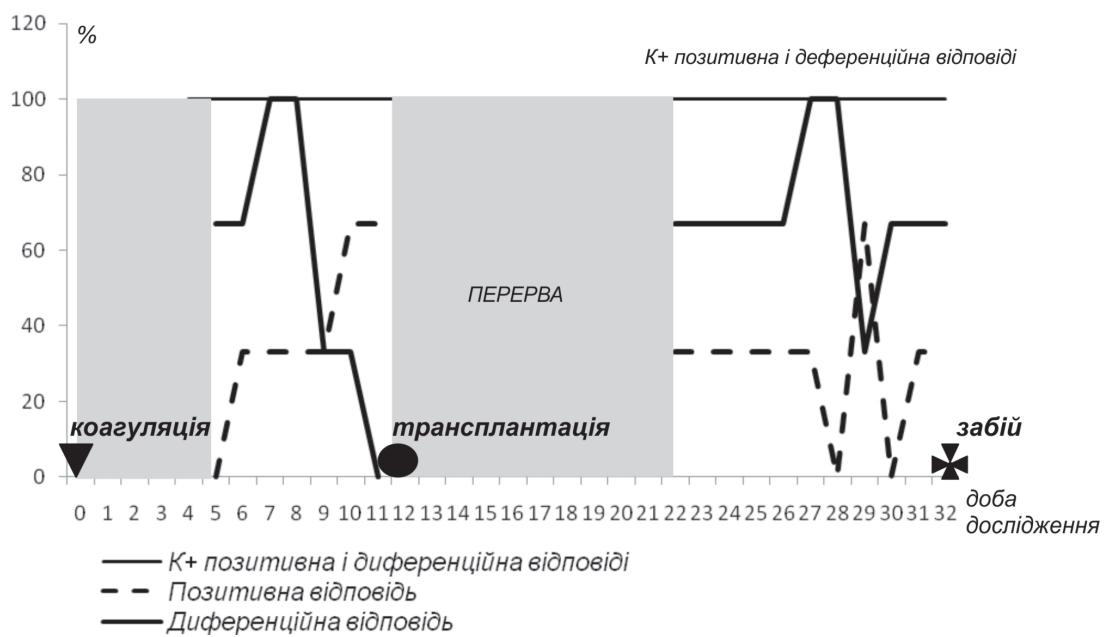


Рис. 8. Динаміка відносної кількості позитивних і диференційних відповідей у щурів групи Д- зі сформованим умовно-рефлекторним стереотипом після електролітичного руйнування лівої лобно-фронтальної кори мозку (експериментальна модель хвороби Альцгеймера) та інтрацеребральної аллонейротрансплантації ембріональної нервової тканини.



лейкоцитів, проліферацію фібробластів і ендотелію. У середніх – як гормон, що стимулює фагоцити, посилює згортання крові та індукує піrogенний ефект. Високі ж дози TNF- $\alpha$  спричиняють септичний шок, ДВС-синдром, тощо.

На закінчення порівняли цитокіновий статус щурів з відновившимся завдяки нейротрансплантації умовно-рефлекторним стереотипом (група Д+) та тварин з невідновившимся стереотипом (група Д-). Групами порівняння слугували тварини зі сформованим на момент коагуляції умовно-рефлекторним стереотипом (ГП+) та без останнього (ГП-). Контрольні групи об'єднали щурів зі стереотипом (K+) і без нього (K-), яким не заподіювали ні коагуляції, ні трансплантації (табл. 1).

## КЛІНІЧНА ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА

Таблиця 1

### Ефект формування умовно-рефлекторного стереотипу на цитокиновий статус щурів

Показник (фмоль/л)	Групи ( $M \pm m$ )						p
	1 - К-	2 - К+	3 - ГП-	4 - ГП+	5 - Д-	6 - Д+	
IL-1 $\beta$	351,43 $\pm$ 85,71	637,14 $\pm$ 125,71	178,29 $\pm$ 62,29	147,43 $\pm$ 48,00	240,00 $\pm$ 76,00	109,71 $\pm$ 26,29	$p_{12}=0,0039$ $p_{34}=0,0697$ $p_{56}=0,0079$
IL-6	206,19 $\pm$ 72,38	180,95 $\pm$ 29,52	134,76 $\pm$ 17,14	84,76 $\pm$ 6,19	108,57 $\pm$ 19,05	99,05 $\pm$ 10,00	$p_{12}=0,2691$ $p_{34}=0,0003$ $p_{56}=0,1026$
IL-10	2340,00 $\pm$ 150,82	2240,00 $\pm$ 223,24	1707,02 $\pm$ 147,56	595,14 $\pm$ 90,28	1595,14 $\pm$ 166,48	976,76 $\pm$ 132,98	$p_{12}=0,4380$ $p_{34}=0,0049$ $p_{56}=0,0300$
TNF- $\alpha$	649,41 $\pm$ 82,35	731,76 $\pm$ 108,81	438,81 $\pm$ 69,99	219,42 $\pm$ 12,36	377,07 $\pm$ 52,95	292,95 $\pm$ 68,82	$p_{12}=0,2656$ $p_{23}=0,0005$ $p_{56}=0,0818$

Дослідні щури з відновившимся умовно-рефлекторним стереотипом з хворобою Альцгеймера, які перенесли нейротрансплантацію (Д+), мали вірогідно нижчі рівні IL-1 $\beta$ , IL-10 і TNF- $\alpha$ , порівняно до групи тварин з не відновившимся стереотипом (Д-). Така ж тенденція характеризувала і щурів з хворобою Альцгеймера, які не були нейротрансплантовані: групи ГП+ і ГП- (табл. 1). Стосовно ж інтактних тварин, то для них виявлено збільшення вмісту лише IL-1 $\beta$  у тварин групи К+ порівняно з К-. Маємо припустити, що процес формування умовно-рефлекторного стереотипу був сенсибілізуючим щодо імуно-запальної системи. Цікаво, що відтворення моделі Альцгеймера шляхом електролітичного руйнування лівої лобно-фронтальної кори у щурів обумовлювало збільшення різниці у показниках IL-6, IL-10 і TNF- $\alpha$  між тваринами ГП+ і ГП- груп, порівняно з інтактним станом (групи К+ і К-) або ситуацією після аллонейротрансплантації (групи Д+ і Д-). Натомість з IL-1 $\beta$ , навпаки, різниця майже нівелювалась.

Кореляційний аналіз динаміки рівній IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10 і TNF- $\alpha$  виявив істотну позитивну кореляцію лише поміж IL-6 і IL-10 та тенденцію до узгодженості

змін між IL-1 $\beta$  і TNF- $\alpha$  (табл. 2). Отже на моделі хвороби Альцгеймера у щурів, яку корегували нейроаллотрансплантацією ембріональної нервової тканини, був встановлений синергізм змін прозапальних цитокінів IL-1 $\beta$  і TNF- $\alpha$  та протизапального IL-10 і плейотропного IL-6.

Таким чином, на моделі хвороби Альцгеймера було вивчено ефект нейроаллотрансплантації на відновлення умовно-рефлекторного стереотипу щурів та роль у цьому процесі цитокінової системи. Отримані дані узгоджуються з результатами інших науковців, які на мишиній моделі ХА теж відзначали модулюючий вплив інтрацеребральної трансплантації мезенхимальних стовбурових клітин на імуно-запальну реакцію та зменшення когнітивних порушень, що пов'язані з утворенням амілоїдних бляшок [24].

#### Висновки.

1. Формування умовно-рефлекторної реакції уникання у щурів відбувалося на 15 добу, а стійкого умовно-рефлекторного стереотипу на 30 добу експерименту, що супроводжувалось підвищеннем у 1,8 рази рівня прозапального цитокіну IL-1 $\beta$  у сироватці крові.

Таблиця 2

### Кореляційний аналіз динаміки рівній IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10 і TNF- $\alpha$ у сироватці крові щурів за умов послідовної коагуляції і трансплантації

Показник	r	p
IL-6 ↔ IL-10	0,98	$p = 0,0011$
IL-1 $\beta$ ↔ TNF- $\alpha$	0,79	$p = 0,0428$
IL-1 $\beta$ ↔ IL-10	0,63	$p = 0,1710$
IL-6 ↔ TNF- $\alpha$	0,63	$p = 0,1842$
IL-1 $\beta$ ↔ IL-6	0,62	$p = 0,2044$
IL-10 ↔ TNF- $\alpha$	0,59	$p = 0,2566$

Примітка: r – коефіцієнт кореляції Спірмена.

## КЛІНІЧНА ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА

2. Руйнування лівої лобно-фронтальної кори у тварин (експериментальна модель хвороби Альцгеймера) призвело до незворотного порушення умовно-рефлекторного стереотипу, підвищення на 35% рівня протизапального цитокіну IL-10 у сироватці крові на 1 добу і різкого зниження концентрації усіх вивчених цитокінів (IL-1 $\beta$  на 62%, IL-6 на 28%, IL-10 на 40% і TNF- $\alpha$  на 45%) на 32 добу дослідження.

3. Інтрацеребральна аллотрансплантація нервової ембріональної тканини у щурів з моделлю хвороби Альцгеймера призвела до відновлення умовно-рефлекторного стереотипу у 70% тварин та зниження рівні цитокінів (IL-1 $\beta$  на 65%, IL-6 на 36%, IL-10 на 44% і TNF- $\alpha$  на 49%), тобто пригнічувала активність цитокінової системи. Ранішній ефект трансплантації (через 4 доби після корекції експериментальної патології ХА) проявився у підвищенні на 50% рівня IL-10 та зменшенні на 21% концентрації TNF- $\alpha$ .

4. Щури з відновившимся умовно-рефлекторним стереотипом з хворобою Альцгеймера, які перенесли нейротрансплантацію, мали вірогідно нижчі рівні IL-1 $\beta$ , IL-10 і TNF- $\alpha$ , порівняно до групи тварин з не відновившимся стереотипом. Активність імуно-запальної системи виявилася сенсибілізуючою щодо формування умовно-рефлекторного стереотипу.

5. Була встановлена синхронність динаміки прозапальних цитокінів IL-1 $\beta$  і TNF- $\alpha$  та прозапального IL-10 і плейотропного IL-6 у щурів з моделлю хвороби Альцгеймера, яким проводили нейротрансплантацію ембріональної нервової тканини.

**Перспективи подальших досліджень.** Планується вивчення цитокінової системи мозку за показниками IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10 і TNF- $\alpha$  на експериментальній моделі Альцгеймера у щурів з аллонейротрансплантацією.

### Список літератури

1. Воробйова Т.М. Нейробіологічні особливості функціонального стану трансплантованої у мозок ембріональної тканини голубої плями / Воробйова Т.М., Берченко О.Г., Гейко В.В. та ін. // Фізіологічний журнал. - 1998. - Т. 44, №3. - С. 20.
2. Вороб'єва Т.М. Техника трансплантації специфіческой эмбриональной ткани в мозг реципієнта и ее эффективность / Вороб'єва Т.М., Берченко О.Г., Гейко В.В. // Укр. вісник психоневрології. - 1995. - Т.3, вип.2(6). - С. 241-242.
3. Ещенко Н.Д. Биохимия психических и нервных болезней. СПб: Изд-во С.-Петерб. ун-та, 2004. 200 с.
4. Завалишин И.А. Конформационные болезни (неврологические аспекты) / Завалишин И.А., Захарова М.Н. // Журнал неврологии и психиатрии. – 2003. - № 1. - С. 54-60.
5. Закарян А.В. Содержание цитокинов и обмен ганглиозидов при экспериментальном отеке мозга / Закарян А.В., Казарян Г.С., Закарян Г.В. и др. // Биомедицинская химия. - 2011. - Т. 57, вып. 4. - С. 455-460.
6. Кудинова Н.В.  $\beta$ -Амилоид: болезнь Альцгеймера и  $\beta$ -амилоидозы мозга / Кудинова Н.В., Березов Т.Т., Кудинов А.Р. // Биохимия. - 1999. - Т.64, № 7. - С. 899-905.
7. Пискунов А.К. Биомаркеры нейровоспаления / Пискунов А.К. // Нейрохимия. - 2010. - №1. - С. 63-73.
8. Полежаев Л.В., Александрова М.А., Витвітцкий В.Н., Черкасова Л.В. Трансплантація ткани мозга в біології і медицині. М., 1993. 234 с.
9. Соколік В.В. Биохимия  $\beta$ -амилоидного пептида и болезнь Альцгеймера / Соколік В.В. // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. - 2010. - № 3. - С. 3-8.
10. Соколік В.В. Моделирование трехмерной структуры и агрегации  $\beta$ -амилоидного пептида / Соколік В.В. // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. - 2010. - № 6. - С. 36-44.
11. Соколік В.В. Молекулярні засади таупатії у патогенезі хвороби Альцгеймера / Соколік В.В. // Матеріали XII Конгресу Світової федерації українських лікарських товариств. - Івано-Франківськ, 2008. - С. 259-260.
12. Угрюмов М.В. Генная и генно-клеточная терапия и нейродегенеративные заболевания / Угрюмов М.В., Ермаков А.С., Попов А.П., Жданов Р.И. // Вопросы медицинской химии. - 2000. - № 3. - С. 246-251.
13. Alcyr A. Alzheimer's disease and neural transplantation as prospective cell therapy / Alcyr A., Oliveira Jr., Hodges H.M. // Current Alzheimer Research. - 2005. - 2. - P. 79-95.
14. Alonso A.C., Li B., Grundke-Iqbali I., Iqbal K. Polymerization of hyperphosphorylated tau into filaments eliminates its inhibitory activity // PNAS. - 2006. - V. 103, № 23. - P. 8864-8869.
15. Avila J. Role of tau protein in both physiological and pathological conditions / Avila J., Lucas J.J., Perez M., Hernandez F. // Physiol. Rev. - 2004. - V. 84. - P. 361-384.
16. Borlongan C.V. Neural transplantation in neurodegenerative disease / Borlongan C.V., Sanberg P.R., Freeman T.B. // Lancet. - 1999. - V. 353. - P. S29-S30.
17. Casamenti F. Interleukin-1beta activates forebrain glial cells and increases nitric oxide production and cortical glutamate and GABA release in vivo: implications for Alzheimer's disease / Casamenti F., Prospieri C., Scali C. et al. // Neuroscience. - 1999. - V. 91. - P. 831-842.
18. Collier T.J. Neural Transplantation in Animal Models of Neurodegenerative Diseases / Collier T.J., Sladek J.R. // Physiology. - 1988. - V. 3. - P. 204-206.
19. Dunnett S.B. Neural transplants as a treatment for Alzheimer's disease? / Dunnett S.B. // Psychological Medicine. - 1991. - V. 21. - P. 825-830.
20. Greig N.H. New therapeutic strategies and drug candidates for neurodegenerative disease: p53 and TNF-alpha inhibitors, and GLP-1 receptor agonists / Greig N.H., Mattson M.P., Perry T. et al. // Ann NY Acad. Sci. - 2004. - V. 1035. - P. 290-315.
21. Hardy J. A new way APP mismetabolism can lead to Alzheimer's disease / Hardy J., Guerreiro R. // EMBO Mol Med. - 2011. - V. 3, Is. 5. - P. 247-248.
22. Hardy J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics / Hardy J., Selkoe D.J. // Science. - 2002. - V. 297. - P. 353-356.
23. Johnson G.V. Tau, where are we now? / Johnson G.V., Bailey C.D. // J. Alzheimers Dis. - 2002. - V. 4. - P. 375-398.

## КЛІНІЧНА ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА

---

---

24. Lee J.K. Intracerebral transplantation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells reduces amyloid-beta deposition and rescues memory deficits in Alzheimer's disease mice by modulation of immune responses / Lee J.K., Jin H.K., Endo S. et al. // Stem Cells. - 2010. - V. 28, № 2. - P. 329-343.
25. Lindvall O. Prospects of transplantation in human neurodegenerative diseases / Lindvall O. // Trends Neurosci. - 1991. - P.376-384.
26. McGeer E.G. Inflammatory processes in Alzheimer's disease / McGeer E.G., McGeer P.L. // Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. - 2005. - V. 27, Is. 5. - P. 741-749.
27. Neural transplantation in neurodegenerative disease: current status and new directions / Novartis Foundation Symposium. - 2000. - V. 10, № 231. - 324 p.
28. Querfurth H. W. Alzheimer's disease / Querfurth H. W., LaFerla F. M. // N. Engl. J. Med. - 2010. - V. 362. - P. 329-344.
29. Shaftel S.S. Sustained hippocampal IL-1 beta overexpression mediates chronic neuroinflammation and ameliorates Alzheimer plaque pathology / Shaftel S.S., Kyrianides S., Olschowka J.A. et al. // J. Clin. Invest. - 2007. - V. 117, Is. 6. - P. 1595-1604.
30. Swardfager W. A meta-analysis of cytokines in Alzheimer's disease / Swardfager W., Lanctot K., Rothenburg L., et al. // Biological Psychiatry. - 2010. - V. 68, Is. 10. - P. 930-941.

**УДК** 616.153.96:616-089.843: 616.894-053.9

### **РОЛЬ ЦИТОКІНОВОЇ СИСТЕМИ У ТЕРАПЕВТИЧНОМУ ЕФЕКТІ НЕЙРОТРАНСПЛАНТАЦІЇ НА МОДЕЛІ ХВОРОБИ АЛЬЦГЕЙМЕРА**

**Соколік В.В., Кириллова Н.О.**

**Резюме.** На експериментальній моделі хвороби Альцгеймера показали, що аллонейротрансплантація ембріональної тканини призводе до відновлення умовно-рефлекторного стереотипу і супроводжується зниженням активності цитокінової системи.

**Ключові слова:** цитокіни, хвороба Альцгеймера, нейротрансплантація.

**УДК** 616.153.96:616-089.843: 616.894-053.9

### **РОЛЬ ЦИТОКИНОВОЙ СИСТЕМЫ В ТЕРАПЕВТИЧЕСКОМ ЭФФЕКТЕ НЕЙРОТРАНСПЛАНТАЦИИ НА МОДЕЛИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА**

**Соколик В.В., Кириллова Н.А.**

**Резюме.** На экспериментальной модели болезни Альцгеймера показали, что аллонейротрансплантация эмбриональной ткани приводит к восстановлению условно-рефлекторного стереотипа и сопровождается снижением активности цитокиновой системы.

**Ключевые слова:** цитокины, болезнь Альцгеймера, нейротрансплантація.

**UDC** 616.153.96:616-089.843: 616.894-053.9

**Cytokines System Role In Therapeutic Effect Of Neurotransplantation On Alzheimer's Disease Model**

**Sokolik V.V., Кириллова Н.А.**

**Summary.** On experimental Alzheimer's disease models shown that alloneurotransplantation of a fetal fabric leads to restoration of a conditioned-reflex stereotype and is accompanied by decrease of cytokines system activity.

**Key words:** cytokines, Alzheimer's disease, neurotransplantation.

Стаття надійшла 8.12.2011 р.