

Ю.П. Коркач¹, А.В. Коцюруба¹, О.М. Величко², Н.Я. Гридiна²

Гальмування розвитку оксидативного і нітрозативного стресу при імплантації стовбурових клітин в пошкоджену зону головного мозку

¹Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, відділ молекулярної біології, м. Київ

²Інститут нейрохірургії ім. О.П. Ромаданова АМН України, лабораторія експериментальної нейрохірургії, м. Київ

Ключові слова: черепно-мозкова травма, епілепсія, стовбурові клітини

Відомо, що черепно-мозкова травма (ЧМТ), яка виникає при нейрохірургічних втручаннях, в тому числі при імплантації стовбурових клітин, може бути причиною розвитку так званої посттравматичної епілепсії (ПТЕ). Одним із можливих механізмів виникнення епілептичного вогнища можуть бути локальні пошкодження клітин різних структур головного мозку, в т. ч. їх некроз або апоптоз, ініційований активними метаболітами кисню чи азоту, через відкриття мітохондріальної пори перехідної проникності (МППП), яке супроводжується виходом у цитозоль мітохондріального Ca^{2+} . Ми зробили припущення, що в клітинах ЦНС саме цей процес може викликати утворення проепілептичного вогнища в зонах хірургічного втручання.

Мета роботи – експериментальне підтвердження розвитку оксидативного і нітрозативного стресу в зоні ЧМТ, їх пролонгація протягом тривалого часу і можливість гальмування при імплантації в зону ЧМТ стовбурових клітин головного мозку.

Матеріали і методи. Дослідили біохімічні показники, що характеризують оксидативний стрес ((швидкість генерації супероксид аніону ($\text{O}_2^{\cdot-}$) та гідроксил-радикалу ($\cdot\text{OH}$); інтенсивність ферментативного (за вмістом ейкозаноїдів (LTC_4 , TxB_2) та неферментативного (за вмістом продуктів ПОЛ) окиснення ліпідів)) та нітрозативний стрес ((інтенсивність синтезу оксиду азоту – індукцибельною (iNOS) і конститутивною (nNOS) NO-синтазами та NADP-залежною нітратредуктазою; пули стабільних метаболітів NO – нітрит-, нітрат-аніонів, нітрозотіолів)) в клітинах кори і гіпокампу головного мозку дорослих (контрольних) шурів, у тварин з ЧМТ – через 30 діб після хірургічного втручання і у шурів через 30 діб після імплантації різних клітин – стовбурових клітин кісткового мозку (СККМ), частково диференційованих гліальних клітин (ЧДГК), недиференційованих нейрональних стовбурових клітин (ННСК) і нейрональних клітин - попередників (СКП). Попередньо у цих же шурів тестували судомну готовність в коразоловому тесті.

Джерелом стовбурових клітин нейрального походження слугували тканини головного мозку ембріонів шурів. Клітини культивували *in vitro*, потім їх імплантували в головний мозок піддослідних тварин. Клітини кісткового мозку, взяті у шурів, імплантували цим же тваринам (ауто-

рансплантація) у травматичне вогнище.

Результати та їх обговорення. Проведені дослідження показали, що через 30 діб після ЧМТ у пошкодженій зоні розвивається нітрозативний і оксидативний стрес за рахунок активації ліпідних оксидаз – ліпоксигенази і циклооксигенази, нітратредуктази і індукцибельної NO-синтази, тоді як синтез NO конститутивним ізоферментом NOS, навпаки, сильно пригнічується за рахунок індукції конкуруючої за аргінін мітохондріальної аргінази II, що може сприяти відкриттю МППП і виходу із мітохондрій іонів Ca^{2+} . Всі види імплантованих клітин, в різній мірі (СККМ >> ЧДГК > ННСК > НКП) інгібували розвиток як оксидативного, так і нітрозативного стресу, що може бути передумовою для інгібування МППП, а, отже, і процесів некрозу і апоптозу. Останнє передбачає можливість інгібування диференційованими після їх імплантації стовбуровими клітинами розвитку епілептичних вогнищ в зонах підвищеного некрозу клітин після хірургічної травми. Ця антиепілептична дія різних досліджених стовбурових клітин підтверджується вивченням поведінкових реакцій тварин різних експериментальних груп.

Висновки

1. В пошкодженій зоні головного мозку через місяць після ЧМТ розвивається, як оксидативний, так і нітрозативний види окисного стресу.

2. Підвищення рівня генерації NO у пошкодженій зоні мозку обумовлюється значною активацією активностей нітратредуктази і iNOS, тоді як підвищення генерації $\text{O}_2^{\cdot-}$ – за рахунок активації ліпідних оксидаз.

3. В пошкодженій зоні значно зростає неферментативне ПОЛ, в тому числі за рахунок обмеження синтезу NO конститутивним шляхом, який забезпечує нейтралізацію $\text{O}_2^{\cdot-}$ шляхом утворення пероксинітриту, при деградації якого утворюється нетоксичний нітрат-аніон.

4. Обмеження синтезу NO конститутивним шляхом обумовлюється значним зростанням у пошкодженій зоні конкурентної деградації аргініну аргіназою.

5. Всі види досліджених стовбурових клітин через місяць після їх імплантації у пошкоджену зону головного мозку обмежують всі вищевказані прояви ЧМТ, що створює передумови для обмеження розвитку посттравматичної епілепсії і свідчить про нейропротекторну дію стовбурових клітин.