

# Влияние криоконсервированных фетальных нервных клеток на маркеры иммунного воспаления ткани головного мозга при развитии ишемического инсульта

Д.В. ЛЕБЕДИНЦ, М.А. СИРОУС, М.В. ОСТАНКОВ, И.В. РАССОХА, А.Н. ГОЛЬЦЕВ  
Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

## Effect of Cryopreserved Fetal Nerve Cells on Markers of Immune Inflammation of Brain Tissue Under Development of Ischemic Stroke

D.V. LEBEDINETS, M.A. SIROUS, M.V. OSTANKOV, I.V. RASSOKHA, A.N. GOLTSEV  
Institute for Problems of Cryobiology & Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov

Современная медикаментозная нейротропная терапия не способна кардинально улучшить репаративные возможности нервной ткани при ишемическом инсульте (ИИ). Трансплантация криоконсервированных фетальных нервных клеток (кФНК) является одним из основных путей замещения анатомических и/или функциональных нейродегенеративных дефектов. Для успешного применения кФНК в клинике необходимо экспериментально обосновать возможность лечения ими ИИ и провести исследования по изучению механизмов действия такой терапии.

Цель работы – изучить влияние кФНК на маркеры иммунного воспаления ткани головного мозга при развитии ИИ: антитела (АТ) к С-реактивному белку (С-РБ), к общему белку миелина (ОБМ) и ДНК.

Работа выполнена на 6- и 18- месячных крысах-самцах линии Вистар в соответствии с правилами “Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей” (Страсбург, 1985). ФНК получали из мозга плодов крыс 11 суток гестации гомогенизацией в среде 199. Криоконсервировали ФНК с 10% ДМСО на программном замораживателе УОП-1 производства СКТЬ с ОП ИПКиК НАН Украины. ИИ моделировали окклюзией средней мозговой артерии (СМАо). ФНК вводили внутривентриально по 0,2 мл ( $5 \times 10^6$  клеток) через 6 ч после СМАо. В сыворотке крови определяли АТ к С-РБ методом латексной агглютинации, а к ОБМ и ДНК – иммуноферментным методом. Крыс без лечения, а также после введения криоконсервированных, нативных ФНК и пирacetам декапитировали на 3, 7 и 28-е сутки после индукции ИИ. Поведенческое тестирование проводили, используя тесты “водный лабиринт Морриса” и “открытое поле”. Неврологический статус оценивали по 18-балльной шкале. Статистическую обработку результатов проводили с использованием критерия Манна-Уитни.

Прогностические уровни АТ к ОБМ и ДНК (чем выше титр, тем хуже прогноз и течение ИИ), а также повышенное содержание С-РБ снижались на 7-е сутки у всех леченых крыс. На 28-е сутки после введения кФНК у всех крыс восстанавливался исходный поведенческий и неврологический статус. Площадь дефекта мозга была меньше, чем у животных, леченых пирacetамом. Повреждение мозга не выходило за пределы неокортекса и зона ишемической полутени была окружена молодыми нейрональными клетками.

Сделан вывод, что результативность клеточной терапии в значительной степени зависит от возраста реципиента – у 6-месячных крыс способность к приживлению донорских клеток, их функциональная активность, как и снижение титра АТ к ДНК и ОБМ, были выше, чем у 18-месячных.

Current medicinal neurotropic therapy is not able to fundamentally improve reparative possibilities of nerve tissue at ischemic stroke (IS). Transplantation of cryopreserved fetal nerve cells (FNCs) is one of main ways to substitute anatomic and/or functional neurogenerative defects. For successful application of cFNCs in clinic it is necessary to experimentally substantiate the possible treatment of IS using them and to carry-out the studies on action mechanisms of this therapy.

The research aim is to investigate the effect of cryopreserved FNCs on markers of immune inflammation of brain tissue during the development of IS: antibodies (AB) to C-reactive protein (C-RP), to total myelin protein (TMP) and to DNA.

The research is performed in 6 and 18 month-old Wistar male rats in accordance with “European convention on protection of vertebrate animals used in scientific purposes” (Strasbourg, 1985). FNCs were derived from brain of rat fetuses of 11 gestation days by means of homogenization in medium 199. FNCs were cryopreserved in presence of 10% DMSO by means of programmable freezer UOP-6 (Special Designing and Technical Bureau with Experimental Unit of IPC&C). IS was modelled by occlusion of medial cerebral artery (MCAo). FNCs were introduced intraperitoneally by 0.2 ml ( $5 \times 10^6$  cells) 6 hrs later after MCAo. In blood serum we assessed AB to C-RP using the method of latex agglutination and AB to TMP and DNA using immune enzymatic method. Non-treated rats as well as those after injection of cryopreserved, native FNC, as well as piracetam were decapitated to the 3<sup>rd</sup>, 7<sup>th</sup> and 28<sup>th</sup> days after IS induction. Behaviour was studied using the Morris’ water labyrinth and open field tests. Neurological status was assessed by means of 18-point scale. The results were statistically processed using the Mann-Whitney criterion.

The levels of AB to TPM and DNA having the prognostic value (the higher titre is, the worse forecast and course of IS), as well as increased content of C-RP were reduced to the 7<sup>th</sup> day in all treated rats. To the 28<sup>th</sup> day after injection of cryopreserved FNCs in all rats an initial behaviour and neurological status were recovered. Brain defect area was less than in the piracetam-treated animals. Brain damage was not beyond the neocortex and zone of ischemic penumbra was surrounded with young neuronal cells.

We conclude that success of cell therapy in a great extent depends on patient’s age, in 6 month-old rats the grafting ability of donor cells, their functional activity as well as the decrease in AB titre to DNA and TPM was higher if compared with 18 moth-old rats.