

Влияние криоконсервированных фетальных нервных клеток на стромальные и цитокин-продуцирующие клетки тимуса при развитии экспериментального аллергического энцефаломиелита

Е.А. ПОРОЖАН, М.В. ОСТАНКОВ

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Influence of Cryopreserved Fetal Nerve Cells on Stromal and Cytokine-Producing Thymus Cells during Development of Experimental Allergic Encephalomyelitis

YE.A. POROZHAN, M.V. OSTANKOV

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

Важным звеном кооперации и координации деятельности нервной, эндокринной и иммунной систем является тимус. Это не только центральный орган иммунитета, но и центр регуляции гормонального профиля организма независимо от того, участвует ли он непосредственно в образовании этих гормонов или только контролирует реализацию их активности. В реализации этих механизмов активное участие принимает эпителиальная строма тимуса, продуцирующая различные гуморальные факторы, IFN- γ , IL-10, TGF- β и др. Гормоны тимуса в этих сложных каскадных взаимодействиях выступают также в роли посредников взаимодействия тимуса и структур нервной системы, функционирование которых нарушается при экспериментальном аллергическом энцефаломиелите (ЭАЭ). Поэтому для лечения целесообразно использовать модуляторы надсистемного воздействия, комплексно влияющие на механизмы иммунного ответа, например фетальные нервные клетки (ФНК).

Цель исследования – изучить стромальные и цитокин-продуцирующие клетки тимуса в динамике развития ЭАЭ после применения криоконсервированных по разным режимам ФНК (кФНК).

Эксперименты на крысах проведены в соответствии с правилами “Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей” (Страсбург, 1986 г.). ЭАЭ индуцировали у крыс по методу Давыдовой (1976 г.). Суспензию ФНК из мозга эмбрионов крыс 11 суток гестации криоконсервировали по двум режимам (P1 и P2). Суспензию кФНК крыс вводили внутривентриально на 14-е сутки развития ЭАЭ. Методом проточной цитофлуориметрии (FACS Calibur, BD, США) на 7–35-е сутки развития патологии определяли DC⁺, Ia⁺, IFN- γ ⁺, IL-10⁺ – клетки с использованием соответствующих МАТ (BD). Методом ELISA определяли уровень тимозина β 4 (Abcam) и TGF- β (BD). Статистическую обработку результатов проводили с использованием критерия Манна-Уитни.

Полученные данные продемонстрировали волнообразное изменение изучаемых показателей в тимусе при развитии ЭАЭ. Введенные кФНК обеспечивали коррекцию клеток соединительнотканной стромы тимуса. Содержание Ia⁺- и DC⁺-клеток коррелировало с концентрацией IL-10⁺ – клеток и к 35-м суткам развития патологии снижалось. Результаты показали, что кФНК достоверно повышали содержание IFN- γ ⁺ – клеток, концентрацию TGF- β и тимозина β 4 в тимусе крыс с ЭАЭ. Более выраженное корректирующее влияние оказывали кФНК (P2), о чем свидетельствовала суммарная степень отклонений.

Таким образом, продемонстрирована способность кФНК воздействовать на стромальные элементы тимуса (DC⁺, Ia⁺-клетки) животных с ЭАЭ, нормализуя содержание IFN- γ ⁺, IL-10⁺ – клеток, а также концентрацию TGF- β и тимозина β 4.

Thymus is an important link for the cooperation and coordination of nervous, endocrine and immune systems activity. It is not just a central organ of immunity but a center of body hormonal profile regulation as well regardless of the fact if it is directly involved in the production of these hormones or only controls the implementation of their activity. Thymus epithelial stroma actively participates in the implementation of these mechanisms by producing various humoral factors, IFN- γ , IL-10, TGF- β etc. In these complex cascade interactions thymus hormones also act as mediators of interactions between thymus and structures of nervous system which functions are impaired during experimental allergic encephalomyelitis (EAE). Therefore for the treatment one should use modulators with suprasystem effect which have complex influence on the immune response mechanisms, for example, fetal nerve cells (FNC).

The research aim was to investigate stromal and cytokine-producing thymus cells during EAE development after administration of FNC cryopreserved according different regimens (cFNC).

The experiments in rats have been performed according to the regulations of European Convention on the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes (Strasbourg, 1986). EAE was induced in rats by Davydova's method (1976). FNC suspension obtained from the brain of rat embryos of 11 gestation days was cryopreserved according two regimens (R1 and R2). Rat cFNC suspension was injected intraperitoneally to the day 14 of EAE development. DC⁺, Ia⁺, IFN- γ ⁺, IL-10⁺ cells were examined by flow cytometry method (FACS Calibur, BD, USA) to the days 7–35 using appropriate monoclonal antibodies (BD). Levels of thymosine β 4 (Abcam) and TGF- β (BD) were determined by ELISA method. Statistical processing of the results was performed with Mann-Whitney criterion.

The obtained data demonstrated a wave-like change of the studied parameters in the thymus during EAE development. Injected cFNC provided the correction of the thymus connective tissue stromal cells. The level of Ia⁺ and DC⁺ cells decreased to the day 35, that correlated with the concentration of IL-10⁺ cells. The results showed that cFNC significantly increased the number of IFN- γ ⁺ cells, concentration of TGF- β and thymosine β 4 in the thymus of rats with EAE. More pronounced correction influence was rendered by cFNC (R2) which was indicated by cumulative degree of deviations.

Consequently, we demonstrated an ability of cFNC to influence thymus stromal elements (DC⁺ and Ia⁺ cells) of EAE animals normalizing the level of IFN- γ ⁺, IL-10⁺ cells as well as TGF- β and thymosine β 4 concentrations.