

М. І. Лісяний, Л. Д. Любич, О. В. Маркова, Л. М. Бельська

Дослідження гуморальних аутоімунних реакцій до нейроспецифічних білків у разі експериментального алергічного енцефаломієліту на етапах патогенезу та імунокорекції алогенною нервовою тканиною

В эксперименте на крысах с экспериментальным аллергическим энцефаломиелитом (ЭАЭ) исследовали иммунокорректирующее влияние клеточных суспензий головного мозга новорожденных крыс, обогащенных нейронами и глиальными клетками с помощью метода преплейтинга. Контролем служили интактные животные и животные с индуцированным ЭАЭ, которым вводили питательную среду. Показано, что тяжелое клиническое течение ЭАЭ, по сравнению с легким клиническим течением, сопровождалось достоверно более высокими титрами аутоантител к основному белку миелина, сохраняющимся на повышенном уровне в течение 3 мес. Внутривбрюшинное введение нейрональной фракции клеток мозга оказывало корректирующее действие на клинические проявления ЭАЭ у крыс и гуморальный аутоиммунный ответ к нейроантитенам.

ВСТУП

Експериментальний алергічний енцефаломієліт (ЕАЕ) використовується для вивчення демієлінізувальних процесів у центральній нервовій системі, патогенезу аутоімунних розладів і терапії неврологічних та опосередкованих імунною системою хвороб [8]. Незважаючи на тривале дослідження патогенезу демієлінізованих захворювань, механізми, що лежать в їх основі, залишаються незрозумілими.

Нині переважають уявлення про провідну роль аутоімунних процесів у патогенезі демієлінізованих хвороб [6,14,27]. Зокрема, для множинного склерозу характерні ознаки, властиві аутоімунним захворюванням: генетична схильність, прогресуючий перебіг з екзацербациями та спонтанними ремісіями, можливість відтворення на тваринах, виявлення в крові хворих аутоантитіл і циркулюючих імунних комплексів [13]. Пору-

шення бар'єрної функції гематоенцефалічної системи зумовлює екстраневральну сенсibiliзацію і розвиток аутоімунних реакцій. Важливими ланками в патогенезі множинного склерозу є зменшення кількості Т-супресорів і зміна їх функціональної активності, порушення балансу імунорегуляторних клітин внаслідок зниження числа Т-супресорів і збільшення Т-хелперів, зниження активності клітин-кілерів, стимуляція В-клітинних клонів, сенсibiliзація лімфоцитів до основного білка мієліну (ОБМ) і наявність у крові циркулюючих імунних комплексів [6,19,25]. Проте залишається дискусійним питання про патогенну дію клітинних і гуморальних імунних факторів на мієлінізовані структури мозку.

Актуальною є розробка способів генної та клітинної терапії з використанням ембріональних тканин, зокрема, можливої імунокоригуючої дії нервової тканини на патологічні процеси у експериментальних тварин на етапах індукції ЕАЕ і пояснення доцільності за-

стосування цього виду терапії у пацієнтів з демієлінізуювальними захворюваннями. Дослідження клітин незрілого мозку привертають увагу своїм різнобічним лікувальним ефектом: заміщувальним, трофічним, імунокоригуючим, диференціювальним тощо. Значний прогрес у розробці показань до використання недиференційованої тканини ЦНС пов'язаний з виявленням у тестах *in vitro* та *in vivo* суттєвих відмінностей між нейронами та гліальними клітинами [10, 11].

Метою нашої роботи було вивчення динаміки гуморальної аутоімунної відповіді до нейроспецифічних білків (НСБ) у щурів з різним клінічним перебігом ЕАЕ та при введенні збагачених фракцій нейронів та гліальних клітин.

МЕТОДИКА

У щурів ($n=51$) ЕАЕ моделювали одноразовою імунізацією гомогенатом тканини спинного мозку щурів (50 мг/100 г) і 2 мг БЦЖ у повному ад'юванті Фрейнда у подушечки лап. Тяжкість хвороби оцінювали за шкалою: відсутність клінічних проявів – 0 балів, знижений тонус хвоста – 1 бал, слабкість або легкий параліч задніх кінцівок – 2 бали, важкий параліч задніх або всіх чотирьох кінцівок – 3 бали, передсмертний стан – 4 бали, смерть – 5 балів. На 12, 14, 16-ту добу після індукції ЕАЕ щурам внутрішньоочеревинно проводили імунокорекцію. Імунокоригуючу дію алогенної нервової тканини новонароджених тварин вивчали у наступних серіях дослідів: I - при введенні тваринам з індукованим ЕАЕ збагачених фракцій гліальних клітин і II - нейрональних клітин алогенної нервової тканини (5-8 мільйонів клітин на 1 тварину). Збагачення клітинної суспензії нейронами та гліальними клітинами проводили методом преплейтингу [10]. Контролем були інтактні тварини ($n=30$) та тварини з індукованим ЕАЕ, яким вводили живильне середовище. Досліди проводили на 20, 30, 35, 60, 100-ту добу після індукції ЕАЕ.

У сироватках крові щурів визначали аутоантитіла до нейроантігенів ОБМ, S-100

та NSE за допомогою твердофазного ІФА [18] і виражали в умовних одиницях. Визначення розмірів і концентрації імунних комплексів (ІК) у сироватках крові проводили за методикою, в основу якої покладено здатність поліетиленгліколю осаджувати ІК різного розміру [15]. Концентрацію ІК знаходили за калібрувальним графіком залежності оптичної густини від концентрації білкового стандарту (бичачого сироваткового альбуміну) в міліграмах при 280 нм [1].

РЕЗУЛЬТАТИ

При відтворенні ЕАЕ виявилися групи тварин з різним ступенем вираженості клінічних проявів: з легкою формою ЕАЕ (ступінь тяжкості 1-2 бали) і важкою формою ЕАЕ (3-4 бали) на піку клінічних проявів.

Клінічно захворювання виявлялося зниженням тону хвоста, слабкістю задніх кінцівок, паралічем задніх або усіх чотирьох кінцівок. Пік клінічних симптомів розвивався на 15 – 18-ту добу, з поступовим спонтанним одужанням до 28 – 35-ї доби.

Внутрішньоочеревинне введення збагаченої нейронами фракції клітин мозку супроводжувалося зменшенням удвічі кількості тварин з вираженими клінічними проявами хвороби на 15-ту добу порівняно зі значеннями у тварин контрольної групи з ЕАЕ. Введення гліальних клітин не впливало істотно на динаміку розвитку ЕАЕ, проте на 35-ту добу частка тварин, що одужали, у цій групі була вдвічі меншою, ніж у групі порівняння, що свідчить про ускладнення перебігу ЕАЕ.

Важкий клінічний перебіг ЕАЕ супроводжувався значно вищими титрами аутоантитіл до НСБ (рис. 1, I), порівняно з легким клінічним перебігом ЕАЕ (рис. 1, II). Ця різниця була достовірною на 35-ту добу стосовно аутоантитіл до ОБМ: значення вказаного показника у щурів з важким перебігом ЕАЕ становило $23,27 \text{ ум.од.} \pm 0,99 \text{ ум.од.}$, у щурів з легкими проявами ЕАЕ – $15,64 \text{ ум.од.} \pm 0,66 \text{ ум.од.}$ ($P < 0,05$). Однак у тварин з легкими клінічними ознаками ЕАЕ на 30-ту добу

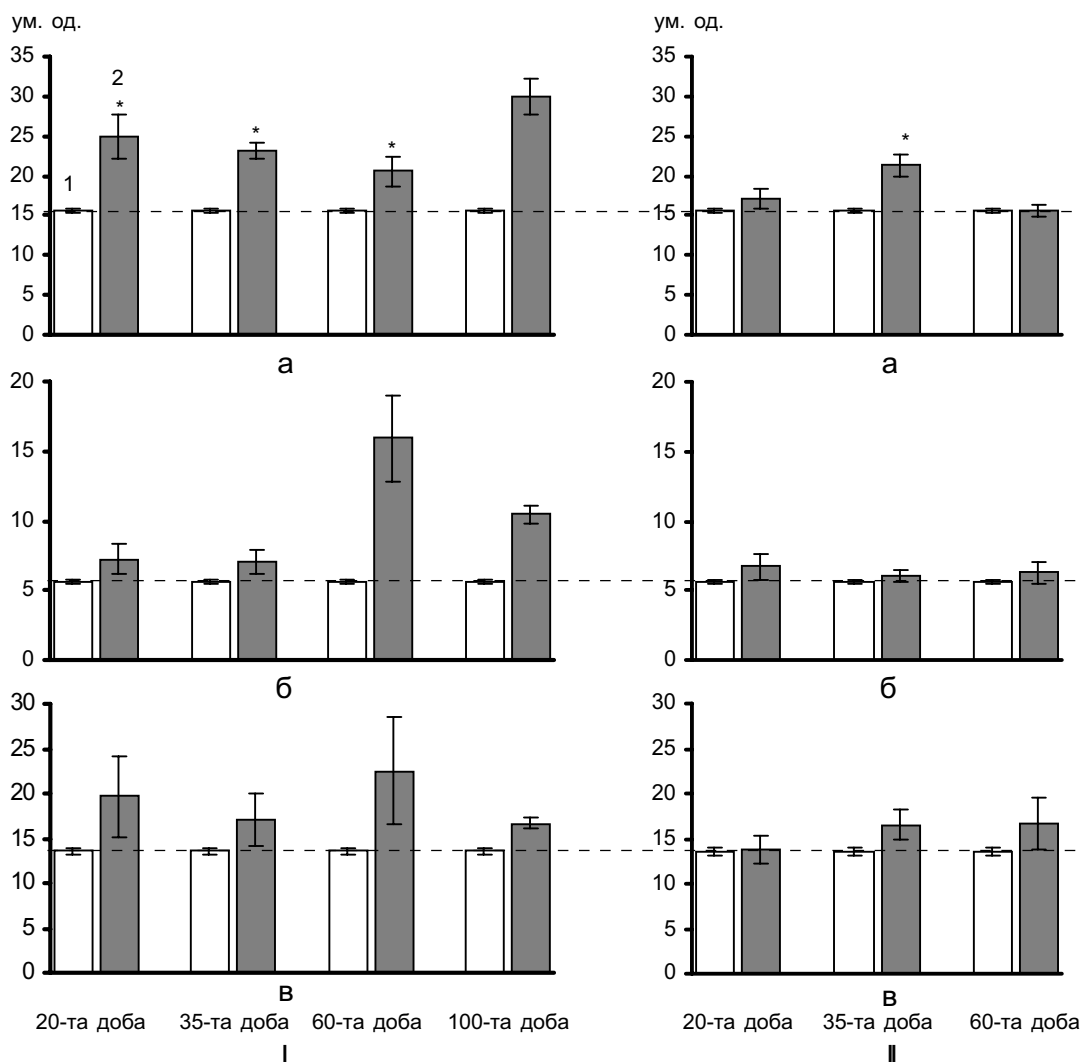


Рис. 1. Динаміка рівня аутоантител (ум.од.) до нейроспецифічних білків: основного білка мієліну (а), білка S-100 (б), білка NSE (в) — на етапах індукції експериментального алергічного енцефаломієліту у щурів з важким (I) та легким (II) ступенем вираженості клінічних проявів. 1 - контрольні показники, 2 - дослід.

* різниця статистично достовірна відносно контролю (P<0,05).

zareєстровано достовірне підвищення аутоантител до ОБМ, яке на 35-ту добу знижувалося до норми, тоді як у тварин з важким клінічним перебігом титр ОБМ-специфічних аутоантител зберігався підвищеним у всі терміни спостереження. Таким чином, при легкому клінічному перебігу ЕАЕ рівень аутоантител до ОБМ наростав пізніше (на 30-ту добу), ніж при важкому клінічному перебігу (на 20-ту добу) і знижувався практично до

норми на 35-ту добу, тобто на момент клінічного одужання. Можна припустити, що комплекс необхідних умов для запуску гуморальних аутоімунних реакцій при легкому клінічному перебігу складається пізніше, а на момент клінічного одужання аутоімунна відповідь практично затухає. На противагу, при тяжкому клінічному перебігу гуморальна аутоімунна відповідь розвивається раніше і утримується на високому рівні протягом

всього терміну досліджень. Відносно інших НСБ спостерігалася така ж тенденція, проте ці зміни не були достовірними.

Введення тваринам з важкими клінічними проявами ЕАЕ збагачених гліальних фракцій нервової тканини не змінювало рівень антитіл до всіх досліджуваних НСБ (рис. 2) - відбувалося недостовірне зниження лише рівня антитіл до S-100 на 60-ту і 100-ту добу після початку експерименту. Введення дослідним щурам фракцій нервових клітин, збагачених нейронами, суттєво не впливало на

рівень аутоантитілоутворення, а в деякі строки дослідження навіть стимулювало вироблення аутоантитіл до NSE у деяких тварин (20-та, 35-та доба). Можливо, введені нейрональні клітини тваринам з ЕАЕ сприймалися імунною системою реципієнтів як додатковий антигенний стимул аутоантитілоутворення до нейронального антигену.

Клінічно внутрішньоочеревинне введення збагаченої нейронами фракції клітин мозку супроводжувалося зменшенням кількості тварин з вираженими клінічними проявами

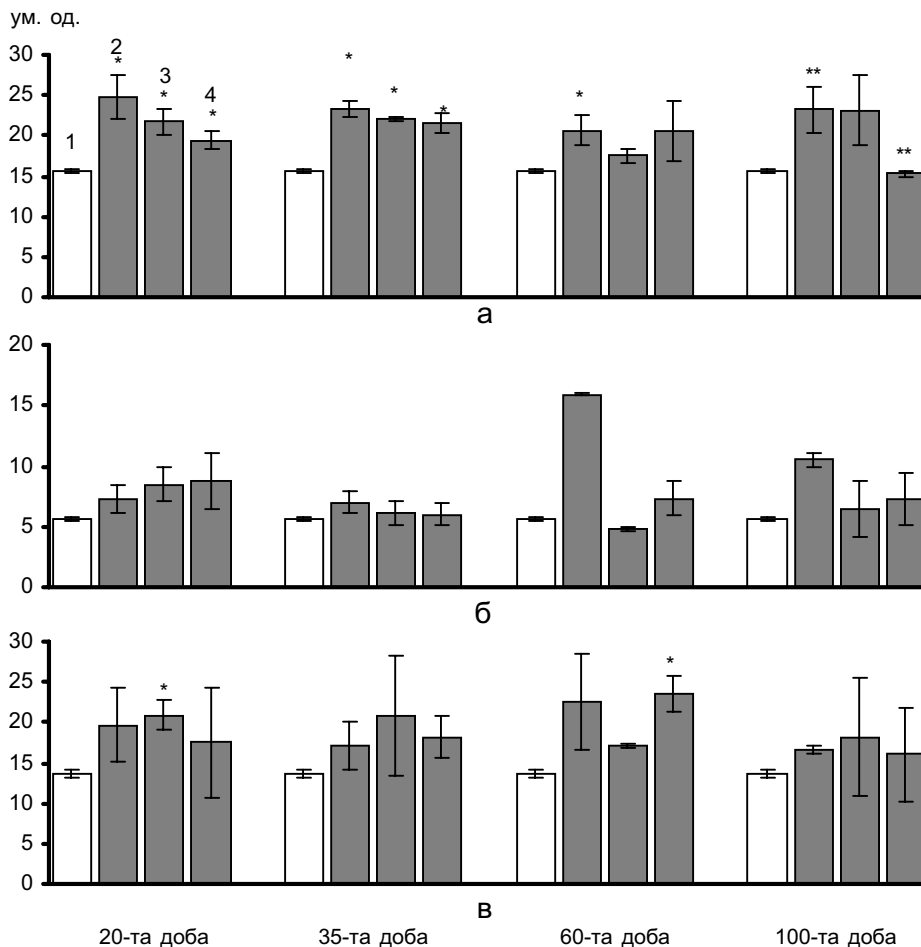


Рис. 2. Вплив імуноткорекції збагаченими фракціями нейронів і гліальних клітин на динаміку рівня аутоантитіл (ум.од.) до нейроспецифічних білків: основного білка мієліну (а), білка S-100 (б), білка NSE (в) – на етапах індукції експериментального алергічного енцефаломієліту (ЕАЕ) у щурів із важким ступенем клінічних проявів: 1 - контрольні показники, 2 - ЕАЕ, 3 - ЕАЕ і введення нейрональнозбагаченої фракції, 4 - ЕАЕ і введення гліальнозбагаченої фракції.

* різниця статистично достовірна відносно контролю ($P < 0,05$); ** різниця статистично достовірна відносно значень між групами ($P < 0,05$).

хвороби порівняно з контрольною групою тварин з ЕАЕ.

Введення гліально збагачених фракцій клітин алогенного головного мозку ускладнювало перебіг ЕАЕ. Достовірних змін динаміки рівнів аутоантитіл до НСБ під впливом гліальних клітин нами не зареєстровано, проте спостерігалася тенденція до зниження ОБМ-специфічних аутоантитіл у групі щурів з ЕАЕ, яким вводили гліально збагачені фракції

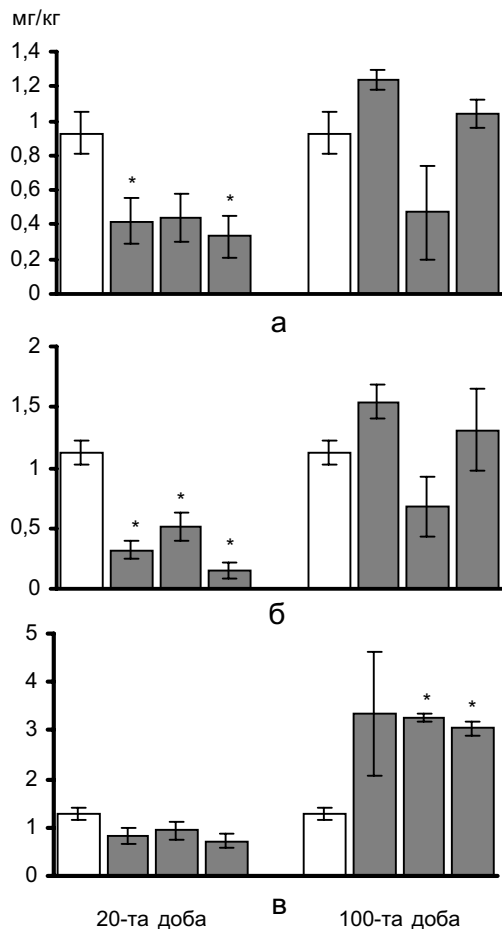


Рис. 3. Концентрація (мг/мл) високомолекулярних (а), середньомолекулярних (б) та низькомолекулярних (в) імунних комплексів у сироватці крові щурів на етапах патогенезу експериментального алергічного енцефаломієліту (ЕАЕ) та при імуноткорекції: 1 - контрольні показники, 2 - ЕАЕ, 3 - ЕАЕ і введення гліальнозбагаченої фракції, 4 - ЕАЕ і введення нейрональнозбагаченої фракції.

* різниця статистично достовірна відносно контролю ($P < 0,05$).

ції клітин алогенної нервової тканини, порівняно з групою нелікованих тварин.

Отже, можна зробити попередній висновок про певну залежність між клінічним ефектом і рівнем аутоантитіл до НСБ. Так, під впливом нейрональної фракції нервової тканини збільшувалася частка тварин, що одужали, а аутоантитілоутворення до ОБМ залишалось нормальним (незміненим); під впливом гліальної фракції нервової тканини зменшувалося число тварин, що одужали, а також знизилися рівні ОБМ-специфічних аутоантитіл.

У тварин з ЕАЕ на 20-ту добу після індукції всі фракції ІК були достовірно знижені відносно контрольних значень (рис.3), підвищуючись з 30-ї до 100-ї доби, особливо значуще збільшувалася концентрація низькомолекулярних ІК. При корекції як гліально збагаченою, так і нейронально збагаченою фракцією нервової тканини у сироватці крові дослідних тварин продовжували реєструватися достовірно високі концентрації низькомолекулярних (найбільш патогенних) ІК у віддалені після індукції ЕАЕ терміни (100-та доба).

ОБГОВОРЕННЯ

Клінічний перебіг ЕАЕ супроводжувався достовірно підвищеними титрами аутоантитіл до ОБМ, що узгоджується з даними літератури. Антитіла до ОБМ вважаються маркерними для множинного склерозу [9] і визначаються у спинномозковій рідині 90-95% хворих в активній фазі захворювання [41]. Як відомо, ОБМ є маркером мієліну і олігодендроцитів [2]. Функція ОБМ - організація збірки і підтримання структурної цілісності мієліну в ЦНС. Білок має високу енцефалітогенну активність: практично у всіх тварин після підшкірного введення очищеного препарату ОБМ у повному ад'юванті Фрейнда розвивається ЕАЕ - аутоімунне захворювання, що супроводжується демієлінізацією [8]. ОБМ є виключно чутливим до дії кислоти протеїнази і першим вилучається з міє-

ліну, порушуючи його структуру і починаючи процес демієлінізації. Це підтверджується зареєстрованим нами у тварин з ЕАЕ достовірним підвищенням рівня антитіл саме до ОБМ, хоч для досліджень були використані також інші нейроантигени. У тварин з ЕАЕ ми виявили зниження вмісту високомолекулярних і підвищення середньо- і низькомолекулярних ІК, що, як відомо, є найбільш патогенними і здатними чинити цитотоксичну дію на комплементарні структури. Утворені ІК з цитотоксичною дією можуть активувати протеолітичні ферментні системи мозку, спинномозкової рідини та крові.

У тварин з важкими клінічними проявами титр аутоантитіл до ОБМ зберігався підвищеним у всі терміни спостереження (протягом 3 міс), що свідчить про аутоімунний процес, що самопідтримується. Можливо, аутоімунна відповідь спрямована спочатку проти однієї антигенної детермінанти ОБМ, а потім в аутоімунний процес залучаються інші, раніше приховані детермінанти [39]. Так, при імунізації ОБМ аутореактивна Т-клітинна відповідь спрямована проти однієї імунодомінантної детермінанти: у мишей лінії (SJLxB10.PLF1) це домінуюча N-кінцева послідовність амінокислот ОБМ 1-9. Одноразове введення пептиду 1-9 ОБМ може запустити аутоімунний процес. Проте через три тижні після ін'єкції ОБМ визначається Т-клітинна відповідь до додаткових, латентних детермінант (ОБМ 35-47, 81-100 і 121-140). Більше того, індукція ЕАЕ пептидом ОБМ 1-9 призводить до відхилення Т-клітинної відповіді до заново презентованих детермінант на аутологічному ОБМ. Можливо, що ініціальна активація Т-клітин, що інфільтрують мозок, призводить до тканинної деструкції, що супроводжується виходом ОБМ у міжклітинний простір. Ензими проміжних тканин можуть далі процесувати ОБМ, роблячи таким чином можливою презентацію прихованих детермінант іншим Т-клітинам [19]. Крім того, клітини, що опосередковують запалення (макрофаги, поліморфонуклеари) і інфільтрують мозок у великій кількості, мо-

жуть процесувати ОБМ інакше, ніж нервові клітини (мікроглія, астроцити) [39] і презентувати приховані детермінанти.

У патогенезі ЕАЕ найбільш дискусійним є питання про роль циркулюючих антитіл у пошкодженні тканини головного мозку [17,32]. За даними багатьох авторів, головну роль у розвитку ЕАЕ відіграють сенсibiлізовані лімфоцити, а комплемент зв'язувальні антитіла виконують захисну функцію. Однак досліди на культурі тканини свідчать про мієлотоксичний ефект сироваток крові хворих людей і тварин на множинний склероз [7,13]. Крім того, сироватка крові хворих людей на множинний склероз містить нейроелектроблокуючий фактор, який знижує провідність нервових імпульсів у спинному мозку жаби [13]. Токсичність сироватки пов'язують з накопиченням у крові антитіл до ОБМ, які викликають демієлінізацію внаслідок дії на олігодендрогліальну мембрану, а патогенність протимозкових антитіл реалізується фагоцитами через взаємодію з комплексом .

Висловлюється припущення про те, що протимозкові антитіла зумовлюють сенсibiлізацію нейроглії і, що в інкубаційному періоді ЕАЕ до прояву клінічних ознак захворювання мозок зазнає дії гуморальних факторів, у тому числі і протимозкових антитіл [4]. Це призводить до зміни обмінних процесів у клітинах головного мозку. За деякими даними [25] антитіла, які утворюються здоровими тваринами у відповідь на імунізацію спинним мозком, стимулюють утворення речовин, необхідних для відновлення мієліну. Аутоантитіла до енцефалітогенної ділянки ОБМ знижують запальну відповідь при ЕАЕ, сприяючи швидшому одужанню через підсилену імуноглобуліном ремієлінацію [22].

Вважають, що антимиєлінові антитіла можуть бути не необхідним фактором формування патологічного комплексу при множинному склерозі, а тільки ускладнюють перебіг хвороби [17]. З іншого боку, є дані, котрі свідчать про запуск або підсилення антитілами фагоцитарної відповіді периферич-

ними або резидентними макрофагами при ЕАЕ [40].

За даними Гервазієва та співавт. [3] розвиток клінічних симптомів ЕАЕ залежав від вираженості гуморальної відповіді на ОБМ, що підтверджує зв'язок чутливості до ЕАЕ у щурів різних ліній з Ig-генами імунної відповіді. Так, титри анти-ОБМ IgG у щурів лінії Вістар були набагато вищі, ніж у щурів лінії Левіс [37]. Водночас наявність анти-ОБМ-антитіл у “безсимптомних” щурів лінії Левіс, які не виявляли характерних клінічних симптомів, свідчить про те, що власне гуморальної відповіді на ОБМ недостатньо для розвитку захворювання навіть у дуже чутливих до ЕАЕ ліній тварин [28].

Проте є повідомлення про синергічну дію ОБМ-специфічних Т-клітин і антитіл до глікопротеїнів мієліну, яка не тільки індукувала демієлінізовані ураження і хронічні клінічні симптоми, але і була відповідальна за критичне підвищення пошкодження гематоенцефалічного бар'єру (ГЕБ) і розвиток вазогенного набряку [34]. Genain і співавт. [26] наводять пряме свідчення (імуногістохімічні дослідження *in situ*) того, що аутоантитіла проти специфічного протеїну мієліну опосередковують пошкодження мембрани-мішені в ЦНС при демієлінізуювальних захворюваннях.

Слід відмітити, що мішенню, проти якої спрямована аутоімунна відповідь у разі множинного склерозу, може бути не тільки ОБМ, але й інші НСБ: галактоцереброзиди, протеоліпід мієліну, мієлін-олігодендроцитарний глікопротеїд, нейроспецифічна лейцинамінопептидаза, глікопротеїни мієліну; значну роль у патогенезі множинного склерозу відіграють також інші білки мозку: S-100, КГФБ, астропротейн, білок 14-3-2 (NSE) [12,16,36]. Нами зареєстровано тенденцію до підвищення рівня аутоантитіл до S-100 і NSE у тварин з ЕАЕ, особливо при тяжкому клінічному перебігу.

У наших дослідженнях, як вказано вище, внутрішньоочеревинне введення збагаченої нейронами фракції клітин мозку супроводжувалося зменшенням кількості тварин з

вираженими клінічними проявами хвороби порівняно з контрольною групою ЕАЕ, тоді як введення гліально збагачених фракцій - ускладнювало перебіг ЕАЕ. Достовірних змін динаміки рівнів аутоантитіл до НСБ під впливом гліальних клітин нами не зареєстровано, проте спостерігалася тенденція до зниження рівня аутоантитіл до ОБМ у групі щурів з ЕАЕ, яким вводили гліально збагачені фракції клітин алогенної нервової тканини. Таким чином, збільшення числа тварин, що одужали, під впливом нейрональної фракції нервової тканини супроводжувалося нормальним (незміненим) аутоантитілоутворенням до ОБМ та інших НСБ; зменшення частки тварин, що одужали, під впливом гліальної фракції НТ супроводжувалося зниженням рівня аутоантитіл до ОБМ.

Незважаючи на відсутність достовірних відмінностей у динаміці рівня аутоантитіл до ОБМ і патогенних імунних комплексів при спробах імунокорекції ЕАЕ, клінічно зареєстровано лікувальний ефект при ЕАЕ у щурів після внутрішньоочеревинного введення суспензії клітин, збагачених нейронами, що свідчить про можливість корекції аутоімунного демієлінізуювального процесу клітинами аллогенного головного мозку.

Виявлена нами динаміка рівня аутоантитіл до НСБ дозволяє припустити, що введення клітин головного мозку, незалежно від того, чи це суцільна суспензія, чи збагачена певною популяцією нервових клітин фракція, сприймається імунною системою реципієнта як додаткове антигенне навантаження, що в одних випадках призводить до стимуляції антитілоутворення, а в інших - до з'єднання потенційного антигенного матеріалу з уже утвореними аутоантитілами, що проявляється у реєстрації нижчих за контрольні титрів аутоантитіл до НСБ. Не виключено, що алогенні нейрони зв'язують циркулюючі у крові антигенспецифічні цитотоксичні лімфоцити та антитіла до НСБ, а це полегшує перебіг ЕАЕ. Можливе і інше пояснення. Відомо, що клітини незрілого мозку мають імуноподібні ознаки, котрі властиві більшою

мірою нейронам [10,11]. Внутрішньоочеревинне введення клітин алогенного головного мозку тваринам з ЕАЕ викликало корекцію демієлінізуючого процесу у разі використання нейронів і супроводжувалося у тестах *in vitro* системним (функціональна активність спленоцитів), “місцевим” ефектом (інфільтруючі мозок лейкоцити та макрофаги мозку). Механізм коригуючої дії при внутрішньоочеревинному введенні нейронів може бути пов’язаний з цитокинопосередкованою дією на імунну систему нейронів алогенного головного мозку.

Відомо, що цитокини та хемокини продукуються всередині ЦНС гліальними клітинами (мікроглія, астроцити) і нейронами [20,21,24,29]. Можливо, під дією факторів, що продукуються алогенними нейронами, відбувається переключення імунної відповіді з Th1-типу на Th2-тип, що проявляється у підвищенні антитілопродукції до ОБМ. Вважають, що Th1-клітини відіграють патогенну, а Th2-клітини – захисну роль [30,38]. Ця точка зору підтверджується фактами одужання або полегшеного перебігу ЕАЕ у випадку переключення імунної відповіді з Th1- на Th2-домінуючий тип відповіді на дуже ранніх (субклінічних) стадіях хвороби [31]. Вказане переключення Т-клітинної відповіді з Th1- на Th2-тип пояснює генетично зумовлену стійкість мишей до індукції ЕАЕ [33,35], а Th1/Th2-цитокіновий баланс відіграє головну роль у регуляції ЕАЕ [23,28]. Не виключено, що саме такими механізмами пояснюється коригуючий вплив внутрішньоочеревинного введення фракції клітин мозку, збагаченої нейронами, на перебіг ЕАЕ у щурів.

ВИСНОВКИ

1. Важкий клінічний перебіг ЕАЕ, порівняно з легким, супроводжувався достовірно вищими титрами аутоантитіл до ОБМ, які зберігалися на підвищеному рівні протягом 3 міс.

2. Збільшення числа тварин, що одужали від ЕАЕ, під впливом нейрональної фракції

нервової тканини супроводжувалося нормальним утворенням аутоантитіл до ОБМ та інших НСБ. Зменшення частки тварин, що одужали, під впливом гліальної фракції нервової тканини супроводжувалося зниженням рівня аутоантитіл до ОБМ.

3. Внутрішньоочеревинне введення нейрональної фракції клітин мозку чинило коригуючу дію на клінічні прояви ЕАЕ у щурів та гуморальну аутоімунну відповідь до нейроантігенів.

**N.I.Lisyany, L.D.Lyubich, O.V.Markova,
L.N.Belska**

HUMORAL AUTOIMMUNE RESPONSES AGAINST NEUROSPECIFIC PROTEINS IN RATS WITH EXPERIMENTAL ALLERGIC ENCEPHALOMYELITIS AND THEIR IMMUNOCORRECTION WITH ALLOGENIC NERVOUS TISSUE

Possible immunocorrective effect of the embryonic nervous tissue (NT) and using the model of an experimental allergic encephalomyelitis (EAE) in treating patients with demyelinating diseases is a prospective field of research. EAE was induced by immunization of rats with the mixture of their spinal cord and BCV at paw pillows. Immunocorrective effect of the allogenic NT was studied in the animals with EAE following the intraperitoneal injection of a newborn rat's NT, namely: enriched fractions of glial and neuronal cell populations. Both intact and EAE animals, treated with culture medium, were used as controls. The clinical signs appeared on 12-th day after EAE inducing. The severe clinical course of EAE was accompanied with statistically significant higher titers of the autoantibodies to MBP as compared with the mild clinical course. The results obtained evidence for the possible immunocorrective effect of enriched fractions of the newborn rat's nervous cells on EAE, and for immunosuppressive effect of the neuronal fraction of NT on the immunopathological processes in EAE.

*Acad. A.P.Romodanov Institute of Neurosurgery,
AMS of Ukraine, Kiev*

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Белозеров Е.С., Макарова Т.А. Преципитационный метод исследования иммунных комплексов у больных вирусным гепатитом В // Лаб.дело. - 1982. - № 12. - С.37-39.

2. Березин В.А., Белик Я.В. Специфические белки нервной ткани. – К.:Наук. думка, 1990. – 264 с.
3. Гервазиєва В.Б., Козлов В.Е., Сверановская В.В., Полетаев А.О. Изучение гуморального ответа на основной белок миелина при экспериментальном аллергическом энцефаломиелите // Иммунология. - 1991. - N 1. - С.24-26.
4. Гриневич А.С., Андреев И.В., Мартынов А.И. Структурно-функциональные особенности углеводов иммуноглобулинов в норме и при патологии // Там же. - 1994. - № 3. - С.10-15.
5. Гусев Е.И., Демина Т.Л., Бойко А.Н., Татаринова М.Ю. Клинико-иммунологический мониторинг состояния больных рассеянным склерозом // Журн.невропатологии и психиатрии. - 1992. - **92**, 3 2. - С.14-18.
6. Демина Т.Л., Гусев Е.И., Бойко А.Н., Пинегин Б.В. Цитокины в иммунопатогенезе рассеянного склероза // Там же. - 1997. - **97**, № 5. - С.69-73.
7. Жадин М.Н., Захарова Н.М., Андреев А.А. и др. Исследование влияния сыворотки крови больных рассеянным склерозом на электрическую активность переживающих срезов неокортекса морской свинки // Бюл.эксперим. биологии и медицины. - 2000. - **130**, № 7. - С.52-55.
8. Житнухин Ю.Л., Литвиненко И.В., Огурцов Р.П. Влияние никотинамида на развитие экспериментального аллергического энцефаломиелита // Там же. - 1998. - **125**, № 2. - С.180-182.
9. Завалишин И.А. Рассеянный склероз и боковой амиотрофический склероз. Развитие представлений об этиологии и патогенезе // Журн.неврологии и психиатрии им. С.С.Корсакова. - 1996. - **96**, № 1. - С.24-28.
10. Семенова В.М., Цымбалюк В.И., Стайно Л.П., Любич Л.Д., Верхоглядов Ю.П. Изучение противоопухолевых свойств различных популяций клеток головного мозга в культуре нервной ткани *in vitro*. - В кн.: Иммунная система головного мозга / Под ред. Н.И. Лисяного. - К., 1999. - С.136-146.
11. Лисяний Н.И., Маркова О.В., Олейник Г.М. и др. Изучение противоопухолевой активности клеток развивающегося мозга мышей линии СВА при совместной трансплантации с клетками карциномы легкого Льюиса под капсулу почки // Эксперим.онкология. - 1993. - № 6. - С.48-51.
12. Манукян К.Г., Степанян А.А., Левонян К.Л. и др. Протеолипиды миелина и их иммунология // Нейрохимия. - 1998. - **15**, вып.1. - С.36-44.
13. Неретин В.Я., Кирьяков В.А., Сапфинова В.А. Иммуносупрессивная терапия рассеянного склероза (Обзор) // Журн.невропатологии и психиатрии. - 1990. - **90**, № 2. - С.119-126.
14. Серов В.В., Зайратьянц О.В. Аутоиммунизация и аутоиммунные болезни // Арх. патологии. - 1992. - **54**, № 3. - С.5-11.
15. Стручков П.В., Константинова Н.А., Лаврентьев В.В., Чучалин А.Г. Скрининг-тест для оценки патогенных свойств иммунных комплексов // Лаб.дело. - 1985. - № 7. - С.410-412.
16. Тотолян Н.А., Грязева И.В., Климович В.Б., Скоромец А.А. Содержание свободных легких цепей иммуноглобулинов в ликворе и значение его определения для дифференциальной диагностики рассеянного склероза // Журн.невропатологии и психиатрии им. С.С.Корсакова. - 1996. - № 4. - С.75-77.
17. Чекнев С.Б. Патогенез рассеянного склероза: иммуностимуляция или иммунодефицит? // Иммунология. - 1994. - № 2. - С.9-16.
18. Черенько Т.М. Сенсбилизация к нейроспецифическим белкам у больных с закрытой черепно-мозговой травмой: Автореф. дис. ...канд. мед. наук. – К., 1989. – 26 с.
19. Benishou G., Tam R.G., Orr P.I. et al. Self determinant selection and acquisition of the autoimmune T-cell repertoire // Immunol.Res. - 1996. - **15**. - P.234-245.
20. Benveniste E.N. Cytokine actions in the central nervous system // Cytokine Growth Factor Rev. - 1998. - **9**, №-4. - P.259-75.
21. Campbell I.L. Structural and functional impact of the transgenic expression of cytokines in the CNS // Ann.N.Y.Acad.Sci. - 1998. - **840**. - P.83-96.
22. Day M.J., Tse A.J., Puklavec M. et al. Targeting autoantigen to B cells prevents the induction of a cell-mediated autoimmune disease in rats // J. Exp. Med. - 1992. - **175**. - P.655-659.
23. Di Rosa F., Francesconi A., Di Virgillio A. et al. Lack of Th2 cytokine increase during spontaneous remission of experimental allergic encephalomyelitis // Eur.J.Immunol. - 1998. - **28**(12). - P.3893-903.
24. Eng L.F., Ghirnikar R.S., Lee Y.L. Inflammation in EAE: role of chemokine/cytokine expression by resident and infiltrating cells // Neurochem. Res. - 1996. - **21**(4). - P.511-25.
25. Fackelman K.A. Myelin on the mend. Can antibodies reverse the ravages of multiple sclerosis // Sci.News. - 1990. - **137**, № 14. - P.218-219.
26. Genain C.P., Cannella B., Hauser S.L., Raine C.S. Identification of autoantibodies associated with myelin damage in multiple sclerosis // Nat.Med. - 1999. - **5**(2). - P.170-175.
27. Grogan J.L., Kramer a., Nogai A. et al. Cross-reactivity of myelin-basic protein-specific T-cells with multiple microbial peptides: experimental autoimmune encephalomyelitis induction in TCR transgenic mice // J.Immunol. - 1999. - **163**(7). - P.3764-70.
28. Jee Y., Matsumoto Y. Two-step activation of T cells, clonal expansion and subsequent Th1 cytokine production, is essential for the development of clinical autoimmune encephalomyelitis // Eur. J. Immunol. - 2001. - **31**(6). - P.1800-1812.

29. Juedes A.E., Hjelmstrom P., Bergman C.M. et al. Kinetics and cellular origin of cytokines in the central nervous system: insight into mechanisms of myelin oligodendrocyte glycoprotein-induced experimental autoimmune encephalomyelitis // J.Immunol. - 2000. - **164**(1). - P.419-26.
30. Kumar V., Sercarz E. Induction or protection from experimental autoimmune encephalomyelitis depends on the cytokine secretion profile of TCR peptide-specific regulatory CD4 T cells // Ibid. - 1998. - **161**(12). - P.6585-6591.
31. Lafaille J.J. The role of helper T cell subsets in autoimmune diseases // Cytokine Growth Factor Rev. - 1998. - **9**(2). - P.139-151.
32. Lyons J.A., San M., Happ M.P., Cross A.H. B-cells are critical to induction of experimental allergic encephalomyelitis by protein but not by a short encephalitogenic peptide // Eur.J.Immunol. - 1999. - **29**(11). - P.3432-9.
33. Maron R., Hancock W.W., Slavin A. et al. Genetic susceptibility or resistance to autoimmune encephalomyelitis in MHC congenic mice is associated with differential production of pro- and anti-inflammatory cytokines // Int.Immunol.-1999. - **11**(9). - P.1573-80.
34. Namer I.J., Steibel J., Piddlesden S.J. et al. Magnetic resonance imaging of antibody-mediated demyelinating experimental allergic encephalomyelitis // Neuroimmunology. - 1994. - **54**, №1-2. - P.41-50.
35. Okuda Y., Sakoda S., Fujimura H. et al. IL-6 plays a crucial role in the induction phase of myelin oligodendrocyte glycoprotein 35-55 induced experimental autoimmune encephalomyelitis // J. Neuroimmunol. - 1999. - **101**(2). - P.188-196.
36. Pender M.P., Tabi Z., Nguyen K.B., McCombe P.A. The proximal peripheral nervous system is a major site of demyelination in experimental autoimmune encephalomyelitis induced in the Lewis rat by a myelin basic protein-specific T-cell clone // Acta Neuropathol. - 1995. - **89**, № 6. - P.527-531.
37. Rivero V.E., Riera C.M., Roth G.A. Humoral response against myelin antigens in two strains of rats with different susceptibility to experimental allergic encephalomyelitis (EAE) // Autoimmunity. - 1999. - **29**(2). - P.129-37.
38. Singh V.K., Mehrotra S., Agarwal S.S. The paradigm of Th1 and Th2 cytokines: its relevance to autoimmunity and allergy // Immunol. Res. - 1999. - **20**(2). - P.147-61.
39. Shricant P., Benveniste E.N. The central nervous system as an immunocompetent organ. Role of glial cells in antigen presentation // J.Immunol.-1996.- **157**, № 5. - P.1819-1822.
40. Sudler R.H., Sommer M.A., Forno L.S. et al. Induction of anti-myelin antibodies in EAE and their possible role in demyelination // J. Neurosci. Res. - 1991. - **130**, № 4. - P.616-624.
41. Warren K.G., Catz I. An extensive search for autoantibodies to myelin basic protein in cerebrospinal fluid of non-multiple-sclerosis patients: implications for the pathogenesis of multiple sclerosis // Eur.Neurol. - 1999. - **42**(2). - P.95-104.

*Ін-т нейрохірургії ім. акад. А.П.Ромоданова
АМН України, Київ*

*Матеріал надійшов
до редакції 10.10.2001*