

**Модуляция поведения экспериментальных  
животных после трансплантации  
иммунокомпетентных клеток,  
обработанных аминазином.**

**Княжева М.А., Маркова Е.В.  
лаб. нейроиммунологии  
НИИ клинической иммунологии  
СО РАМН**

Новосибирск  
2011

**Цель:** исследование возможности получения нейролептического эффекта у экспериментальных

животных путем трансплантации иммунокомпетентных клеток, функциональная активность которых была экстракорпорально изменена обработкой препаратом фенотиазинового ряда - аминазином.

## Методы исследования.

*Животные:* мыши-самцы (СВАхС57В1)F1, средний вес животных составлял 20-25 грамм, возраст 3 месяца; с высоким уровнем двигательной активности в тесте «открытое поле».

*Двигательная активность животных* при выборе животных для эксперимента и после трансплантации ИКК оценивалась в тесте «открытое поле» (Буреш Я., с соавт., 1991).

*Обработка и трансплантация клеток.* Выделенные спленоциты обрабатывали *in vitro* аминазином из расчета  $15 \times 10^6$  клеток / 150 мкг препарата в течение 25 минут. Концентрация препарата, применяемая для обработки клеток, определялась путем перерасчета терапевтической дозы, с учетом веса и особенностей метаболизма животных. Затем, после 3-кратного отмывания, прекультивированные с аминазином спленоциты внутривенно вводили мышам-реципиентам в концентрации  $15 \times 10^6$  клеток в объеме 0,3 мл физиологического раствора на одно животное. В контрольной группе животных подготовка и трансплантация спленоцитов проводилась в аналогичных условиях эксперимента, за исключением того, что последние культивировались без присутствия аминазина.

*Исследование пролиферативной активности клеток* после обработки *in vitro* аминазином оценивали стандартным методом по включению в нуклеопротеидные фракции клеток радиоактивной метки ( $H^3$ -тимидин). Результаты представляли в виде среднего счета в имп/мин.

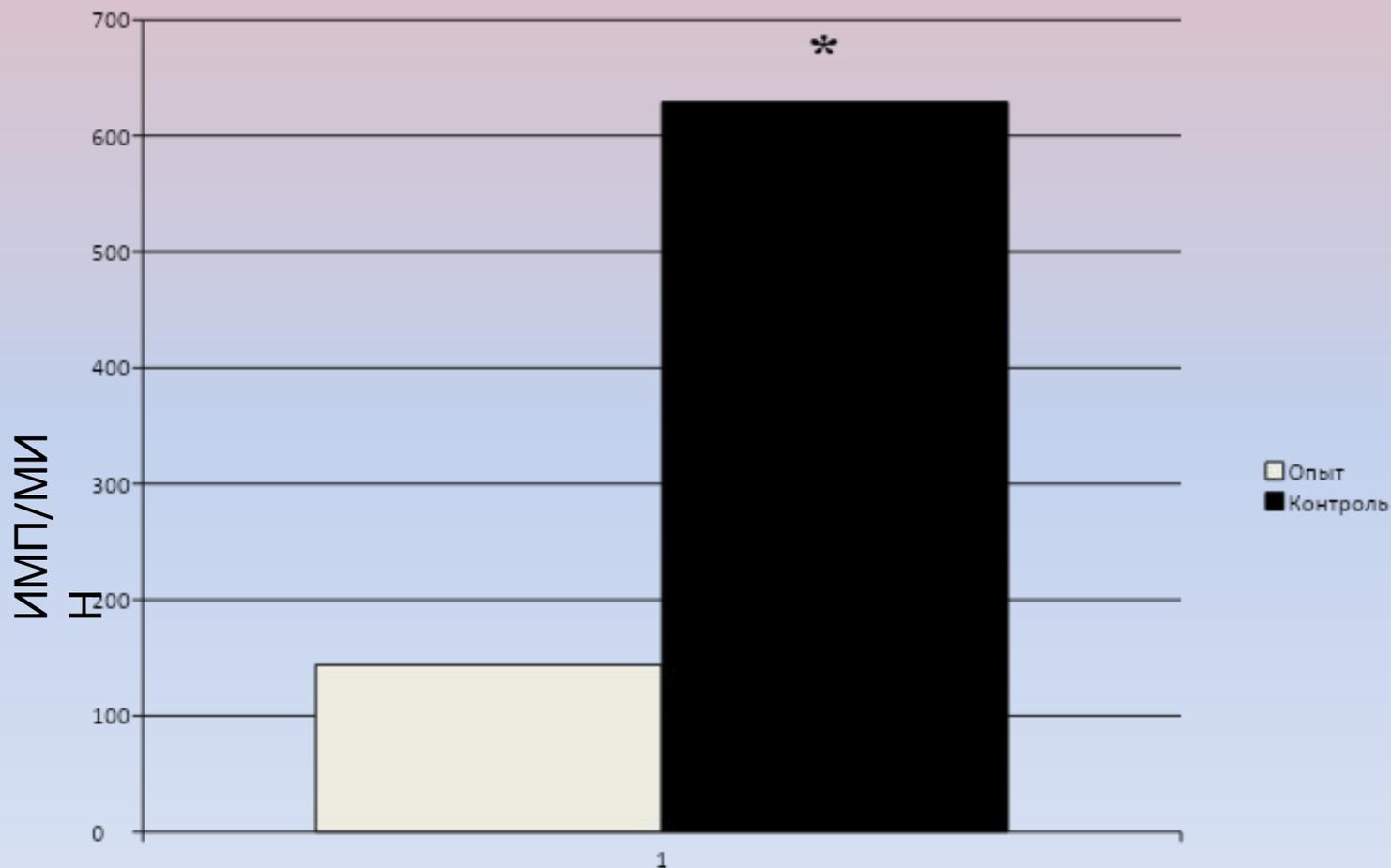
*Содержание цитокинов в лизатах головного мозга* мышей-реципиентов после трансплантации спленоцитов оценивали методом ИФА (ELISA) с использованием специфических компонентов к цитокинам мыши производства фирмы "R&D Systems" (Великобритания). Принцип анализа «sandwich» - вариант твердофазного трехстадийного иммуноферментного анализа на планшетах (моноклональные антитела на подложке, конъюгат поликлональных антител с биотином) по технологии, разработанной в ЗАО "Вектор-Бест" для определения цитокинов. Чувствительность наборов для ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-4 не превышает 5 пг/мл, для ИЛ-6 и ИНФ- $\gamma$  -2 пг/мл, для ФНО $\alpha$  -1 пг/мл.

*Определение количества антителообразующих клеток в селезенке мышей.* Способность мышей к иммунному ответу на эритроциты барана (ЭБ) оценивали на 5-е сутки после внутрибрюшинной иммунизации ЭБ по количеству локальных зон гемолиза в полужидкой среде модифицированным методом A.J. Cunningham (Cunningham A.J. 1965).

*Определение высоты реакции гиперчувствительности замедленного типа.* Мышей иммунизировали внутрибрюшинным введением эритроцитов барана (0,5% - 0,5 мл.). Разрешающую дозу указанного антигена (50% - 0,05 мл.) вводили под апоневроз задней стопы через 96 часов. Формирование реакции ГЗТ оценивали через 24 часа после разрешающей инъекции по степени опухания лапы (изменения её толщины по сравнению с позитивно-контрольной задней лапой того же животного, в которую была введена среда RPMI - 1640). Индекс реакции (ИР) определяли для каждой мыши по формуле  $ИР = (P_0 - P_k) / P_k$  и выражали в процентах (Yoshikai Y., et al, 1979).

*Статистическая обработка результатов.* Статистическую обработку результатов исследований проводили с использованием t-критерия Стьюдента (при нормальном распределении изучаемого признака) и парного критерия Манна-Уитни в случае отклонения от нормального распределения (компьютерная программа "Statistica 6.0"); различия между группами считались достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ .

# Спонтанная пролиферативная активность спленоцитов, обработанных *in vitro* аминазином



Примечание: \* -  $p < 0,01$  между контрольной и опытной группами животных

# Двигательная активность мышей – реципиентов в тесте «открытое поле» вследствие трансплантации спленоцитов, обработанных *in vitro* аминазином (M ± SD)

Группы животных - реципиентов	Горизонтальная двигательная активность			Вертикальная двигательная активность		
	Периферическая	центральная	суммарная	свободная	с опорой на стенку	суммарная
контроль (n = 47)	144,0±13,9	8,0±4,0	152,0±17,9	0,8±0,2	2,2±1,1	2,9±1,3
опыт (n = 38)	70,7±9,9*	0,4±0,1*	71,1±10,1*	0,2±0,5*	0,7±0,1*	1,0±0,6*

Примечание: \* -  $p < 0,01$  между контрольной и опытной группами животных

**Содержание цитокинов в головном мозге мышей (СВА х С57В1/6)F1 после трансплантации иммунокомпетентных клеток, обработанных *in vitro* аминазином**

# Гуморальный и клеточный иммунный ответ у мышей (CBA x C57Bl/6)F1, после трансплантации клеток, обработанных *in vitro* аминазином ( $M \pm SD$ ).

Исследуемый параметр	Группы животных (n = 10 в каждой группе)	
	опыт	контроль
Число АОК/ $10^6$ ядродержащих клеток селезенки	188,2 $\pm$ 111,5	463,6 $\pm$ 190,6**
Число АОК на селезенку	58643,7 $\pm$ 9275,5	112764,5 $\pm$ 24138**
Реакция ГЗТ (ИР %)	28,8 $\pm$ 12,6	51,9 $\pm$ 23,4*

Примечание\* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$  между соответствующими показателями в контрольной и опытной группах животных

## Заключение

1. Обработка *in vitro* спленоцитов амиразином изменяет их функциональную активность, что выражается в снижении пролиферативной активности клеток.
2. Трансплантация клеток селезенки, экстракорпорально обработанных амиразином, сопровождается у реципиентов снижением двигательной активности на фоне повышения содержания в головном мозге цитокинов ФНО $\alpha$ , Ил-1, Ил-6.
3. Трансплантация спленоцитов, обработанных экстракорпорально амиразином, вызывает у реципиентов снижение интенсивности гуморального и клеточного иммунного ответа.

*Благодарю за внимание!*