

изменения в желудке вызывали сочетанным иммобилизационно-резерпиновым воздействием в течение трех суток. Лечение проводили на протяжении 14 дней интрагастральным введением препаратов с антацидным, сорбционным и противовоспалительным эффектами в различных комбинациях.

Результаты. Доказано, что комплексное введение антацида, смектита и корня солодки голой приводит к увеличению защитного слоя слизи, уменьшению местного воспаления, восстанавливает энергетический гомеостаз в ткани желудка, активирует процессы репарации.

Ключевые слова: крысы, деструктивные повреждения, хронический гастродуоденит, энергетический обмен, репарация, цитопroteкция, лечение.

I.P.Horyacheva

Organ Protection Treatment of the Experimental Destructive Lesions of Upper Digestive Tract

Shupyk National Medical Academy of postgraduates education

Introduction. The study focuses on the role of organ protection drugs in the treatment of chronic gastroduodenitis.

Purpose. The experimental study of organ protection drugs in the treatment of degenerative lesions of the upper digestive tract.

Methods. 51 rat males underwent biochemical, morphological and histological examination. The decreased protection properties of gastric mucosa, the deranged tissue energizing against the background of the simulated impaired gastric mucosa are proved. The inflammatory and destructive changes in the stomach we evoked by the combined immobilization - reserpine during three days. The antacid, sorption and anti-inflammation drugs were administered intragastrically in the various combinations during 14 days.

Results. The complex administration of antacid, smectite and licorice root is proved to grow the protective layer of mucosa, reduce the local inflammation, restore the energy homeostasis in gastric tissue and activate the repairing processes.

Key words: rats, destructive damages, chronic gastroduodenitis, energy metabolism, reparation, cytoprotection, treatment.

Відомості про автора:

Горячева Ірина Павлівна - к.мед.н., доцент кафедри дитячих і підліткових захворювань НМАПО імені П.Л.Шупика. Адреса: Київ, вул. Копиловського, 1/7.

УДК 616.8-089

© КОЛЕКТИВ АВТОРІВ, 2014

В.А.Руденко, Л.М.Бєльська, С.А.Вербовська, О.Л.Пічкур

НЕЙРОАУТОІМУННІ РЕАКЦІЇ У ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ АЛЕРГІЧНИМ ЕНЦЕФАЛОМІЄЛИТОМ ПІСЛЯ ЛІКУВАННЯ КСЕНОГЕННИМИ МСК ТА ІЛ-10

ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П.Ромоданова НАМН України»

Вступ. Пошук лікувальних засобів, застосування яких викликає пригнічення або усунення антигенспецифічних анти-ОБМ-реакцій в імунній системі при нейрозапальних, нейродегенеративних захворюваннях зберігає свою актуальність. Відомо, що клітинна терапія є потужним фактором впливу на патогенез багатьох експериментальних патологічних процесів. Механізми таких впливів поки що лишаються малодослідженими.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Мета. Дослідити розвиток нейроаутоімунних реакцій у щурів з індукованим ЕАЕ при лікуванні ксеногенними мезенхімальними стовбуровими клітинами (МСК), IL-10 та їх комбінацією.

Матеріали і методи. Дослідження проведено на білих щурах в наступних групах тварин: з ЕАЕ, після трансплантації ксеногенних МСК, IL-10, сумісного введення МСК та IL-10 у порівнянні з інтактними тваринами. Вивчали нейроаутоімунні реакції клітинного та гуморального типу.

Результати. Виявлено, що розвиток і клітинних, і гуморальних нейроаутоімунних реакцій у щурів з індукованим ЕАЕ та після проведеного лікування МСК, IL-10 та їх комбінацією залежить від терміну їх оцінки та виду лікувальних засобів. Більш вираженими і такими що тривало зберігають високий рівень є гуморальні реакції до ОБМ при ЕАЕ. Лікування МСК чи IL-10 знижує до контрольних значень тільки клітинні нейроаутоімунні реакції у віддалений період після індукції ЕАЕ (63 добу). Комбіноване лікування МСК та IL-10 викликає стійке і тривале збереження високого рівня клітинних і гуморальних нейроаутоімунних реакцій.

Ключові слова: клітинні нейроаутоімунні реакції, антитіла до ОБМ, ЕАЕ, мезенхімальні стовбурові клітини, IL-10.

ВСТУП

ЕАЕ є експериментальною хворобою, патогенез якої обумовлений алергічним запаленням. При ЕАЕ важливими є дослідження лікувальних засобів, застосування яких супроводжуються пригніченням, або усуванням антигенспецифічних анти-ОБМ-реакцій в імунній системі. Відомо, що клітинна терапія є потужним фактором впливу на патогенез багатьох експериментальних патологічних процесів. Механізми таких впливів поки що лишаються мало-дослідженими. Враховуючи, що МСК здійснюють імуносупресивну дію, ряд авторів схильні рекомендувати їх при різних аутоімунних захворюваннях (2).

Мета дослідження: дослідити розвиток нейроаутоімунних реакцій у щурів з ЕАЕ при лікуванні ксеногенними мезенхімальними стовбуровими клітинами, IL-10, та їх комбінацією.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Дослідження проведено на 36 білих щурах з індукованим ЕАЕ. Нейроаутоімунні реакції оцінювали в реакції бласттрансформації лімфоцитів на мозковий антиген щурів (100 мкг/мл) та за рівнем нейроаутоантитіл до основного білку мієліна, які визначали за допомогою твердофазного імуноферментного аналізу (1). Співставляли дані у групах експериментальних тварин після трансплантації ксеногенних МСК (1x10⁶ клітин на тварину), IL-10 (0,1 мкг/тварина) в об'ємі 0,1 мл, порівнюючи з інтактними тваринами та зі щурами з індукованим ЕАЕ (табл.1). МСК отримували із пуповини людини в ДУ «Інститут генетичної та регенеративної медицини НАМН України» (3). IL-10 людини отримано в ДУ «Інститут молекулярної біології і генетики НАН України». Вірогідність відмінностей визначали за критерієм Ст'юдента.

Отримані дані показали, що клітинна нейросенсибілізація, за середніми показниками, у щурів з ЕАЕ на 35 добу від початку індукції нижча за контрольні значення та знову зростає, перевищуючі їх на 63 добу дослідження. (табл. 2). У другій групі тварин на 35 добу відмічається зростання клітинної нейросенсибілізації з послідовним зниженням до значень близьких до контрольних на 63 добу дослідження. Така ж динаміка показників клітинної нейросенсибілізації спостерігається у щурів третьої групи. В той же час у тварин четвертої групи визначається зростання клітинної нейросенсибілізації як на 35 так і на 63 добу

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

дослідження, порівняно як з інтактними тваринами, так і з тваринами з ЕАЕ (першої групи).

Таблиця 1

Розподіл тварин в експерименті

Група	Лікування
1	Група порівняння, ЕАЕ без лікування
2	Лікування ЕАЕ МСК субокципітально на 17 добу
3	Лікування ЕАЕ IL-10 внутрішньовенно на 10 добу, IL-10 субокципітально на 17 добу
4	Лікування ЕАЕ IL-10 внутрішньовенно на 10 добу, IL-10 та МСК субокципітально на 17 добу
5	Інтактні щури

Таким чином введення МСК чи IL-10 змінює розвиток клітинних нейро-аутоімунних реакцій у щурів з ЕАЕ, зумовлюючи їх зростання на 35 добу експерименту та послідовне пригнічення до контрольних значень на 63 добу. Комбіноване лікування щурів з ЕАЕ МСК та IL-10 зумовлює поступове зростання клітинної нейросенсибілізації, яке на 63 добу сягає значень більше ніж у двічі перевищуючих контрольні значення та аналогічні у групі з індукованим ЕАЕ.

Таблиця 2

Проліферативна відповідь лімфоцитів щурів на МА після індукції ЕАЕ та різних схем лікування (M+m)

Групи тварин	Проліферативна відповідь лімфоцитів щурів на МА (%)	Проліферативна відповідь лімфоцитів щурів на МА (%)
	35 доба	63 доба
Група №1 (n=4)	9,7±4,1	17,2±4,5
Група №2 (n=4)	18,2±2,4	14,5±3,9
Група №3 (n=4)	18,2±3,4	12,5±3,9
Група №4 (n=4)	18,1±3,1	29,5±3,1*,**
Інтактні тварини, n=5	14,6±5,1	14,6±5,1

*Примітка: * вірогідність відмінностей, по відношенню до групи інтактних тварин $p < 0.01$; ** вірогідність відмінностей між різними клінічними групами тварин $p < 0.01$.*

Показники гуморального імунітету, а саме рівень антитіл до ОБМ (табл. 3) за середніми показниками у всіх досліджуваних групах тварин перевищують контрольні показники. У першій групі щурів відмічається зниження рівня антитіл до ОБМ на 63 добу дослідження. У третій групі на 35 добу дослідження рівень антитіл до ОБМ сягає достовірно високих значень, які

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

на 63 добу значно знижуються. У третій групі експериментальних тварин зміна рівня антитіл до ОБМ в сироватці крові подібна до щурів першої групи. У четвертій групі щурів комбіноване лікування IL-10 та МСК супроводжується стійким збереженням високого рівня антитіл до ОБМ.

Таким чином тільки введення МСК супроводжується більш вираженим пригніченням антитілоутворення до основного білку мієліна на 63 добу після індукції ЕАЕ. Комбіноване лікування МСК та IL-10 викликає стійке збереження високого рівня антитіл до ОБМ впродовж 63 діб експерименту.

Таблиця 3

Рівень антитіл до ОБМ після індукції ЕАЕ та різних схем лікування (M+m)

Групи тварин	Рівень антитіл до ОБМ ум.од.	Рівень антитіл до ОБМ ум.од.
	35 доба	63 доба
Група №1 (n=4)	11,77+ 0,74*	9,63 +2,74
Група №2 (n=4)	12,43+ 0,47*	7,16 +2,62
Група №3 (n=4)	10,71+ 3,82	9,54+ 1,08
Група №4 (n=4)	12,76 +1,09	12,25 +2,08*
Інтактні тварини, n=5	5,18 +2,53	5,18 +2,53

Примітка: * вірогідність відмінностей, по відношенню до групи інтактних тварин $p<0.01$; ** вірогідність відмінностей між різними клінічними групами тварин $p<0.01$.

Порівнюючи розвиток і клітинних і гуморальних нейроаутоімунних реакцій у щурів з індукованим ЕАЕ можна відмітити, що більш вираженими і тривало зберігаючими високі значення є гуморальні реакції до ОБМ при ЕАЕ. Лікування МСК чи IL-10 знижує до контрольних значень тільки клітинні нейроаутоімунні реакції у віддалений період (63 добу) після індукції ЕАЕ. Комбіноване лікування МСК та IL-10 викликає стійке і тривале збереження високих показників клітинних і гуморальних нейроаутоімунних реакцій.

Підсумовуючи можна зазначити, що МСК впливають на деякі патогенетичні ланки розвитку і спонтанної регресії ЕАЕ, пригнічуючи синтез прозапальних цитокінів і розвиток нейроаутоімунних реакцій клітинного типу, що дозволяє розглядати МСК в якості патогенетичної терапії при лікуванні РС. Так в роботах Auletta J. et al. (5) показано, що МСК пригнічують активність мієлін-антиген специфічних Т лімфоцитів. Проте розвиток реакцій, які супроводжуються зростанням антитілоутворення до білків мієліну, за отриманими даними, потребують певного дослідження.

Без сумніву, отримані дані відображають результат генералізованої системної імунної відповіді, яка індукована патологічними змінами в нервовій системі. Тут необхідно приймати до уваги, що нейроаутоантитіла є регуляторами мітотичної активності клітин, тканинного диференціювання, морфогенезу. З іншого боку неадекватна за інтенсивністю чи за тривалістю продукція нейроаутоантитіл може бути патологічним фактором(4). Тому визначення рівня нейроаутоімунних реакцій є важливим показником, який може вказувати на переважання нейродегенеративних, або навпаки нейропластичних процесів.

ВИСНОВКИ

1. Перебіг ЕАЕ у щурів супроводжується змінами розвитку клітинних і гуморальних нейроаутоімунних реакцій.

2. Субокципітальне введення ксеногенних МСК сприяє зростанню клітинної нейросенсибілізації та рівня антитіл до ОБМ до 35 доби дослідження з подальшим їх пригніченням.

3. Субокципітальне введення IL-10 супроводжується достовірним підвищенням клітинної нейросенсибілізації та рівня антитіл до ОБМ на 35 добу після індукції ЕАЕ та збереженням на 60-у добу високих показників рівня антитіл до ОБМ.

4. Спільне введення МСК і IL10 достовірно збільшує рівень нейроаутоімунних реакцій.

Література

1. Дослідження гуморальних аутоімунних реакцій до нейроспецифічних білків у разі експериментального алергічного енцефаломієліту на етапах патогенезу та імункорекції алогенною нервовою тканиною / М.І. Лісяний, Л.Д. Любич, О.В. Маркова, Л.М. Бельська // Фізіол. журн. – 2002. – Т. 48, №1. – С. 15-24.

2. Лісяний Н.І. Иммуносупрессивные и антигенные свойства мезенхимальных стволовых клеток / Н.І.Лісяний // Імунологія та алергологія: Наука і практика. – 2012. – №4. – С.4 – 11.

3. Пат. 74171, Україна, МПК C12N 5/00. Спосіб отримання мезенхімальних стовбурових клітин з матриксу пуповини людини / О.О. Маслово, Н.С. Шувалова, О.М. Сухорада, О.Г. Дерябіна, В.А. Кордюм (UA); заявник та патентовласник ДУ «Інститут генетичної та регенеративної медицини НАМН України» (UA). – № u201201939; заявл. 21.02.2012; опубл. 25.10.2012. Бюл. № 13.

4. Естественные нейротропные аутоантитела и патология нервной системы / А.Б. Полетаев, В.В. Алферова, А.А. Абросимова та [та ін.] // Нейроиммунология. – 2003. – Т.1, №1. – С.11 – 17.

5. The potential of mesenchymal stromal cells as a novel cellular therapy of multiple sclerosis / J.J.Auletta, A.Barthlomew, R.Mariarz [et al.] // Immunotherapy. – 2012. – V.4, N.5. – P.529 – 547.

В.А.Руденко, Л.М.Бельская, С.А.Вербовская, А.Л.Пичкур

Нейроаутоиммунные реакции у крыс с экспериментальным аллергическим энцефаломиелитом после лечения ксеногенными МСК и IL-10

ГУ «Институт нейрохирургии им. акад. А.П.Ромоданова
НАМН Украины»

Введение. Поиск лечебных средств, которые вызывают угнетение или устранение антигенспецифических анти-ОБМ-реакций в иммунной системе при нейровоспалительных, нейродегенеративных заболеваниях сохраняет свою актуальность. Известно, что клеточная терапия является мощным фактором влияния на патогенез многих экспериментальных патологических процессов. Механизмы таких влияний пока еще остаются малоизученными.

Цель. Изучить развитие нейроаутоиммунных реакций у крыс с индуцированным ЭАЭ после лечения ксеногенными мезенхимальными стволовыми клетками (МСК), IL-10, и их комбинацией.

Зб. наук. спраць співробіт. НМАПО
імені П.Л.Шупика 23 (3)/2014

Матеріали і методи. Исследование проведено на белых крысах в следующих группах животных: с ЭАЭ, после трансплантации ксеногенных МСК, IL-10, совместного введения МСК и IL-10, в сравнении с интактными животными. Изучали нейроаутоиммунные реакции клеточного и гуморального типа.

Результаты. Выявлено, что развитие и клеточных и гуморальных нейроаутоиммунных реакций у крыс с индуцированным ЭАЭ и после проведенного лечения МСК, IL-10 и их комбинацией зависит от срока их оценки и вида лечебных средств. Более выраженными и длительно сохраняющими высокий уровень являются гуморальные реакции к ОБМ при ЭАЭ. Лечение МСК или IL-10 снижает к контрольным значениям только клеточные нейроаутоиммунные реакции в отдаленном периоде после индукции ЭАЭ (63 сутки). Комбинированное лечение МСК и IL-10 вызывает стойкое и длительное сохранение высокого уровня клеточных и гуморальных нейроаутоиммунных реакций.

Ключевые слова: клеточные нейроаутоиммунные реакции, антитела к ОБМ, ЭАЭ, мезенхимальные стволовые клетки, IL-10.

V.A.Rudenko, L.N.Bel'skaya, S.A.Verbovskaya, O.L.Pichkur

Neuroautoimmune reactions in rats with experimental allergic encephalomyelitis after treatment xenogeneic MSCs and IL 10

The IS «Named of akad. A.P.Romodanov Institute of neurosurgery of the NAMN of Ukraine»

Introduction. Search therapeutic agents that cause depression or elimination of antigen-specific anti-MBP-reactions in the immune system in neuroinflammatory, neurodegenerative diseases remains valid. It is known that cell therapy is a powerful factor influencing the pathogenesis of many experimental pathological processes. Mechanisms such influences still remain poorly studied.

Aim. To study the development neuroautoimmune reactions in rats with induced EAE after treatment xenogeneic mesenchymal stem cells (MSCs), IL-10, and a combination thereof.

Materials and Methods. The study was conducted on white rats in the following groups of animals with EAE after transplantation of xenogeneic MSCs, IL-10, co-administration of MSCs and IL-10, in comparison with intact animals. Neuroautoimmune studied reactions of cellular and humoral type.

Results. It was found that the development and cellular and humoral neuroautoimmune reactions in rats with induced EAE and after treatment MSCs, IL-10 and their combination depends on the length and type of evaluation of therapeutic agents. More pronounced and long-lasting high level there are humoral reactions to MBP in EAE. MSC or IL-10 treatment reduces to the control values only cell neuroautoimmune reaction in the long term after the induction of EAE (63 days). Combined treatment with MSC and IL-10 causes a persistent and long-term preservation high level of cellular and humoral neuroautoimmune reactions.

Key words: neuroautoimmune cell reactions, antibodies to MBP EAE, mesenchymal stem cells, IL-10.

Відомості про авторів:

Руденко Валентина Андріївна – канд. біол. н., ст.н.с., вчений секретар ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П.Ромоданова НАМН України». Адреса: Київ, вул. П.Майбороди, 32.

Бельська Людмила Миколаївна – к.біол.н. ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П.Ромоданова НАМН України».

Пічкур Олександр Леонідович – лікар-інтерн. ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П.Ромоданова НАМН України».