

**ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ АНТИГЕННИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ
КРІОКСЕНОДЕРМИ**

Проведено експериментальне вивчення антигенних властивостей кріоксендерми за допомогою люмінесцентної мікроскопії. Встановлено, що досліджувана субстанція чинить виражений альтеративний вплив на ізольовані лейкоцити донора. Результати дослідження дозволяють припустити, що механізм позитивного впливу пероральної толеративної терапії кріоксендермою базується на феномені тригерної активації цитопатичних реакцій імунних клітин, можливо, лімфоцитів і лейкоцитів, у криптах кишечника.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: кріоксендерма, лейкоцити, люмінесцентна мікроскопія, антигенні властивості.

ВСТУП. На сьогодні є достатньо підстав стверджувати, що впровадження в медичну практику сучасних способів корекції імунної резистентності організму на принципово нових методичних засадах пероральної толеративної терапії (oral tolerance therapy) з використанням органопрепаратів на основі структурних білків тваринного походження є перспективним напрямком патогенетичної терапії при імунозалежній патології [1, 5–7, 9].

Разом із тим, беручи до уваги загальний висновок про імуноотропний характер дії перорально введених в організм чинників біоорганічної природи, наприклад внаслідок їх імуномодельючого впливу, залишається в цілому нез'ясованим механізм розвитку вказаного ефекту. Вимагає подальшого вивчення питання, чи встановлені при вказаному прийомі ефекти і феномени імунотолерантності [1, 8, 9] є результатом імунного стимулу клітин імунної системи, чи вони формуються внаслідок ентеральної гіпосенсибілізації імунокомпетентних клітин, зокрема лімфоцитів, які зазвичай виконують функцію пристінкового травлення. Відповідь на поставлене питання має принципове значення, оскільки може стати визначальною щодо напрямку формування лікувальної технології на основі принципу толеративної терапії та розвитку відповідного фармацевтичного забезпечення.

© Ю. С. П'ятницький, О. М. Олещук, Ю. І. Бондаренко, 2014.

Виходячи з розуміння того, що важливим чинником лікувальної ефективності кріоксендерми є її антигенні властивості, які забезпечують здатність її білкових макромолекул вступати в реакції взаємодії із сенсибілізованими імунними клітинами (макрофагами, нейтрофільними лейкоцитами, лімфоцитами), реакції, що на рівні тканин, органів і цілісного організму реалізуються процесами гіпосенсибілізації, вочевидь, вимагають дослідження цього аспекту властивостей подрібненої ксеноскіри. Це тим більш доцільно, що саме контрольовані реакції антиген-антитіло, як відомо, є патогенетичним обґрунтуванням позитивного впливу та феномена толеративної терапії [1, 4]. Принципово важливою парадигмою при цьому слід вважати те, що реакція взаємодії кріоксендерми як параспецифічного антигену (АГ) з ізольованими лейкоцитами на предметному склі достатньо коректно та ілюстративно відображає фундаментальні фізичні, фізико-хімічні й біофізичні процеси, на дослідження яких, власне, й спрямовано дану роботу.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Для проведення досліджень використовували кріоксендерму (подрібнений субстрат кріоліофілізованої шкіри свині), виготовлену за захищеною патентом технологією [2].

Взаємодію мікрочастинок кріоксендерми з ізольованими лейкоцитами досліджували за допомогою люмінесцентного мікроскопа

ЛЮМАМ 8-3М за методикою, наведеною в захищеному нами патенті “Спосіб моделювання реакції лейкоцитів на хімічний подразник” [3]. Проводили реакцію гетероімунного лейкоцитолізу, відтворену на предметному склі в рідкому середовищі при інкубації водного екстракту АГ із кріоксенодерми. Для цього впродовж 30 хв 20 мг подрібненого субстрату інкубували в 1 мл ізотонічного розчину натрію хлориду в мікропробірці при 37 °С, після чого на предметному склі змішували 20 мкл нативної крові донора – здорової дорослої людини з аналогічним об’ємом розчину АГ кріоксенодерми, інкубат витримували при кімнатній температурі ще 30 хв, потім змішували з 20 мкл розчину флуорохрому АО в розведенні 1:5000. Далі мікропрепарат накривали скельцем і спостерігали в полі зору люмінесцентного мікроскопа у відбитому світлі.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Взаємодію мікрочастинок кріоксенодерми з ізольованими

лейкоцитами досліджували в полі зору люмінесцентного мікроскопа (рис. 1, 2). Особливістю методики цього фрагмента досліджень є те, що взаємодію інгредієнтів імуногематологічної реакції здійснювали на предметному склі у збідненому на воду середовищі. За цих умов більш рельєфно проявлялися фізичні сили взаємодії між інгредієнтами, зокрема індуковані дією електричних зарядів мікрочастинок шкіри та ізольованих клітин. Так, на рисунках 1 та 2 відображено реакцію хемотаксису лейкоцитів, яка супроводжується формуванням на поверхні скла своєрідних флуоресцентних слідів, індукованих дією на клітини відомих фізичних, перш за все, сил електромагнітної взаємодії. Власне, за останніми залишається пріоритет, оскільки клітини форсують шлях до АГ навіть за умови втрати своєї цілісності: виявлені флуоресцентні траси (траєкторії) у вигляді ДНК-тяжів – тому доказ.

Наведена на рисунку 2 завершальна фаза взаємодії інгредієнтів реакції (шкірного АГ із

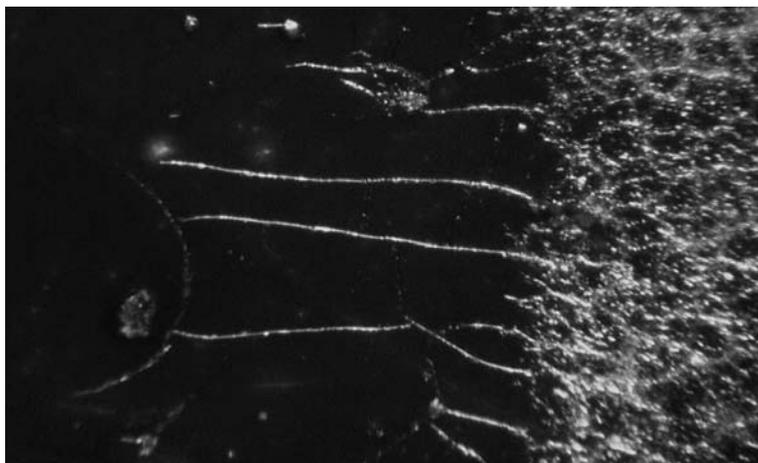


Рис. 1. Фаза міграції ізольованих лейкоцитів до шкірного АГ у вигляді мікрочастинок субстрату кріоксенодерми як прояв реакції імунного хемотаксису. ЛЮМАМ 8-3М: об. х8; ок. х7.

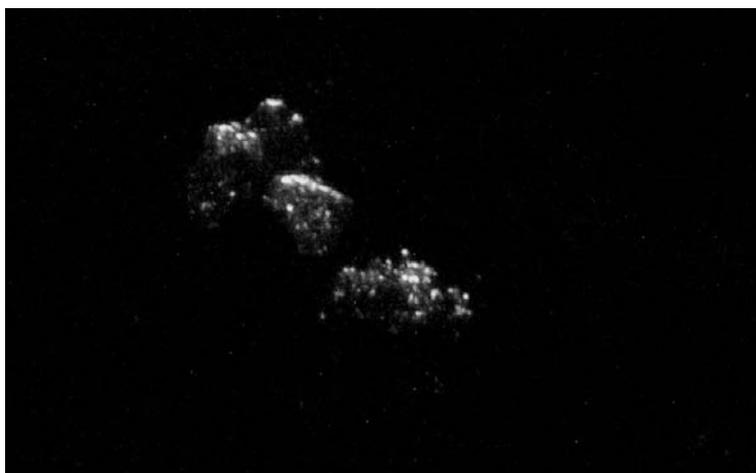


Рис. 2. Завершення реакції хемотаксису: кон’юговані на мікрочастинках кріоксенодерми лейкоцити. ЛЮМАМ 8-3М: об. х8; ок. х7.

кріоксендерми – з одного боку і лейкоцитів – з іншого) не тільки відображає результат реакції взаємодії між АГ ксеноскіри і лейкоцитами у вигляді кон'югацій клітин довкола частинок ліофілізату ксендерми, але й достатньо ілюстративно окреслює імовірну картину взаємодії вказаних інгредієнтів за умов пристінково-мембранного травлення, в тому числі у форматі технології пероральної толеративної терапії.

Про виражені антигенні властивості кріоксендерми свідчать також результати дослідження реакції гетероімунного лейкоцитолізу, відтвореної на предметному склі в рідкому середовищі при інкубації водного екстракту АГ із кріоксендерми.

У результаті дослідження встановлено виражений альтеративний вплив на ізольовані лейкоцити донора з боку АГ субстанцій кріоксендерми: клітини інтенсивно набрякають, руйнуються за відомим механізмом імунного цитолізу. Зміни спектрального складу вторинної люмінесценції ядрових нуклеїнових кислот у вигляді зниження інтенсивності світіння клітинних структур, тих же ядрових РНК і ДНК, достатньо ілюстративно відображають порушення біоенергетичного гомеостазу клітин. Попри, власне, важливе значення наведеної особливості антигенного стимулу з боку кріоксендерми на клітини імунної системи,

зокрема лейкоцити периферійної крові донорів, що відображає цілу низку притаманних кріоксендермі й клітинам імунної системи поверхневих явищ, головним результатом наведеного фрагмента дослідження є виражена лейкоцитотропність кріоксендерми. При екстраполяції вказаного ефекту на процеси взаємодії зосереджених у криптах кишечника імунних клітин, зокрема лімфоцитів і лейкоцитів, з антигенними компонентами кріоксендерми є достатньо підстав розглядати вказаний феномен як тригерний механізм цитопатичних реакцій у системі реалізації саногенетичних механізмів пероральної толеративної терапії.

ВИСНОВКИ. 1. Експериментальне вивчення антигенних властивостей кріоксендерми з використанням люмінесцентної мікроскопії свідчить про те, що досліджувана субстанція кріоліофілізованої шкіри свині чинить виражений альтеративний вплив на ізольовані лейкоцити донора.

2. Отримані результати можуть слугувати підґрунтям для пояснення механізму позитивного впливу пероральної толеративної терапії кріоксендермою з огляду на те, що остання може бути тригером активації цитопатичних реакцій імунних клітин, зокрема лімфоцитів і лейкоцитів, у криптах кишечника.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Пат. 27174 У, Україна. Спосіб експериментальної терапії виразки шлунка / Гоцинський В. Б., Бойко Т. Я. – № у 200704657 ; заявл. 26.04.07, Бюл. № 17.

2. Пат. 36019 У, Україна. Спосіб виготовлення субстрату тканинного антигену / Дем'яненко В. В., П'ятницький Ю. С., Гуда Н. В., Лучанко П. І., Лоза Л. С. – № 2008 06245 від 12.05.2008 р.

3. Пат. 36339 У, Україна. Спосіб моделювання реакції лейкоцитів на хімічний подразник / Дем'яненко В. В., П'ятницький Ю. С., Бігуняк Т. В., Лоза Л. С., Саушев А. С. – № у 2008 05507 від 29.04.2008 р.

4. Пат. 79561 У, Україна. Спосіб оцінки біотропних властивостей пружного полімерного матеріалу / Дем'яненко В. В., Бігуняк В. В., Волков К. С. – № а 2005 11274 ; заявл. 28.11.05 ; опубл. 25.06.07, Бюл. № 9.

5. Anti-CD4 Monoclonal Antibody-Induced Tolerance to MHC-Incompatible Cardiac Allografts Main-

tained by CD4+ Suppressor T Cells That Are Not Dependent upon IL-4 / B. M. Hall, L. Fava, J. Chen [et al.] // J. Immunol. – 1998. – **161**. – P. 5147–5156.

6. EAE Tolerance Induction with Hsp70-Peptide Complexes Depends on H60 and NKG2D Activity / G. Galazka, A. Jurewicz, W. Orłowski [et al.] // J. Immunol. – 2007. – **179**. – P. 4503–4512.

7. Involvement of TNF-Like Weak Inducer of Apoptosis in the Pathogenesis of Collagen-Induced Arthritis / K. Kamata, S. Kamijo, A. Nakajima [et al.] // J. Immunol. – 2006. – **177**. – P. 6433–6439.

8. P-Selectin Can Support Both Th1 and Th2 Lymphocyte Rolling in the Intestinal Microvasculature / C. S. Bonder, M. U. Norman, T. MacRae [et al.] // Am. J. Pathol. – 2005. – **167**. – P. 1647–1660.

9. The use of rituximab as an adjuvant for immune tolerance therapy in a hemophilia B boy with inhibitor and anaphylaxis to factor IX concentrate / Ch. Ampaiwan, M. Yingwan, S. Nongnuch [et al.] // Blood coagulation & fibrinolysis. – 2008. – **19**, № 3. – P. 208–211.

Ю. С. Пятницкий, А. М. Олещук, Ю. И. Бондаренко
ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ АНТИГЕННЫХ СВОЙСТВ КРИОКСЕНОДЕРМЫ

Резюме

Проведено экспериментальное изучение антигенных свойств криоксенодермы с помощью люминесцентной микроскопии. Установлено, что исследуемая субстанция оказывает выраженное альтеративное влияние на изолированные лейкоциты донора. Результаты исследования позволяют предположить, что механизм положительного влияния пероральной толеративной терапии криоксенодермой базируется на феномене триггерной активации цитопатических реакций иммунных клеток, вероятно, лимфоцитов и лейкоцитов, в криптах кишечника.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: криоксенодерма, лейкоциты, люминесцентная микроскопия, антигенные свойства.

Yu. S. Pyatnytskyi, O. M. Oleshchuk, Yu. I. Bondarenko
I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPII STATE MEDICAL UNIVERSITY

EXPERIMENTAL STUDY OF CRYOKSENERMA'S ANTIGENIC PROPERTIES

Summary

An experimental study of the antigenic properties of cryoxenoderma using fluorescent microscopy was held. It was established that the investigated substance has a pronounced alternative effect on isolated donor leukocytes. The survey results suggest that the mechanism of the positive impact of oral tolerance therapy by cryoxenoderma is based on the phenomenon of trigger activation cytopathic responses of immune cells, possibly lymphocytes and leukocytes in the intestinal crypts.

KEY WORDS: cryoxenoderma, leukocytes, fluorescent microscopy, antigenic properties.

Отримано 08.05.14

Адреса для листування: О. М. Олещук, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.