

- Voenno-meditsinskiy zhurnal [Military Medical Journal]*. 2000;10:56-61.
3. Smirnov KV, Ugolev AM. Kosmicheskaya gastroenterologiya. Trofologicheskie ocherki [The space gastroenterology. Trophological essays]. 1981;277.
 4. Pikalyuk VS, Adjisalieva GR. Morfometricheskie pokazateli zheludka polovozrelykh krysov pri vozdeystvii gravitatsionnykh peregruzok i pri zashchite ot nikh [Morphometric parameters adult rat's stomach under expose of gravitational overloads and protection from them]. *Morfologiya [Morphology]*. 2008;2(1):22-28.
 5. Kozhemyakin YuM, Khromov OS, Filonenko MA, et al. Naukovo-praktychny rekomendatsii z utrymannya laboratornykh tvaryn ta roboty z nymy [Scientific and practical recommendations for keeping of laboratory animals and working with them]. 2002;155.
 6. Ponomarenko VA. Mediko-psikhologicheskie problemy deyatel'nosti lyotchika v vysokomanevrennom polyote [Medical and psychological problems of the pilot activities in highly maneuverable flight]. *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina [Aerospace and Environmental Medicine]*. 2001;35(2):22-26.
 7. Adjisalieva GR. Statisticheskiy analiz vliyaniya gravitatsionnykh peregruzok i metodov ikh korrektsii na nekotorye pokazateli zheludka polovozrelykh krysov v eksperimente [Statistic analysis of the gravitational overloads' influence and methods of their correction on some indicators of the adult rats' stomach in the experiment.]. *Visnik morfologii [Reports of morphology]*. 2010;16(2):247-250.
 8. Babak OYa. Glutargin – farmakologicheskoe deystvie i klinicheskoe primenenie [Glutargin – pharmacological effects and clinical application]. 2005;455.
 9. European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. 1986;52.
 10. Dyachenko OP, Adjisalieva GR, Chalbasha DA. Sposib fiksatsii gistologichnykh blokov dlya vygotovleniya bahatoploschynnykh zriziv mozochka [The method of histological blocks fixation for making of multiplanar cerebellum sections]. *Tavrycheskiy mediko-biologicheskii vestnik [Taurida medicobiological messenger]*. 2009;12(4-48):235-237.

The investigation of the influence of Propes on phenotypic and functional characteristics of human and animal immunocompetent cells

V. V. Zakharenko

Department of Oncopharmacology, Institute of Pharmacology and Toxicology
National Academy of Medical Sciences, Kiev, Ukraine

Corresponding author: mono2004@mail.ru. Manuscript received March 06, 2014, accepted April 05, 2014

Abstract

Background: The aim of the study is the investigation of the factors of innate immunity and formation of specific immune reactions in rats (antibody forming and formation of delayed hyperresponsiveness reactions) after Propes (an extract of a bovine fetus liver) usage.

Material and methods: In the study we used CBA mice and white rats. Propes was used in dose 90 mg/kg subcutaneously for 10 days. On the 5th day after immunization by sheep erythrocytes in spleen of animals were evaluated antibody-forming cells using Jerne-Nordin technic, was haemagglutinin content, studied using simple haemagglutination technic in serum. Hyperresponsiveness reactions were carried out using E. V. Gulling and M. B. Sambur method.

Results: It was found out that Propes doesn't exert an activity of factors innate immunity, doesn't decrease natural cell-mediated cytotoxicity against metabolically low-level target cells. Propes exerts immunomodulating activity towards regulatory and effector cells of immune system, increases T-killers/ helpers in mouse spleen, increases activity of NK-cells in mouse spleen and human blood. The drug suppresses primary humoral immune response on xenograft erythrocytes and immune hyperresponsiveness reactions. It has the influence on high proliferating systems and has immunomodulating properties, which depends on the time of administration and dosage regimen.

Conclusions: Immunomodulatory properties of Propes have ability to change the level of antigen differentiation of lymphoid organs and blood cells of experimental animals and humans, especially towards proliferative processes, regulates humoral and cell immune response. It doesn't exert the negative influence on cellular factors of innate immune response.

Key words: Propes, immune system, immunocompetent cells, phenotypic and functional characteristics.

Исследование влияния Пропеса на фенотипические и функциональные характеристики иммунокомпетентных клеток животных и человека

Введение

Учеными сформулировано представление о сравнительно новом классе информативных молекул – цитомединов, которые относятся к щелочным полипептидам, имеют молекулярную массу от 1000 до 10000 Д, обладают способностью индуцировать процессы специфической дифференцировки клеток. Применение цитомединов способствует восстановлению и сохранению регуляторных механизмов синтеза необходимых белковых

субстратов, что приводит к нормализации гомеостаза и повышению интенсивности защитных функций организма [1, 2].

Известно, что вещества природного происхождения оказывают цитостатический эффект за счет наличия в их составе малых активных молекул или непосредственно, влияя на иммунную систему, процессы воспаления, другие общие реакции организма [3-6].

Пропес – оригинальный препарат животного про-

исхождения (экстракт из эмбриональной печени крупного рогатого скота). В основу способа его получения положен строго детерминированный протеолиз белковых составляющих эмбриональных тканей. Пропес не является традиционным цитостатиком. Препарат содержит низкомолекулярные пептиды, активно подавляет процессы злокачественной пролиферации, не угнетая нормальные пролиферативные процессы. Пропес применяют в качестве препарата сопровождения при лечении злокачественных новообразований [7-11]. В представленной работе уделено внимание фенотипическим и функциональным процессам иммунной системы животных и человека под влиянием Пропеса.

Материал и методы

В экспериментах использованы мыши самцы линии СВА и белые нелинейные крысы, которые содержались на стандартном рационе вивария в условиях свободного доступа к воде.

Пропес вводили животным подкожно в дозе 90 мг/кг, ежедневно в течение 10 суток.

Забор крови у мышей СВА осуществляли из ретро-орбитального пространства. Клеточную взвесь из-под надрезанной капсулы селезенки выдавливали в среде RPMI-1640 с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки. Для прямой иммунофлуоресценции использовали моноклональные антитела фирмы Becton Dickinson (США).

В экспериментах *in vitro* с культурой клеток человека использовали тест-панели Simultest, содержащие два-три вида моноклональных антител, меченных двумя различными флуорохромами со свечением в зеленой (FITC) и красной (PE) частях видимого света: двухцветное зондирование лимфоидных клеток осуществляли, обрабатывая пробы лимфоцитов двумя видами антител Leu 19 (CD56) – NK-клетки + Anti-Inter-leukin-2 Receptor (CD25) – экспрессия рецепторов к интерлейкину-2 на активированных клетках, а также комбинацию CD8 (Т-киллеры/супрессоры) anti-Leu23 (CD69) – антиген ранней активации Т-клеток, В-клеток и NK-клеток. Используемые тест-системы являются высокочувствительным инструментом для анализа механизмов действия иммуномодуляторов и их активности.

Определение числа клеток, экспрессирующих те или иные дифференцированные антигены, осуществляли на лазерных проточных цитофлуориметрах FACStar plus или FACScan (Becton Dickinson, США). Результаты обрабатывали в программах FACScan или Consort30, позволяющих выявить распределение клеток по гистограммам или форме dot plot.

Линию опухолевых клеток УАС-1 (H-2^a), чувствительных к NK-клеткам мышей, поддерживали в среде RPMI-1640 с 10% ЭТС при 37°C в CO₂-инкубаторе (LKB, Швеция).

Клетки-мишени УАС-1 (H-2^a) метили в среде RPMI-1640 (Flow Labs), содержащей 200μCiNa₂⁵¹CrO₄ в течение 1 ч при 37 °C, после чего трижды отмывали в среде

RPMI-1640 с 10% эмбриональной телячьей сывороткой для удаления свободной радиоактивности.

Антителообразующие клетки (АОК) определяли в селезенке мышей СВА на 5 сутки после иммунизации эритроцитами барана (ЭБ) методом локального гемолиза в геле по Jerne-Nordin [12, 13]. Содержание гемагглютининов в сыворотке крови исследовали в реакции простой гемагглютинации [14]. Реакцию гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) у мышей линии СВА воспроизводили по методу Э. В. Гюллинга и М. Б. Самбур [15].

Активность ЕЦК крови была исследована у животных в отношении метаболически малоактивных клеток-мишеней, эритроцитов цыплят (ЭЦ) согласно рекомендациям О. Ф. Мельникова и Т. А. Заяц [16], используя соотношение эффектор/мишень 5:1. Степень разрушения ЭЦ определяли спектрофотометрически на ридере Stat FAX 2100 (США).

Лейкоциты человека выделяли из свежеполученной гепаринизированной крови доноров в градиенте плотности фиколл-уротраста (Pharmacia, Швеция). Клетки трижды отмывали холодным фосфатно-солевым буфером с 5% сыворотки крови человека АВ (IV) группы крови, после чего доводили до концентрации 5•10⁶ кл/мкл в среде RPMI-1640 (Flow Labs, UK) с 10% сывороткой человека.

Результаты обработаны статистически с применением непараметрического критерия U Вилкоксона-Манна-Уитни и метода углового преобразования Фишера (критерия φ) [17].

Результаты исследований

Двухцветный проточно-цитофлуориметрический анализ показал, что введение мышам линии СВА Пропеса приводило к выраженному увеличению процентного количества Lyt-2-позитивных клеток среди спленоцитов. Пропес несколько увеличивал число Lyt-2⁺-клеток и среди лимфоцитов периферической крови. Отмечалось незначительное, но достоверное снижение Thy-1⁺-клеток, но не Lyt-1⁺-клеток в периферической крови. Колебания в количестве других иммунокомпетентных клеток были недостоверны.

Пропес резко увеличивал долю Т-киллеров/супрессоров среди лимфоцитов селезенки в то время как в периферической крови наблюдалась лишь тенденция к увеличению. Незначительное снижение общей популяции Т-лимфоцитов (Thy-1⁺-клеток) свидетельствует о возможных путях изменения дифференцировки среди иммунокомпетентных клеток, происходящих под влиянием Пропеса с очевидным перераспределением в сторону Т-киллеров/супрессоров (табл. 1, 2).

Трехкратное введение Пропеса приводило к выраженной активации цитолитической активности NK-клеток селезенки мышей против клеток-мишеней УАС-1 в соотношении эффектор/мишень 40:1 и 10:1. Способность Пропеса стимулировать натуральные киллеры продемонстрирована как прямыми функциональными

Таблица 1

Влияние Пропеса на количество популяций и субпопуляций лимфоидных клеток у мышей СВА ($M \pm m$)

Популяции и субпопуляции лимфоидных клеток	Группы экспериментов		Изменения по отношению к контрольной группе, %
	Контроль	Опыт	
Thy-1-B1	17,250 ± 0,231	15,967 ± 0,433	16,0
Thy-1-Spl	17,563 ± 0,236	9,183 ± 0,953*	11,2
Lyt-1-B1	16,300 ± 0,433	16,233 ± 0,344	16,4
Lyt-1-Spl	8,067 ± 0,291	11,233 ± 1,045*	13,5
Lyt-2-B1	6,800 ± 0,350	8,417 ± 0,635	7,7
Lyt-2-Spl	3,600 ± 0,361	6,400 ± 0,799*	3,9
L3T4-B1	10,363 ± 0,303	11,717 ± 0,457	12,7
L3T4-Spl	7,350 ± 0,311	7,517 ± 0,291	8,1

Примечание: Результаты выражены в процентах позитивных клеток; * - достоверно по отношению к контрольной группе животных.

тестами, так и опосредовано демонстрацией экспрессии активационных антигенов. Как НК-клетки животных, так и НК-клетки человека активировались Пропесом.

Установлено, что введение Пропеса существенно не влияло на массу селезенки, однако активность антителообразования достоверно снижалась (табл. 3). При расчете на селезенку количество АОК в опытной группе было в 2 раза ниже, чем в контроле.

Таблица 2

Влияние Пропеса на цитотоксическую активность НК-клеток мышей (спленоциты) СВА ($M \pm m$)

Группа животных	Активность НК-клеток в соотношении эффектор/мишень (ИЦ, %)	
	40:1	10:1
Контроль	28,3 ± 3,0	16,2 ± 1,2
Пропес	36,9 ± 2,9	25,6 ± 1,8*

Примечание: Результаты выражены процентом убитых клеток-мишеней УАС-1; * - достоверно по отношению к контролю.

Таблица 3

Влияние предварительного введения пропеса на антителообразование в селезенке при первичной иммунизации ЭБ ($n = 7$)

Статистические показатели	Масса селезенки, мг		АОК на селезенку	
	Контроль	Пропес	Контроль	Пропес
$M \pm m$	147,8 ± 4,9	148,3 ± 10,2	274,1 ± 37,1	142,6 ± 37,5*
Миним.-макс.	125-170	107-180	170-435	71-245

Примечание: * - достоверно по отношению к контролю.

Содержание антител к ЭБ в сыворотке крови также имело тенденцию к снижению в опытной группе (Lg_2 титра в опыте 5,7, в контроле – 6,85) (рис. 1).

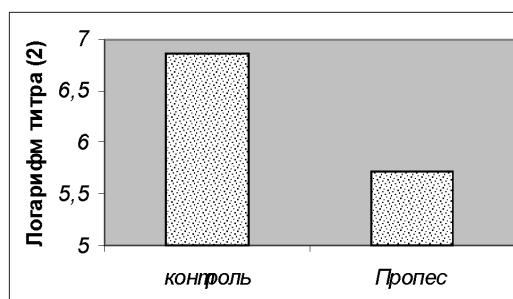


Рис. 1. Содержание гемагглютининов в сыворотке крови животных опытной и контрольной групп.

Двукратное введение антигена ТК (тимоциты крысы) в левую лапу мышей контрольной группы приводило к формированию у них реакции гиперчувствительности замедленного типа, отмечалась достоверная разница в массе регионарных лимфоузлов опытной и контрольной конечностей животных. Введение мышам Пропеса приводило к угнетению проявлений ГЗТ, что подтверждалось снижением различий в массе подколенных лимфоузлов в среднем по группе, не достигающим статистической значимости (табл. 4).

Индивидуальный анализ полученных результатов по группам животных показал, что, если у мышей контрольной группы реакция ГЗТ не была выражена в 10% случаев (при равной массе лимфоузлов левой и правой конечностей у 1 животного из 10), то у животных опытной группы супрессия проявлений ГЗТ была выражена у 5 животных (50% случаев), что достоверно чаще, чем в группе контроля ($p < 0,01$).

Было установлено, что при 2-х недельном предварительном введении препарата активность ЕЦК крови в опытной и контрольной группах достоверно не изменялась (опыт – 29,5%, контроль – 30,3%). Данные цитологического изучения основных клеток крови, участвующих в формировании врожденного иммунитета, свидетельствуют о том, что введение Пропеса не оказывало существенного влияния на количество БГЛ,

Таблица 4

Влияние Пропеса на выраженность реакции ГЗТ у мышей (n = 10)

Группы животных	Масса подколенных лимфоузлов, мг				Разница в массе по отношению к контролю, %
	Левый (опытный)		Правый (контрольный)		
	Среднее значение	Пределы колебаний	Среднее значение	Пределы колебаний	
Контроль	4,2 [*]	1,0-6,0	3,0	1,0-4,0	40,0
Опыт (Пропес)	3,9	1,0-6,0	3,1	1,0-5,0	25,8

Примечание: ^{*} – $P_u < 0,05$ по отношению к массе контрольных лимфоузлов.

моноцитов и нейтрофильных лейкоцитов в крови.

В опытах *in vitro* при культивировании лейкоцитов человека с препаратом Пропес в течение 24 часов в среде RPMI-1640 с 10% сывороткой человека было установлено, что Пропес активно влияет на экспрессию маркеров дифференцировки и активацию иммунокомпетентных клеток.

Пропес приводил к выраженному снижению числа CD3⁺/8⁺ клеток (часть Т-лимфоцитов без супрессоров/киллеров), несколько увеличивал число Т-лимфоцитов киллеров/супрессоров (CD3⁺/8⁺-клеток) и резко повышал число CD3⁺/8⁺-клеток, относящихся к клеткам с различной функцией, включая не Т-киллерную.

Двухцветный цитофлуориметрический анализ позволил установить, что Пропес приводил к увеличению числа Т-киллеров/супрессоров за счет роста числа активированных CD8⁺/Leu23⁺-клеток, экспрессирующих антиген клеточной активации Leu23. Однако, доля лим-

фоцитов, не относящихся к субпопуляции Т-киллеров/супрессоров (CD8⁺/Leu23⁺) человека, также выразительно активировалась Пропесом (табл. 5).

Другой маркер клеточной активации HLA-DR под воздействием Пропеса достоверно возрастал как в популяции Т-клеток, так и не Т-клеток (рост числа CD3⁺/DR⁺ и CD3⁺/DR⁻-клеток). Количество неактивированных Т-клеток (CD3⁺/DR⁻) не претерпело существенных изменений.

Способность Пропеса оказывать поликлональную активацию подтвердилась в условиях *in vitro* с применением моноклональной панели CD3/CD16+CD56. Пропес увеличивал долю как Т-лимфоцитов, не обладающих НК-активностью (CD3⁺/16+56⁻), так и не Т-лимфоцитов, обладающих НК-активностью (CD3⁺/16+56⁺), в которую входит лишь минорная часть НК-клеток. Субпопуляция Leu19⁺-клеток, в которую входят активированные и неактивированные НК-клетки, также подвергалась изме-

Таблица 5

Влияние Пропеса на экспрессию антигенов дифференцировки и активации на поверхности лимфоцитов человека в условиях *in vitro*

№ п/п	Экспрессия антигенов (кластеры CD)	Группы экспериментов		Изменения по отношению к контролю, %
		Контроль	Опыт	
1	CD3 ⁺ /8 ⁻	43,20 ± 1,72	15,47 ± 5,74 [*]	-64,2
2	CD3 ⁺ /8 ⁺	21,54 ± 0,30	24,31 ± 0,74	+12,8
3	CD3 ⁺ /8 ⁺	4,40 ± 0,84	13,85 ± 2,20 [*]	+214,8
4	CD8 ⁺ /Leu 23 ⁻	21,68 ± 0,38	17,35 ± 1,73	-20,0
5	CD8 ⁺ /Leu 23 ⁺	3,67 ± 0,44	16,22 ± 1,29 [*]	+342,2
6	CD8 ⁺ /Leu 23 ⁺	12,42 ± 0,70	27,46 ± 4,74 [*]	+121,1
7	CD3 ⁺ /16+56 ⁻	16,32 ± 0,31	32,34 ± 3,23 [*]	+98,2
8	CD3 ⁺ /16+56 ⁺	12,19 ± 1,16	20,93 ± 5,64	+71,7
9	CD3 ⁺ /16+56 ⁺	13,03 ± 0,91	20,00 ± 2,29 [*]	+53,5
10	Leu 19 ⁺ /IL-2R ⁻	9,71 ± 1,01	15,16 ± 1,26 [*]	+56,1
11	Leu 19 ⁺ /IL-2R ⁺	4,22 ± 0,45	24,29 ± 1,40 [*]	+475,6
12	Leu 19 ⁺ /IL-2R ⁺	10,88 ± 2,21	20,84 ± 2,46 [*]	+91,6
13	CD3 ⁺ /DR ⁻	29,34 ± 0,99	33,22 ± 2,08	+13,2
14	CD3 ⁺ /DR ⁺	6,83 ± 0,20	10,68 ± 0,69 [*]	+56,3
15	CD3 ⁺ /DR ⁺	8,30 ± 0,50	17,57 ± 1,68 [*]	+111,6

Примечание: Результаты выражены в процентах позитивных клеток; ^{*} – достоверно по отношению к контрольной группе животных.

нениям, происходящим под влиянием Пропеса *in vitro*. Доля Leu19 (CD56)-клеток, экспрессирующих рецепторы к интерлейкину-2 (IL-2R), существенно возростала под влиянием Пропеса, что указывает на то, что последний является препаратом с классическим иммуномодулирующим эффектом, запускающим каскад реакций с участием интерлейкинов.

Обсуждение

По мнению авторов-разработчиков препарата (Найштетик В. Я. и др.), процессы эпиморфной регенерации имеют общую основу с возникновением низкодифференцированных опухолей. При эпиморфной регенерации пролиферативные процессы после достижения определенной массы клеток переходят в процесс их дифференцировки. Поиск препаратов, регулирующих эпиморфную регенерацию, в том числе при опухолевом росте, авторы представляют в качестве нового направления исследований. При этом Пропесу отводят роль морфогена-регулятора процессов пролиферации.

Иммунная система принадлежит к системам с активной эпиморфной регенерацией. Нами была продолжена работа в этом направлении.

Эксперименты с использованием широкой панели моноклональных антител и двойной метки, а также определение функциональной киллерной активности клеток позволили судить о возможных механизмах противоопухолевой активности Пропеса. А именно, противоопухолевая активность может опосредоваться активацией как тимус зависимых Т-лимфоцитов-киллеров, так и активацией натуральных киллерных клеток, которые, как известно, обладают неспецифическим широким спектром действия на различные опухолевые клетки, и их цитолитический потенциал не зависит от тимуса. Т-лимфоциты киллеры/супрессоры экспрессировали такие очевидные маркеры активации как DR+ и Leu23+ -антигены, а НК-клетки экспрессировали рецепторы к интерлейкину-2 (IL-2R).

В экспериментах на мышах было установлено, что Пропес оказывает влияние на такие регуляторные клетки как Т-лимфоциты/хелперы. Именно Т-хелперы усиливают иммунный ответ на различные антигены, включая опухолевые клетки, грибы и вирусы. Такая синергичная активация эффекторных и регуляторных иммунокомпетентных клеток вносит вклад в выраженную противоопухолевую активность Пропеса. Возможно, входящие в состав Пропеса регуляторные пептиды оказывают противоопухолевое действие не только опосредованно через иммунную систему, но и непосредственно влияют на клеточную дифференцировку.

Установлено, что Пропес не влияет на активность факторов врожденного иммунитета – количество БЛЛ, нейтрофильных лейкоцитов и моноцитов крови, не снижает уровня естественной клеточной цитотоксичности против метаболически малоактивных клеток-мишеней. Вместе с тем, препарат способен угнетать первичный гу-

моральный иммунный ответ на ксеногенные эритроциты и формирование ГЗТ, что свидетельствует о его влиянии на быстро пролиферирующие системы и позволяет говорить об иммуномодулирующей способности Пропеса, вектор которой может зависеть от времени введения препарата и его дозировки. Если говорить о торможении опухолевого роста, то согласно современным взглядам ингибирование антителогенеза при наличии опухоли является позитивным моментом [18].

Иммуномодулирующие свойства Пропеса определяются его способностью изменять уровень экспрессии антигенов дифференцировки на клетках лимфоидных органов и крови экспериментальных животных и человека, особенно при пролиферативных процессах, регуляцией уровня формирования гуморального и клеточного иммунного ответа, отсутствием негативного влияния на клеточные факторы врожденного иммунитета.

Выводы

1. Пропес обладает иммуномодулирующей активностью по отношению к регуляторным и эффекторным клеткам иммунной системы, приводит к увеличению доли Т-киллеров/хелперов в селезенке мышей, активности НК-клеток в селезенке мышей и крови человека.

References

1. Kuznik BI, Khavinson VKh, Morozov VG. Peptidnye bioregulatory. Primenenye v travmatologii, khirurgii, stomatologii i onkologii. M.: Vuzovskaya kniga, 2004;400.
2. Esaulova IN, Ashmarin IP, Koroleva SV. Regulyatornye peptidy iz vnutrennikh organov zhivotnykh posle ostroy krovopoteri. Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya. M.: Akademiya estestvoznaniya, 2012;12:16-18.
3. Kozlov DV, Rodionov SYu. Predvaritelnye dannye o primeneni embriionalnykh tkaney v kachestve stimulyatorov regeneratsii protivopukholevykh sredstv. Novokuznetsk: Meditsinskaya praktika, 1990;255-257.
4. Bendyug GD, Smikodub OI, Grinevich YuYa. Vplyv transplantatsii klitny embrionalnoy pechinky na deyakі pokaznyky, scho kharakteryzuyut stan imunnoi sistemy onkologichnykh khvorykh v dynamizi protypukhlynogo likuvannya. *Gematologiya i perelyvannye krovi*. 1998;29:214-220.
5. Radzievska LV, Smikodub OI, Snigir NV. Immunoterapiya zloyakisnykh pukhlyn gemopoetychnymy klitnyamy embrionalnoi pechinky ludyny. Immunoterapiya pri likuvanni zloyakisnykh novoutvoren. Mat. Nauk. prakt. konf. Kiyv, 1998;104-110.
6. Lisnyaniy MI, Belska LM, Semenova VM. Doslidzhennya vplyvu peptydiv embrionalnoi nervovoi tkanyny schuriv na klitny vnutrishnyomozkovykh pukhlyn ta funktsionalnu aktyvnist mononukleariv peryferichnoi krovi. *Probl. Kriobiologii*. 2008;18(4):441-444.
7. Drannik GN, Kurchenko AI, Fesenkova VY. Izuchenie vliyania preparatov klassa Erbisol' na produktsiyu tsitokinov mononuklearami perifericheskoy krovi zdorovykh donorov i onkologicheskikh bolnykh. *Visnyk farmakol. farmatsiy*. 2006;7:1215.
8. de Heredia ML, Izquierdo JM, Cuerzva JM. A conserved mechanism for controlling the translation of beta-F1-ATPase mRNA between the fetal liver and cancer cells. *J. Biol. Chem*. 2000;275(10):7430-7437.
9. Mamchur VY, Levykh AE. Defenzyny – endogenne peptidy s antiinfektsionnymi i protivopukholevymi svoystvami. *Tavrisheskiy medico-biol. vestnik*. 2012;15(2):315-321.
10. Kondo E, Tanaka T, Miyake T. Potent synergy of dual antitumor peptides for growth suppression of human glioblastoma cell lines. *Mol. Cancer Ther*. 2008;7(6):1461-1471.
11. Kindzelskiy LP, Kasyanenko IV, Sikovich SA. Propes – effektivnyy

- preparat soprovozhdeniya tsitostatischeckoy terapii bolnykh zlokachestvennymi novoobrazovaniyami. *Ekspirim.onkol.* 2000;22:94.
12. Jerne N, Nordin A. Plaque formation in agar by single antibody-producing cells. *Science.* 1963;140(3565):405.
 13. Immunologicheskie metody / pod red. G. Frimelya; per. s nem. AP Tarasova; M.: Meditsina, 1987;472.
 14. Levenson VT. Sposob statisticheskoj obrabotki rezultatov titrovaniya antitel. *Trudy Moskovskogo NII epidemiologii.* M., 1969;12:72-74.
 15. Gyulling EV, Sambur MB. O vosproizvedenii i otsenke reaktsiy giperchuvstvitelnosti zamedlennogo tipa *in vivo.* *Fiziologicheskiy zhurnal.* 1981;2:237-240.
 16. Melnikov OF, Zayats TA. Sravnenie radioizotopnogo i spektrofotometricheskogo metodov opredeleniya tsitotoksichnosti kletok. *Lab. Diagnostika.* 1999;1:43-45.
 17. Gubler EV. Vychislitelnye metody analiza i raspoznavaniya patologicheskikh protsessov. L.: Meditsina, 1978;296.
 18. Berezhnaya NM, Chekhun VF. Immunologiya zlokachestvennogo rosta. K.: Nauk. Dumka, 2005;791.

Some improvement opportunities of regenerative processes of rabbit cornea after experimental alkaline burns

*I. E. Herasymyuk, T. I. Romaniuk

Department of Anatomy, I. Ya. Gorbachevskiy State Medical University of Ternopol, Ukraine

*Corresponding author: herasymyuk@ukr.net. Manuscript received March 06, 2014; accepted April 03, 2014

Abstract

Background: Nowadays peptide bioregulators, stimulating repair processes, accelerating the substitution of necrotizing tissue with fibrous tissue and facilitating active access of young low-differentiated cellular elements between the corneal plates, represent a promising way of treating damaged cornea including its chemical burns. A well-known fact is that biological tissues exhibit a similar activity not only due to alive cells but also homogenates and extracts from them.

Material and methods: The experiments have been performed on 24 rabbits. Each animal has been subject to a corneal burn with alkali (10% NaOH). Time of exposition for alkali was 10 seconds. To a half of the animals corneal burn correction was done with the help of cryophilic pig skin extract. Beginning with the first day of the experiment the extract of cryophilic pig skin was applied into the conjunctiva sac 1 drop after every 2 hours, during three days. Other 12 rabbits didn't benefit from the extract correction.

Results: The results obtained proved that using cryophilic pig skin extract allowed to improve significantly regeneration processes in cornea tissues after alkali burn. Epithelialization of a damaged area is fulfilled faster and better. It is demonstrated by the increase in the number of epithelial cells and their earlier differentiation as well as the increase of regulation of connective-tissue fibers leading to a more effective improvement of the optical features of the damaged area.

Conclusions: It is assumed that this correction method enables the surface epithelium to regenerate due to division and migration of cornea basement epithelial cells as well as transformation and centre-oriented movement of limbus cambial (stem) cells that has already been mentioned in previous publications.

Key words: cornea, burns, alkaline, regeneration.

О некоторых возможностях улучшения регенеративных процессов роговицы глаза кроликов при её ожогах щёлочью в эксперименте

Введение

Проблема лечения ожогов глаз, которые являются тяжелым видом повреждений органа зрения, была и продолжает оставаться острой и актуальной. Что касается последствий травм глаза, то они составляют наиболее распространенную причину инвалидизации при глазной патологии [1]. Перспективным в их лечении, на сегодняшний день становится применение пептидных биорегуляторов [2]. А также аллогенных цитокинов, которые стимулируют репаративные процессы в роговице глаза, способствуя активации фибробластов, разрастанию рубцовой ткани, вращанию сосудов в роговицу, ускоряют процесс замещения некротизированной ткани роговицы фиброзной тканью, а также способствуют активному вторжению клеточных элементов между роговичными пластинами [3, 4]. Вместе с тем, общеизвестным уже является тот факт, что биологические ткани проявляют

свою активность не только за счет живых клеток, но и за счет гомогенатов и экстрактов из них. Поэтому за последние годы во многих странах происходит бурное развитие биотехнологий, направленных на получение биологически активных соединений, в частности, создание препаратов на основе фетального сырья, а также ксеноорганов: селезенки, печени, надпочечников и т. д. [5]. Это связано с увеличением интереса к многообразию и возможностям биологически активных веществ, которые можно получить из такого материала.

Одним из направлений в клеточной терапии травм роговицы может быть использование экстрактов криолиофилизованной кожи, содержащих биологически активные вещества [6]. Эти вещества могут проявлять регуляторное влияние, как на эпителиальную, так и на соединительную ткани, они также необходимы для ре-