

Влияние криоэкстракта липидов плаценты на структурно-функциональные изменения в региональных лимфоузлах крыс при адьювантном артрите

М.А. КРАВЧЕНКО, Н.А. БОНДАРОВИЧ, О.В. ЧЕЛОМБИТКО, А.И. ОСЕЦКИЙ, А.Н. ГОЛЬЦЕВ
Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Influence of Placental Lipid Cryoextract on Structure-Functional Changes in Regional Lymph Nodes of Rats with Adjuvant Arthritis

M.A. KRAVCHENKO, N.A. BONDAROVICH, O.V. CHELOMBITKO, A.I. OSETSKY, A.N. GOLTSEV
Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

Известный факт иммуномодулирующей активности субстанций липидной природы делает актуальным разработку технологий их получения из биологически активного тканевого сырья, в частности ткани плаценты, липидный состав которой обуславливает один из механизмов ее иммуносупрессивной активности. Использование для этих целей криотехнологий, в частности методов криоэкстракции, позволяет минимизировать влияние ряда повреждающих факторов на биологический материал, а также дифференцированно выделить липидную фракцию плаценты (ЛФП). В основе одного из механизмов реализации ее антиартритической активности может лежать способность липидных биомолекул выступать в роли эндогенных лигандов ядерных рецепторов Т-клеток и таким образом влиять на процессы периферической дифференцировки эффекторных $CD4^+CD25^-$ – Т-клеток с образованием индуцированных $CD4^+CD25^+$ – Т-регуляторных клеток (Т-рег). Таким образом, целью данной работы было изучить содержание $CD4^+CD25^+$ – Т-клеток в региональных лимфатических узлах крыс с адьювантным артритом (АА) до и после введения ЛФП.

Эксперименты выполнены на крысах-самцах линии Вистар. Адьювантный артрит индуцировали субплантарным введением полного адьюванта Фрейнда. Линейную фракцию плаценты получали методом криогенного молекулярного фракционирования (КМФ) из тканей плаценты свиньи и вводили с 14-х по 28-е сутки развития АА через день внутримышечно в дозе 100 мг/кг. На 7, 14, 21, 28, 35 и 42-е сутки развития АА проводилось определение массы и общего количества клеток в подколенных лимфатических узлах, а также содержания среди них $CD4^+CD25^+$ – клеток (Т-рег) методом прямой иммунофлюоресценции с использованием мАт (BD) к структурам CD4 (PE) и CD25 (FITC) на проточном цитофлуориметре (FACS Calibur, BD).

Показано волнообразное изменение изученных показателей в динамике развития АА, при этом, если для массы и общего количества клеток максимальные изменения наблюдались в опытных подколенных лимфатических узлах, то изменение содержания $CD4^+CD25^+$ -клеток имело максимальную выраженность с контрлатеральной стороны. В группе лечения, получавшей ЛФП, содержание $CD4^+CD25^+$ -клеток и их концентрация в общей популяции $CD4^+$ -клеток в опытных лимфатических узлах приближались к контрольным показателям к 42-м суткам развития АА.

Таким образом, показано, что ЛФП способна корректировать содержание Т-регуляторных клеток в региональных лимфатических узлах при развитии АА, что может объяснить один из механизмов реализации ее антиартритической активности.

The known fact of immune modulating activity possessed by substances of lipid origin makes it topical to develop the technologies for obtaining such substances from biologically active tissue raw material, particularly, placental tissues. Lipid composition of placenta determines one of the mechanisms of placental immunosuppressive activity. The use of cryotechnologies, particularly, the methods of cryo-extraction, allows to minimize the influence of the number of damaging factors on the biological material and isolate the placental lipid fraction (PLF). One of the mechanisms of its anti-arthritis activity can be based on the ability of lipid biomolecules to act as endogenous ligands for T-cell nuclear receptors and thereby to influence peripheral differentiation of effector $CD4^+CD25^-$ T-cells with generation of inducible $CD4^+CD25^+$ T-regulatory (T-reg) cells. Thus the aim of this work was to study $CD4^+CD25^+$ T-cell content in regional lymph nodes of rats with adjuvant arthritis (AA) prior to and after administration of PLF.

The experiments were performed in Wistar male rats. Adjuvant arthritis was induced by subplantar injection of complete Freund's adjuvant. Placental lipid fraction was obtained with the use of cryogenic molecular fractionation (CMF) method from pig placental tissues and it was administered from the 14th to the 28th days of AA development each other day intramuscularly in the dose of 100 mg/kg. Mass and total amount of cells in popliteal lymph nodes were determined to the 7th, 14th, 21st, 28th, 35th and the 42nd day of AA, as well as $CD4^+CD25^+$ (T-reg) content by direct immunofluorescence method with the use of mAb (BD) to $CD4^+$ (PE) and $CD25^+$ (FITC) structures with flow cytometer (FACS Calibur, BD).

It has been shown that the change of the studied parameters had an undulating pattern with maximum changes of mass and total cell amount in the popliteal lymph nodes of adjuvant treated paws while changes of $CD4^+CD25^+$ content were more pronounced in the contralateral lymph nodes. In the treatment group received PLF the $CD4^+CD25^+$ content and their concentration in the total $CD4^+$ population in experimental lymph nodes approached the control parameters to the 42nd day of AA.

Thus, it was shown that PLF was capable to correct the content of T-reg cells in the regional lymph nodes during AA development and this fact can explain one of the mechanisms of its anti-arthritis activity.