

Особенности проявления модулирующей активности клеток эмбриональной печени на лимфогемопоэтическом комплексе мышей с аутоиммунной гемолитической анемией

А.Ю. ГОРСКАЯ, Е.Д. ЛУЦЕНКО, Л.В. ОСТАНКОВА, Т.Г. ДУБРАВА, А.Н. ГОЛЬЦЕВ
Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Peculiarities of Modulating Activity Manifestation of Embryonic Liver Cells on Murine Lymphohemopoietic Complex with Autoimmune Hemolytic Anemia

GORSKAYA A.YU., LUTSENKO E.D., OSTANKOVA L.V., DUBRAVA T.G., GOLTSEV A.N.
Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of the Ukraine, Kharkov

Обобщены данные литературы и результаты собственных исследований по оценке модулирующей активности клеток эмбриональной печени (КЭП) на лимфогемопоэтический комплекс (ЛГПК) мышей с аутоиммунной гемолитической анемией (АИГА). Проведен анализ степени и характера влияния КЭП как на общие популяции иммунокомпетентных клеток (ИКК) в тимусе, селезенке, костном мозге и перитонеальной полости (ПП), так и на органоспецифические стромальные элементы селезенки и тимуса. Полученные данные свидетельствуют о том, что применение КЭП сопровождается различной степени модификацией структурно-морфологических характеристик центральных и периферических органов ЛГПК. В отношении специфических проявлений АИГА (накопление аутоантител) трансплантация КЭП способствует существенному снижению их содержания, что можно характеризовать как проявление лечебного эффекта КЭП.

Ключевые слова: трансплантация, клетки эмбриональной печени, аутоиммунная гемолитическая анемия.

Узагальноно дані літератури і результати власних досліджень щодо оцінки модулюючої активності клітин ембріональної печінки (КЕП) на лімфогемопоетичний комплекс (ЛГПК) мишей з аутоімунною гемолітичною анемією (АІГА). Проведено аналіз ступеня і характеру впливу КЕП як на загальні популяції імунокомпетентних клітин в тимусі, селезінці, кістковому мозку і перитонеальній порожнині (ПП), так і на органоспецифічні стромальні елементи селезінки і тимусу. Одержані дані свідчать про те, що застосування КЕП супроводжується різного ступеня модифікацією структурно-морфологічних характеристик центральних і периферичних органів ЛГПК. Щодо специфічних проявів АІГА (накопичення аутоантитіл) трансплантатія КЕП сприяє істотному зниженню їх вмісту, що можна характеризувати як прояв лікувального ефекту КЕП.

Ключові слова: трансплантатія, клітини ембріональної печінки, аутоімунна гемолітична анемія.

There were summarised the literature data and the results of own investigations on the evaluation of modulating activity of embryonic liver cells (ELCs) on lymphohemopoietic complex (LHPC) of mice with autoimmune hemolytic anemia (AIHA). The analysis of the degree and character of ELCs effect on both total populations of immune-competent cells (ICCs) in thymus, spleen, bone marrow and peritoneal cavity (PC) and on the spleen and thymus organ-specific stromal elements was performed. The data obtained testify to the fact, that the ELCs application is accompanied with the modification of different degree in structural and morphological characteristics of central and peripheral LHPC organs. In respect of specific manifestations of AIHA (autoantibodies accumulation) the ELCs transplantation contributes to a considerable decrease in their content, that can be characterised as the ELCs therapeutic effect manifestation.

Key-words: transplantation, embryonic liver cells, autoimmune hemolytic anemia.

В условиях резкого ухудшения “экологического гомеостаза” аутоиммунные заболевания (АИЗ) вышли на одно из первых мест в общем спектре патологических состояний человека. Среди АИЗ встречаются такие заболевания, которые ассоциированы с нарушениями состояния эритроидного ростка кроветворения, а именно гемоцитопении. Аутоиммунные гемоцитопении характеризуются ограниченным количеством циркулирующих элементов крови за счет увеличенной периферической клеточной деструкции и сни-

Under conditions of a sharp aggravation of “ecological homeostasis” the autoimmune diseases (AIDs) take one of the first places in the total spectrum of human pathological states. Among the AIDs such diseases, associated with the disorders in the erythroid hemopoietic lineage state, namely hemocytopenias, are found. Autoimmune hemocytopenias are characterised by a limited number of circulating blood elements due to an increased peripheric cell destruction and a reduced cell production in bone marrow, stipulated by the realisation of cellular cytotoxic mechanisms [2, 8,

Адрес для корреспонденции: Горская А.Ю. Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, ул. Переяславская, 23, г. Харьков, Украина 61015; тел.: +38 (057) 7720104, факс: +38 (057) 7720084, e-mail: cryo@online.kharkov.ua

Address for correspondence: Gorskaya A.Yu. Institute for Problems of Cryobiology & Cryomedicine of the Natl. Acad. Sci. of Ukraine, 23, Pereyaslavskaya str., Kharkov, Ukraine 61015; tel.: +38 (057) 7720104, fax: +38 (057) 7720084, e-mail: cryo@online.kharkov.ua

женной продукции клеток в костном мозге, обусловленных реализацией клеточных цитотоксических механизмов [2,8,14]. Среди этих форм АИЗ чаще всего встречается АИГА.

Существует несколько способов лечения АИГА, но предлагаемую терапию нельзя считать этиотропной, так как в основном она направлена на минимизацию проявления симптоматики, а не на устранение причины заболевания [8,17].

Известно, что АИГА характеризуется преждевременным распадом эритроцитов и развивается на фоне разбалансировки регуляторных механизмов между различными субстратами иммунной системы (ИС). Одной из основных ее причин является несостоятельность или снижение активности супрессорного звена иммунитета [7,15]. В связи с этим при лечении данной патологии должны применяться препараты, обладающие способностью коррегировать в организме цитокиновую сеть, состояние которой соподчинено сбалансированному взаимодействию систем обеспечения гомеостаза [4].

Высокой степени способность продуктов эмбриофетоплацентарного комплекса (ПЭФПК) модулировать состояние нейроиммуноэндокринной сферы [3,4] послужила основанием для изучения характера и степени влияния КЭП на развитие АИГА у мышей. Можно предполагать, что введение КЭП, несущих в себе пре-Т- супрессоры или субстанции, которые их активируют, будет способствовать предотвращению развития аутоиммунной реакции при данной патологии [3,5].

Материалы и методы

Эксперименты выполнены на мышах линии C57BL, массой 20 г. АИГА индуцировали внутрибрюшинным введением прогретых до температуры 49,5°C сингенных эритроцитов в количестве 3×10^9 на мышь. КЭП были получены у крыс линии Вистар на 19-е сутки беременности. Клеточную суспензию из печени готовили следующим образом: в стерильных условиях эмбрионы помещали в чашки Петри, заполненные физиологическим раствором с канамицином, трижды промывали, извлекали печень. Материал переносили в стеклянный гомогенизатор Поттера, добавляли среду Хенкса из расчета 0,2 мл на 1 печень и механическим путем получали однородную массу, которую пропускали через капроновый фильтр. Количество клеток в суспензии подсчитывали в камере Горяева [6].

КЭП вводили мышам-реципиентам в дозе 5×10^6 однократно внутривенно через 3-4 ч после индукции АИГА. На 13-е сутки после введения суспензии КЭП с помощью прямой реакции Кумбса [12] идентифицировали титр противозитро-

14]. The AIHA is the most often observed among these AIDs forms.

There are some ways for AIHA treatment, but it is impossible to consider the proposed therapy as an etiotropic one, because it is mainly oriented to the minimisation of symptomatology manifestation, but not to the disease cause elimination [8, 17].

It is known, that the AIHA is characterised by the erythrocyte immature disintegration and develops at the background of regulatory mechanism misbalance between different substrates of immune systems (IS). One of its main causes is a failure or decrease in the immunity suppressive link activity [7, 15]. In this connection during this pathology treatment one should apply the preparations, capable to correct the cytokine net in an organism, which state is subjected to a balanced interaction of homeostasis providing systems [4].

The high degree capability of products of embryofetoplacental complex (PEFPC) to model the neuroimmunoendocrine sphere state [3, 4] was the reason for studying the character and degree of ELCs effect on AIHA development in mice. We can suppose, that the ELCs introduction, comprising pre-T-suppressors or the substances activating them, will contribute to preventing the autoimmune response development at this pathology [3, 5].

Materials and methods

The experiments were performed in the C57BL 1 20 g mice. The AIHA was induced by an intraperitoneal introduction of syngeneic erythrocytes warmed up to 49.5°C in the amount of 3×10^9 per mouse. ELCs were procured in Wistar rats to the 19th day of pregnancy. Cellular suspension from liver was prepared as follows: the embryos were placed under sterile conditions in Petri dishes, filled with physiological solution with kanamycine, thrice washed out, then the liver was extracted. The material was transferred into a glass Potter homogenizer, Hanks' solution was added in respect of 0.2 ml per 1 liver and the homogenous mass was mechanically obtained, then it was passed through a kapron filter. Cell number in a suspension was calculated in Goryaev's chamber [6].

ELCs were once introduced to mice-recipients in 5×10^6 dose, intravenously in 3-4 hrs after AIHA induction. To the 13th day after introducing the ELCs suspension, there was identified the titer of anti-erythrocyte antibodies using the direct Coombs' test [12]. The state of the LHPC organs (mass, amount of nucleus-containing cells, organs' index as the ratio of organ's mass/mass of animal) was estimated at the same term. The Fig. 1-3 data demonstrate the summarised result of 4 experiments; for each group of data the average values were obtained at n=7-11. All the results were processed using the Student-

цитарных антител. В этот же срок оценивали состояние органов ЛГПК (масса, количество ядросодержащих клеток, индекс органов как соотношение масса органа/масса животного). Представленные на рис. 1-3 данные являются обобщенным результатом 4-х экспериментов; для каждой группы данных средние величины получены при n=7-11. Все результаты обработаны статистически с помощью метода Стьюдента-Фишера [1].

Результаты и обсуждение

Кратковременная антигенная нагрузка путем интраперитонеального введения животным прогретых эритроцитов вызывала появление на 13-е сутки на эритроцитах противэритроцитарных аутоантител-агглютининов (рис.1). Введение нативных КЭП снижало титр аутоагглютининов. Внутривенное введение контрольной субстанции – бычьего сывороточного альбумина (БСА) вместо КЭП – не изменяло титр аутоантител, что подтверждает специфичность действия КЭП как ингибиторов индукции аутоиммунного процесса.

Известно, что любая форма развития АИЗ, включая АИГА, является результатом каскадно развивающихся процессов в ЛГПК с манифестацией тех или иных признаков в различных его участках [4,5]. Поэтому для изучения механизма развития аутоиммунных реакций и участия в их модификации ПЭФПК немаловажным является оценка состояния ЛГПК реципиентов на молекулярном уровне и количественного содержания ИКК в нем. На рис. 2 представлены данные об изменении клеточности центральных и периферических компартментов ЛГПК животных экспериментальных и опытных групп. У интактных животных этот показатель принят за 100%. При развитии АИГА клеточность селезенки и тимуса мышей хотя достоверно и не изменялась по сравнению с интактным контролем, однако отмечалась некоторая тенденция к ее снижению. Значительно более выраженное снижение (почти на 40%) содержания клеток отмечено в ПП. Данный факт подтверждает полученную информацию [9,10] о непосредственном участии клеток моноцитарно-фагоцитарной системы (присутствующих в большом количестве среди клеток ПП) в реализации АИГА. Например, нагруженные аутоантителами эритроциты подвергаются выраженному фагоцитозу в селезенке, т.е. полученные данные свидетельствуют о том, что при таком пути введения иммуногенного фактора патогенетическую значимость в развитии АИГА могут действительно иметь фагоцитоз нагруженных аутоантителами эритроцитов и их лизис с одновременной гибелью клеток-

Fisher's method [1].

Results and discussion

A short-term antigen charge by means of an intraperitoneal introduction to animals of warmed erythrocytes caused the appearance of anti-erythrocyte autoantibodies-agglutinins on erythrocytes to the 13th day (Fig. 1). The introduction of native ELCs reduced the titer of autoagglutinins. An intravenous injection of the control substance, that was the bovine serum albumin (BSA) instead of ELCs, did not change the autoantibodies titer, that confirmed the specificity of ELCs effect as the inhibitors of the autoimmune process induction.

It is known, that any form of AIDs development, including AIHA, results from the multistep developing processes in LHPC with these or those signs manifestation in its different sites [4, 5]. Therefore it is important to evaluate the state of the recipients' LHPC at molecular level and a quantitative content of ICCs in it for studying the mechanism of the auto immune reactions development and the PEFPC modifications. The Fig.2 demonstrates the data on changes in cellularity of central and peripheric LHPC com-partments of the control and test animal groups. In the intact animals this index was assumed for 100%. Even though at the AIHA development the murine spleen and thymus cellularity did not statistically and truly change in comparison with the intact control, a certain tendency to its decrease was observed. Much more manifested decrease almost by 40% of cell content was noted in PC. This fact confirms the obtained information [9, 10] about a direct participation of cells of monocyte and phagocyte system (presenting in a big number among PC cells) in the AIHA realisation. For example, the antibodies-charged

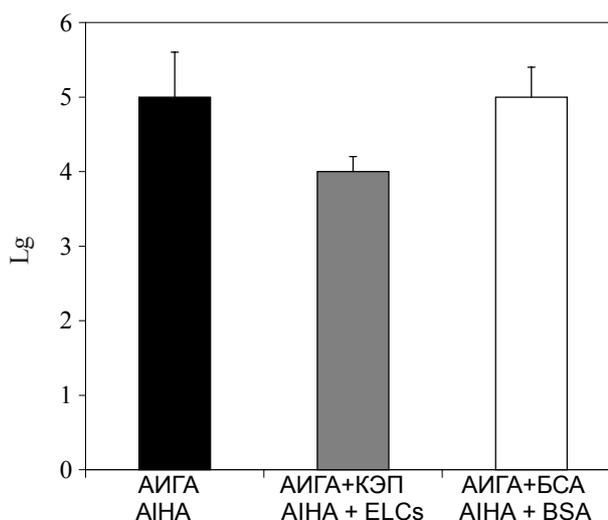


Рис. 1. Титры аутоагглютининов с положительной реакцией Кумбса при АИГА и после введения КЭП.

Fig. 1. Autoagglutinin titers with positive Coombs reaction at AIHA and after ELCs introduction.

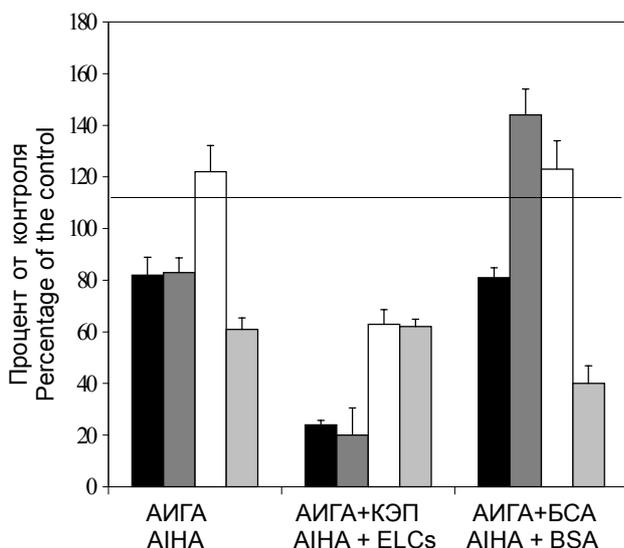


Рис. 2. Клеточность органов ЛГПК у мышей с АИГА и после введения КЭП. ■ - селезенка; ■ - тимус; □ - костный мозг; □ - перитонеальная полость.

Fig. 2. Cellularity of LHPK organs in mice with AIHA and after ELCs introduction. ■ - spleen; ■ - thymus; □ - bone marrow; □ - peritoneal cavity.

эффекторов в ПП [11]. Вместе с тем отмечалось увеличение содержания миелокариоцитов в костном мозге (на 25% в сравнении с контролем). Такого рода изменения могут быть истолкованы как ответная компенсаторная реакция костного мозга (вероятно, эритроидного ростка) на гибель эритроцитов при АИГА.

Используя в качестве тест-системы оценки состояния ЛГПК индекс органов, удалось определить особенности изменения состояния различных клеточно-тканевых субстратов исследуемых органов. Так, изменение индексов тимуса и селезенки не коррелировало с изменением содержания в них количества клеток (рис. 3). В обоих органах при развитии АИГА отмечалось достоверное увеличение индексов (в 1,7 раза селезенки и 1,6 – тимуса) в сравнении с контролем. Сравнивая этот показатель с клеточностью органов, можно заключить, что на фоне развития патологии и некоторого снижения содержания клеток увеличение индексов тимуса и селезенки является результатом разрастания в них стромальных элементов, обуславливающего увеличение массы органов. Это соответствует результатам, указывающим на развитие спленомегалии и гиперплазии тимуса как характерных признаков АИГА [8].

Весьма неожиданными были результаты, полученные при введении КЭП мышам с АИГА. В исследуемых органах, за исключением ПП, клеточность резко снижалась. По сравнению с показателями до введения наиболее манифестно снижалась клеточность в тимусе – в 4,3;

erythrocytes are subjected to a manifested phagocytosis in spleen, i.e. the data obtained testify to the fact, that at such an introduction way of immunogenic factor the phagocytosis of antibodies-charged erythrocytes and their lysis with a simultaneous death of cells-effectors in PC can really have a pathogenetic significance in the AIHA development [11]. At the same time an increase in myelokariocytes content in bone marrow (by 25% in comparison with the control) was observed. Such changes can be interpreted as a compensatory response of bone marrow (probably, erythroid lineage) on erythrocyte death at AIHA.

Using the index of organs as a test-system for the LHPC state evaluation we managed to determine the peculiarities of change in the state of different cellular and tissue substrates of studied organs. Thus, the change in thymus and spleen indices did not correlate with the change of cell number in them (Fig. 3). In both organs during AIHA development there was noted a statistical and true increase of indices in 1.7 times in spleen and in 1.6 times in thymus as compared with the control. Comparing this index with organs' cellularity we can conclude, that at the background of pathology development and a certain decrease of cell content, the augmentation of thymus and spleen indices is the result of the stromal elements overgrowth in them, stipulating the organs' mass increase. This corresponds to the results, indicating to the development of splenomegalia and hyperplasia of thymus as the AIHA characteristic signs [18].

The results, obtained during the ELCs introducing into the mice with AIHA were quite unexpected. In the studied organs, PC excluding, there was a sharp

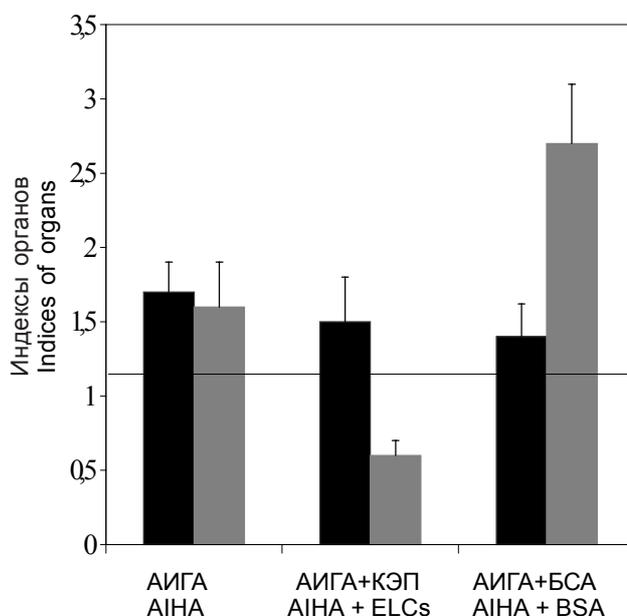


Рис. 3. Индексы органов мышей с АИГА и после введения КЭП. ■ - селезенка; ■ - тимус.

Fig.3. Indices of murine organs with AIHA and after ELCs introduction. ■ - spleen; ■ - thymus.

селезенке – в 2,7 и в костном мозге – в 1,75 раза. Безусловно, гипоплазия органов, индуцированная введением КЭП, могла быть следствием развивающихся стрессиндуцированных событий, в которых само введение КЭП является стрессорным фактором. Однако введение в качестве контрольного иммуногенного фактора БСА вызывало развитие совершенно иной картины. Следовательно, способность модулировать состояние ЛГПК (по крайней мере, содержание ядерных клеток в исследуемых органах) присуща именно КЭП. С нашей точки зрения, наиболее приемлемым объяснением снижения клеточности в тимусе, селезенке и костном мозге может быть реализация трансплантатом (КЭП) специфической и тем более неспецифической супрессорной активности в отношении пролиферативного потенциала клеток в указанных органах [3]. Проявление активности в таком виде четко коррелирует со способностью КЭП ингибировать продукцию аутоагглютининов (см. рис. 1). В определенной степени такого рода феноменология может быть обусловлена и выходом из указанных органов Т- и В-лимфоцитов в другие плацдармы, где они принимают участие в кооперативных взаимодействиях на этапах развития ответа на антиген и продукцию антител. По крайней мере, клеточность ПП, куда вводили индуктор иммунного ответа в виде прогретых аутоэритроцитов, увеличивалась на 15-20%.

Анализируя эффект КЭП на состояние органов ЛГПК мышей с АИГА, следует отметить различную реакцию на введение препарата стромальных (соединительно-тканых) элементов тимуса и селезенки. Судя по индексу органов, в тимусе одновременно с минимизацией содержания тимоцитов отмечалась и выраженная атрофия за счет ингибиции роста нелимфоидных тканевых структур. В селезенке спленомегалия сохранялась фактически на уровне показателей животных, которым не вводили КЭП.

Выводы

Следовательно, модулирующая (включая супрессорную) активность КЭП в организме, реализуется по-разному как в отношении общих популяций ИКК в тимусе, селезенке, костном мозге и ПП, так и органоспецифических стромальных элементов селезенки и тимуса. Такая феноменология может быть следствием особенностей взаимодействия активных начал КЭП (лиганда) с различными рецепторными структурами ИКК в тех или иных компартаментах общего плацдарма ЛГПК. Необходимо также учитывать и дозозависимый эффект, определяемый схемой применения препарата, т.е. проявление такой активности

decrease in cellularity. In comparison with the indices before introducing, the most manifested decrease in cellularity was in 4.3 in thymus, in 2.7 in spleen and in 1.75 times in bone marrow. There is no doubt, that the organs' hypoplasia, induced by ELCs introduction, could result from the developing stress-induced events, where the ELCs introduction itself was a stress factor. However, the introduction of BSA as the control immunogenic factor caused the development of a quite different picture. Consequently, the capability to modulate the LHPC state (at least, the content of nuclear cells in studied organs) is peculiar namely to ELCs. From our point of view, the most acceptable explanation of cellularity decrease in thymus, spleen and bone marrow can be the realisation by the transplant (ELCs) of specific and, especially, non-specific suppressive activity in respect of cell proliferative potential in the mentioned organs [3]. Such an activity manifestation distinctly correlates with the ELCs capability to inhibit the autoagglutinins production (see Fig. 1). This kind of phenomenology can be stipulated in a certain extent by a release out of mentioned organs of T- and B-lymphocytes into other "place d'armes", where they participate in cooperative interactions at the stages of response development to an antigen and antibodies production. At least, the PC cellularity, where the immune response inductor was introduced as the warmed autoerythrocytes, increased by 15-20 %.

When analysing the ELCs effect on the LHPC organ state of mice with АИГА one should note a different reaction on introducing the preparation of thymus and spleen stromal (connective) elements. Judging by the organs' index, in thymus simultaneously with the minimisation of thymocyte content there was observed a manifested atrophy due to the growth inhibition of non-lymphoid tissue structures. In spleen the splenomegalia was kept at the level of indices in animals without ELCs introduction.

Conclusion

Consequently, the modulating (including suppressive) ELCs activity in an organism is differently realised in respect of both total ICCs populations in thymus, spleen, bone marrow and PC, and in organ-specific stromal elements of spleen and thymus. This phenomenology can result from the peculiarities of the ELCs active origins (ligand) interaction with different receptor structures of ICCs in these or those compartments of total LHPC "place d'armes". We should also take into account a dose-dependent effect, determined by the protocol of the preparation application, i.e. the manifestation of such ELCs activity can occur only at their introduction in the mentioned term and when determining these or those indices in a distinct time (the 13th day after АИГА induction). Such

КЭП может иметь место только при их введении в указанный срок и при определении тех или иных показателей в конкретное время (13-е сутки после индукции АИГА). Такое предположение основано на имеющихся данных, что активность регуляторных цитокинов (включая и присутствующие в КЭП) может быть различной, вплоть до оппозитной, в зависимости от характера антигенной нагрузки на ИС, а также фазы развития иммунного ответа [11,13,16].

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что в условиях развития АИГА с формированием специфических аутоантител наблюдается существенное изменение структурно-морфологических характеристик центральных и периферических органов ЛГПК. Применение нативных КЭП сопровождается различной степени модификацией этих показателей на 13-е сутки после инициации АИЗ: от коррекции (клеточность ПП) до агравации. Тем не менее в отношении специфических проявлений АИГА (накопление аутоантител) трансплантация КЭП способствовала существенному снижению их содержания, что можно характеризовать как проявление лечебного эффекта КЭП.

Литература

1. Ашмарин А.Н., Воробьев А.А. Статистические методы микробиологических исследований.– Л.: Медицина.– 1972.– 180 с.
2. Гольцев А.Н., Луценко Е.Д., Останкова Л.В. и др. Экспериментальное обоснование возможности применения продуктов эмбриофетоплацентарного комплекса (ПЭФПК) для лечения аутоиммунных заболеваний // Иммунология та алергологія.– 1999.– № 3.– С. 47.
3. Гольцев А.Н., Дубрава Т.Г., Луценко Е.Д. и др. Поиск альтернативных криоконсервированию путей модификации иммунореактивности миелотрансплантата. II. Возможность сотрансплантации клеток эмбриональной печени // Пробл. криобиологии.– 2000.– №1.– С. 10-20.
4. Гольцев А.Н., Останкова Л.В., Луценко Е.Д. и др. Этиопатогенез и перспективы лечения аутоиммунной гемолитической анемии // Пробл. криобиологии.– 2002.– №4.– С. 118-126.
5. Гольцев А.Н. Возможные причины развития аутоиммунной патологии и поиск путей ее лечения // Пробл. мед. науки та освіти.– 2000.– №1.– С. 22-37.
6. Йегер И. Клиническая иммунология и алергология.– М.: Медицина, 1996.– Т.3.– С. 11-50.
7. Клаус Дж. Лимфоциты. Методы.– М.: Мир, 1990.– С. 43.
8. Максимов А.Е. Экспериментальное изучение аутоиммунной гемолитической анемии и влияние иммуномодуляторов на ее индукцию и течение // Иммунология.– 1983.– №3.– С. 53-57.
9. Подберезин М.М. Современные методы диагностики аутоиммунных гемолитических анемий // Гематология и трансфузиология.– 1998.– 43, №1.– С. 15-18.
10. Стариков А. В., Бесчастная С. П., Ломатченко А.Ф., Белая Т.И. Современные методы лечения гемолитических анемий // Врачебное дело.– 1989.– №1.– С. 52-55.
11. Системная энзимопатия / Под ред. В.И. Мазурова, А.М. Лила.–

supposition is based on the data, testifying to the fact, that the activity of regulatory cytokines (including presenting in ELCs) can be different, up to the opposite one, depending on the character of antigen charge on IS, as well as the phase of immune response development [11, 13, 16].

Thus, the data obtained testify to the fact, that under conditions of AIHA development with specific autoantibody formation, a considerable change in structural and morphological characteristics of central and peripheric LHPC organs is observed. The application of native ELCs is accompanied by these indices modification of different degree to the 13th day after AIDs initiation: from correction (PC cellularity) up to aggravation. However, in respect of specific AIHA manifestations (accumulation of antibodies) the ELCs transplantation contributed to a considerable decrease in their content, that could be characterised as the manifestation of ELCs therapeutic effect.

References

1. Ashmarin A.N., Vorobiev A.A. Statistical methods of microbiological investigations.– L.: Meditsina.– 1972.– 180 p.
2. Goltsev A.N., Lutsenko E.D., Ostankova L.V. et al. Experimental substantiation of possibility for application of products of embryofetoplacental complex (PEFPC) for treating autoimmune diseases // Imunologiya ta alergologiya.– 1999.– N3.– P. 37.
3. Goltsev A.N., Dubrava T.G., Lutsenko E.D. et al. Search for the alternative to cryopreservation methods of modifying the immune reactivity of the allomyelotransplant. II.Possible cotransplantation of embryonic liver cells // Problems of Cryobiology.– 2000.– N1.– P. 10-20.
4. Goltsev A.N., Ostankova L.V., Lutsenko E.D. et al. Etiopathogenesis and perspectives for treatment of autoimmune haemolytic anemia // Problems of Cryobiology.– 2002.–N4.– P. 118-126.
5. Goltsev A.N. Possible reasons of autoimmune pathology development and search for ways of treatment // Probl. Med. Nauki ta Osvity.– 2000.– N1.– P. 22-37.
6. Jeger I. Clinical immunology and allergology.– Moscow: Meditsina, 1996.– Vol.3.– P. 11-50.
7. Klaus G. Lymphocytes. Methods.- Moscow: Mir, 1990.– P. 43.
8. Maksimov A.E. Experimental study of autoimmune hemolytic anemia and the effect of immune modulators on its induction and course // Immunologiya.– 1983.– N3.– P. 53-57.
9. Podberезin M.M. Current methods of diagnostics of autoimmune hemolytic anaemia//Gematologiya i transfuziologiya.– 1984.- 43, N1.- P.15-18.
10. Starikov A.V., Beschastnaya S.P., Lomatchenko A.F., Belaya T.I. Current methods of treatment of hemolytic anemia // Vrachebnoe delo.– 1989.– N1.– P. 52-55.
11. Systemic enzymopathy / Ed. by Mazurova V.I., Lila A.M.– St. Petersburg: Nauka, 1996.– 206 p.
12. Trufakin V.A., Lozovoj V.P., Robinson M.V., Chigir G.N. The effect of somatotropic hormone on autoimmune reactions, induced in mice of different gene types by syngeneic warmed erythrocytes // Bull. Experim. Biologii i Meditsiny.– 1977.– N3.– P. 305-308.
13. Uteshev B.S., Sergeev A.S., Korostelev S.A. Analysis of current directions in creation of immunotropic means// Experimentalnaya i klinicheskaya farmakologiya.– 1995.– N3.– P. 3-7.

- СПб.: Наука, 1996.– 206 с.
12. Труфакин В.А., Лозовой В.П., Робинсон М.В., Чигирь Г.Н. Влияние соматотропного гормона на аутоиммунные реакции, индуцированные у мышей разных генотипов сингенными прогретыми эритроцитами // Бюл. эксперим. биол. и мед.– 1977.– №3.– С. 305-308.
 13. Утешев Б.С., Сергеев А.С., Коростелев С.А. Анализ современных направлений в создании иммуностропных средств // Эксперим. и клин. фармакология.– 1995.–№3.– С. 3-7.
 14. Papadari H.A., Gibson F.M., Rizzo S. Assessment of bone marrow stem cell reserve and function and stromal cells function in patients with autoimmune cytopenias// Blood.– 2000.– Vol. 96.– P. 3272-3275.
 15. Laufman H., Erichson R.B. Hematologic problems in surgery // W. B. Saunders company,– 1970.– P. 1-32.
 16. Pecanha L.T., Snapper C.M., Lees A. et al. II-10 inhibits T cell-independent responses in vitro// J. Immunol.– 1993.– Vol.150.– P. 3215-3223.
 17. Behrman R.E. Nelson textbook of pediatrics pocket companion // W. B. Saunders company,– 1993.– P. 285-308.
 14. Papadari H.A., Gibson F.M., Rizzo S. Assessment of bone marrow stem cell reserve and function and stromal cell function in patients with autoimmune cytopenias // Blood.– 2000.– Vol.96.– P. 3272-3275.
 15. Laufman H., Erichson R.B. Hematologic problems in surgery// W.B. Saunders company, 1970.– P. 1-32.
 16. Pecanha L.T., Snapper C.M., Lees A. et al. II-10 inhibits T cell-independent responses in vitro // J. Immunol.– 1993.– Vol. 150.– P. 3215-3223.
 17. Behrman R.E. Nelson textbook of pediatrics pocket companion // W.B. Saunders company, 1993.– P. 285-308.

Accepted in 28.01.2003

Поступила 28.01.2003