

Н.М. Гуріна, К.І. Бардахівська, Т.М. Кучмеровська

## Ефективність застосування імуносорбенту при експериментальному алергічному енцефаломієліті

*Гемоперфузия через гранулированный гемосорбент СКН, углеродный волокнистый сорбент АУВМ и иммуносорбент (СКН с иммобилизованным основным белком миелина) была использована для лечения экспериментального аллергического энцефаломиелита (ЭАЭ) у морских свинок. ЭАЭ у животных вызывали однократным подкожным введением 100 мкг ОБМ в полном адьюванте Фрейнда. Гемоперфузию выполняли в период появления характерных признаков патологии или в ее латентном периоде. Синтезированный на основе углеродной матрицы СКН иммуносорбент имеет большую терапевтическую эффективность у морских свинок с ЭАЭ по сравнению с сорбентами СКН и АУВМ. Полученный иммуносорбент удаляет из сыворотки крови морских свинок с ЭАЭ до 32 % анти-ОБМ-антител, сохраняет до 84 и 90 % поглотительной емкости по отношению к мало- и среднемолекулярным соединениям эндогенного происхождения соответственно и снижает на 36 % содержание компонентов с молекулярной массой до 30 кДа в плазме крови.*

### ВСТУП

Розсіяний склероз – найпоширеніше демієлінізуюче захворювання центральної нервової системи (ЦНС) людини, в патогенезі якого важливу роль відіграють аутоімунні процеси. Інтенсивність утворення осередків демієлінізації в ЦНС значною мірою залежить від активності нейроаутоімунного процесу, який відбувається за участю стимульованих лімфоцитів і гліальних клітин. В осередках активної демієлінізації в мозку виявлено IL-2-R<sup>+</sup>-лімфоцити, інтерлейкін-1, інтерлейкін-2, фактор некрозу пухлин  $\alpha$ , лімфотоксин, простагландин, а також накопичення IgG та C9-компонента системи комплементу, тобто маркерів кінцевої стадії лізису [11, 16]. Проте основним чинником розвитку первинної демієлінізації вважають утворення аутоантитіл проти структурних білків мієлінової оболонки і насамперед, проти основного білка мієліну (ОБМ) і глікопротеїну олігодендроцитів [9, 12, 17]. При цьому спостерігається поява вільних анти-

© Н.М. Гуріна, К.І. Бардахівська, Т.М. Кучмеровська

ОБМ-антитіл у сироватці крові, що корелює з формуванням осередків запалення в тканині мозку, які виявляються магніто-резонансною томографією, та підвищенням вмістом IgG у спинномозковій рідині на стадії загострення у хворих на розсіяний склероз [9, 12]. Більше того, вміст анти-ОБМ-антитіл вважають не лише маркером демієлінізації, а й основним критерієм прогнозування активності патологічного процесу, а також вірогідності захворювання на розсіяний склероз у пацієнтів з так званим клінічно ізольованим синдромом – першими проявами демієлінізації [5, 17]. Нині доведено, що анти-ОБМ-антитіла виявляють протеолітичну активність до ОБМ і таким чином безпосередньо беруть участь у деструкції мієлінової оболонки, сприяючи перебігу аутоімунних процесів [4].

Певна обмеженість ефективності традиційної імуносупресивної та імуномодуючої терапії, особливо у хворих на прогресивну та ремітуючо-прогресивну форми розсіяного склерозу, з одного боку, та дані відносно високих титрів анти-ОБМ-

антитіл і антитіл проти глікопротеїну олігодендроцитів у таких пацієнтів, з іншого, стали основою для розробки нових, більш безпечних підходів до терапії цього захворювання. Одним із перспективних напрямків лікування розсіяного склерозу вважають використання еферентних методів – плазмаферезу, цитаферезу, лікворофільтрації, фотоферезу, імуносорбції [3, 6, 13]. Їх застосування дає змогу ефективно знизити вміст імуноглобулінів, циркулюючих імунних комплексів, С3-компонента системи комплементу [3, 13] і навіть селективного вилучення з циркуляції аутоантитіл [13] і специфічних клонів CD4<sup>+</sup> Т-лімфоцитів [14].

Мета нашої роботи – розробка нового імуносорбенту для лікування експериментального алергічного енцефаломієліту у морських свинок і порівняння терапевтичної ефективності його застосування з гемоперфузією через неспецифічні вуглецеві сорбенти.

## МЕТОДИКА

Досліди проводили на безпорідних морських свинках обох статей масою 300–400 г. Експериментальний алергічний енцефаломієліт (ЕАЕ) у тварин викликали одноразовим введенням підшкірно (в подушечки задніх лапок) 100 мкг ОБМ у суміші з 0,2 мл повного ад'юванта Фрейнда. Антиген одержували з очищеної фракції загального мієліну, який виділяли з білої речовини головного мозку бика [2]. Гомогенність отриманого білка контролювали методом електрофорезу в поліакриламідному гелі, а процес демієлінізації нервової тканини – за допомогою електронної мікроскопії.

Морських свинок було розділено на 8 груп. Контрольну групу (I, n=8), склали тварини, яким не проводили лікування. До II–VIII груп ввійшли морські свинки, яким здійснювали гемоперфузію. Тваринам з характерними ознаками ЕАЕ (II, n=5, III, n=4, IV, n=4, VIII, n=5) використовували

сорбенти СКН, АУВМ, хірургічний шовк і імуносорбент відповідно. Морським свинкам у латентному періоді ЕАЕ (11-та доба після сенсibiliзації), (V, n=4, VI, n=4 і VII, n=5), використовували сорбенти СКН, АУВМ і імуносорбент відповідно.

Реєстрували появу характерних неврологічних ознак ЕАЕ у тварин, тривалість патологічного процесу та його тяжкість за шкалою Sedgwick і співавт. [15], а саме: відсутність видимих клінічних проявів – 0 балів; початок втрати маси тіла (менше 10 % від початкової) – 1 бал; незначна слабкість кінцівок, подальша втрата маси тіла (більше ніж 10 % від початкової), утруднення при поворотах, тремор – 2 бали; парези задніх кінцівок, порушення функції тазових органів – 3 бали; параліч однієї задньої кінцівки, нетримання сечі та калу – 4 бали; параліч двох задніх кінцівок, загальне виснаження – 5 балів.

Гемоперфузію морським свинкам проводили під загальним наркозом (1,0 мл/кг 5%-го розчину кетаміну (“Richter Gedeon Ltd”, Угорщина) з премедикацією (0,2 мл 0,5%-го розчину седуксену (“Richter Gedeon Ltd”, Угорщина) і 0,1 мл 0,1%-го розчину метацину (АТ “ІСН Октябрь”, Російська Федерація) та місцевою анестезією 0,25%-м розчином новокаїну (ТОВ “Юрія-Фарм”, Україна). У стерильних умовах виділяли шийні судини (сонну артерію та яремну вену) та вводили у них катетери (“Vygon”, Франція) діаметром 0,6–0,9 мм, які з'єднували з системою для гемоперфузії, що включала перистальтичний насос, перфузійну колонку (шприц типу “рекорд” з поршнем з органічного скла), силіконові трубки та повітряну пастку. Тваринам вводили гепарин (“Richter Gedeon Ltd”, Угорщина) у дозі 500 МО/кг. Циркуляцію крові здійснювали по артеріо-венозному контуру зі швидкістю 1,8–2,0 мл/хв у 3 загальних об'ємах циркулюючої крові тварини. Процедури тривали 30–45 хв. Як гемосорбент використовували гранульований вуглецевий сорбент СКН, вугле-

цевий волокнистий сорбційний матеріал АУВМ та імуносорбент (СКН з іммобілізованим ОБМ). Об'єм заповнення колонки гранульованим гемосорбентом СКН або імуносорбентом був  $7,0 \text{ см}^3$ . Маса волокнистого сорбенту для однієї гемоперфузії становила 1,2 г. У контролі гемоперфузію проводили з використанням стерильного хірургічного шовку як матеріал для контакту з кров'ю. Перед гемоперфузією сорбенти та шовк обробляли протягом 30 хв стерильним фізіологічним розчином, який містив 2000 МО гепарину. Об'єм заповнення кров'ю колонок для гемоперфузії становив  $3\text{--}4 \text{ см}^3$ . Після проведення гемоперфузії катетери видаляли, на судини накладали лігатури, а рану зашивали пошарово.

Імуносорбент отримували іммобілізацією ОБМ на матриці СКН у реакції ковалентного сполучення за наявності водорозчинного 1-етил-3-(3-диметиламінопропіл)карбодііміду [8]. Синтезований імуносорбент відмивали від ОБМ, що не зв'язався, а також від продуктів реакції послідовно фосфатним буфером та  $0,15 \text{ моль/л}$  розчином NaCl, забуференим фосфатами до рН 7,2. Кількість іммобілізованого антигена, яку визначали за різницею його вмісту в розчині до та після реакції за загальноприйнятим методом Лоурі, становила близько 1 мг білка/г вуглецевої матриці. Міцність утримання ліганда матрицею оцінювали в спеціальних експериментах, використовуючи елюцію дансильованого ОБМ послідовно розчинами різної іонної сили ( $0,15 \text{ моль/л}$  NaCl;  $1 \text{ моль/л}$  NaCl;  $8 \text{ моль/л}$  карбомід) з наступною флуориметрією на детекторі 420-АС ("Millipore-Waters", США). Специфічну активність імуносорбенту визначали за його здатністю вилучати анти-ОБМ-антитіла з сироваток крові морських свинок з ЕАЕ. Вміст антитіл проти ОБМ у сироватці крові визначали за допомогою твердофазного неконкурентного імуноферментного аналізу [10]. Як контрольний імуносорбент для оцінки

специфічності зв'язування анти-ОБМ-антитіл використовували карбонізат СКН<sub>к</sub> з іммобілізованим ОБМ, який за результатами порометрії має структуру з мінімальним об'ємом сорбційних мезопор і тому може проявляти головним чином біоспецифічну функцію. Перфузію здійснювали через колонку з об'ємом сорбенту  $1,8 \text{ см}^3$  і швидкістю  $0,2 \text{ мл/хв}$ ; об'єм перфuzованої сироватки становив 3,6 мл на колонку. Компоненти, молекулярна маса яких була до 30 кДа, виділяли з плазми крові морських свинок методом ультрафільтрації на приладі моделі 8 МС ("Amicon", США). Використовували мембранні фільтри РТ-30 ("Amicon", США), діапазон пропускання пор яких становив до 30 кДа. Одразу після фільтрації проводили хроматографічний аналіз ультрафільтратів методом високоефективної рідинної хроматографії на колонці "Protein-pak"60 ("Millipore-Waters", США). Як рухоми фазу використовували  $0,2 \text{ моль/л}$  фосфатний буфер (рН 7,1) при швидкості елюції  $0,5 \text{ мл/хв}$ . Елюати реєстрували при довжині хвилі детектора 229 нм. Площу піків вимірювали за допомогою автоматичного інтегратора "Datamodule 730". Неспецифічні характеристики поглинання сорбентів визначали за кінетикою адсорбції з водних розчинів маркерних сполук малої та середньої молекулярної маси: креатиніну (113 Да), сечової кислоти (168 Да), ціанокобаламіну (1355 Да). Концентрацію сорбатів у розчині оцінювали спектрофотометричним методом. Об'єм сорбційних пор вугілля визначали екдикаторним методом за бензолом, а питому площу поверхні пор – за методом теплової десорбції азоту [1].

Статистичний аналіз результатів проводили з використанням критерію t Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У морських свинок, як правило, на 15–21-шу добу після сенсibilізації ОБМ розви-

валися характерні клінічні ознаки ЕАЕ: втрата маси тіла, кволість, тремор, атаксія, порушення функцій тазових органів з наступним розвитком спастичних парезів і паралічів кінцівок, переважно задніх. У більшості тварин неврологічні порушення прогресували дуже швидко, протягом кількох годин, і через 2–5 діб після появи перших симптомів захворювання морські свинки гинули. Середня тривалість життя тварин, яким не проводили лікування була, 20–25 діб (I група).

Дослідники при виконанні експериментальної гемоперфузії зазвичай здійснюють катетеризацію стегнових судин. Утім при розвитку характерних проявів ЕАЕ, а саме парезів і паралічів задніх кінцівок, цей підхід непридатний через значні патологічні зміни у кровоносних судинах тварин. Тому ми застосовували доступ до шийних судин – сонної артерії та зовнішньої яремної вени. Ефект наркозу досягався на 5–7-ту хвилину після введення кетаміну, при цьому катетеризація шийних судин і процедура екстракорпоральної детоксикації у морських свинок не супроводжувалися вегетативними розладами, оскільки базисний анестетик кетамін крім анельгезуючої дії спричиняв також стимулювальний вплив на серцево-судинну систему та не пригнічував діяльність дихальної системи тварин. На рис. 1 представлено схему загального вигляду масообмінника (колонки), який було розроблено нами для проведення гемоперфузії у морських свинок.

У тварин II групи через добу після процедури спостерігали відновлення рухової активності, однак надалі у них розвивалися парези та паралічі і через 4–12 діб після гемоперфузії вони гинули. Аналогічний короткочасний ефект еферентної терапії спостерігали і при застосуванні як сорбенту вуглецевого волокнистого матеріалу АУВМ (III група). Тривалість життя тварин цієї групи також становила 2–11 діб після гемоперфузії. На

рис. 2 представлено динаміку регресії характерних неврологічних ознак ЕАЕ у морських свинок після проведення гемоперфузії через різні сорбенти. У IV групі тварин для заповнення масообмінника використовували хірургічний шовк, який кріпили на стрижні масообмінника. У них після проведення гемоперфузії не спостерігали будь-якої регресії інтенсивності парезів – характерні ознаки хвороби зберігались і тварини гинули на 18–24-ту добу після сенсibiliзації антигеном. У разі проведення гемоперфузії через сорбенти СКН та АУВМ (V, VI групи) у латентному періоді розвитку ЕАЕ було отримано стійкий терапевтичний ефект. Незважаючи на те, що на 18–19-ту добу після сенсibiliзації з'являлись окремі ознаки захворювання – зниження маси тіла, уповільненість рухів, незначний розлад їх координації, а також порушення функцій тазових органів, – на 29–31-шу добу стан тварин нормалізувався без будь-яких

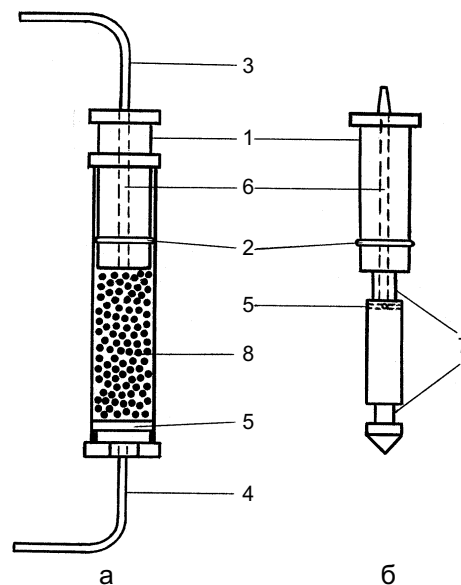


Рис. 1. Загальний вигляд масообмінника для заповнення гранульованим сорбентом (а) та поршень для фіксації волокнистого сорбенту (б): 1 – поршень, 2 – резинова прокладка, 3, 4 – силіконові трубки при вході та на виході з масообмінника відповідно, 5 – волокнистий фільтр, 6 – внутрішній канал поршня для протоку крові, 7 – місце фіксації волокнистого матеріалу, 8 – гранули гемосорбенту СКН або імуносорбенту

додаткових чинників (див. рис. 2 в,г). Спостереження за морськими свинками цих груп протягом року не виявило характерних ознак ЕАЕ.

Після проведення гемоперфузії у морських свинок у латентному періоді розвитку ЕАЕ із застосуванням імуносорбенту (VII група) на 17–18-ту добу після сенсibilізації відмічали лише незначну втрату маси тіла тварин без появи інших ознак патологічного процесу. На 20–21-шу добу маса тіла відновлювалась, і надалі ознак, які б свідчили про розвиток ЕАЕ, не спостерігали.

Гемоперфузія у тварин за наявності характерних неврологічних ознак ЕАЕ через синтезований імуносорбент (VIII група) призводила до відновлення рухової активності через добу після її проведення (див. рис. 2, д). На 10–12-ту добу після гемоперфузії у тварин спостерігали загострення демієлінізуючого процесу з появою неврологічних симптомів ЕАЕ. Проте

протягом наступних 10 діб відбувалася регресія неврологічних ознак із подальшим переходом у тривалу ремісію без наступного загострення процесу.

У інтактних тварин гемоперфузія викликала лише незначну втрату маси тіла в період перших трьох діб після її проведення.

Розвиток демієлінізуючого процесу в тканині ЦНС морських свинок після їх сенсibilізації гетерологічним ОБМ з мозку бика супроводжувався підвищенням вмісту анти-ОБМ-антитіл у сироватці крові в 6 разів уже в пізньому латентному періоді ЕАЕ (10-та доба; рис. 3). У період появи характерних ознак патології – парезів і паралічів (18-та доба) – вміст вільних антитіл був вищим у 8 разів щодо значень у інтактних тварин. Після перфузії сироваток крові морських свинок з ЕАЕ через імуносорбент вміст анти-ОБМ-антитіл знизився на 31–33 % ( $P < 0,01$ ; див. рис. 3).

Про специфічний характер сорбції свідчили результати, які отримані при перфузії сироваток крові тварин через контрольний імуносорбент (карбоніат СКН<sub>к</sub> з ковалентно іммобілізованим ОБМ). Малопористі вуглецеві сорбенти (так звані карбонізати) після іммобілізації на їхній поверхні біомолекул проявляють здатність переважно до специфічної сорбції, тоді як неспецифічна сорбція на них розчинених речовин середньої та великої молекулярної маси практично відсутня [1]. Це і зумовило використання карбонізата СКН<sub>к</sub> з іммобілізованим ОБМ як контрольного імуносорбенту на специфічність зв'язування анти-ОБМ-антитіл. У наших експериментах рівень адсорбції анти-ОБМ-антитіл на контрольному імуносорбенті становив у середньому 32 % (див. рис. 3).

Клінічні симптоми, бали

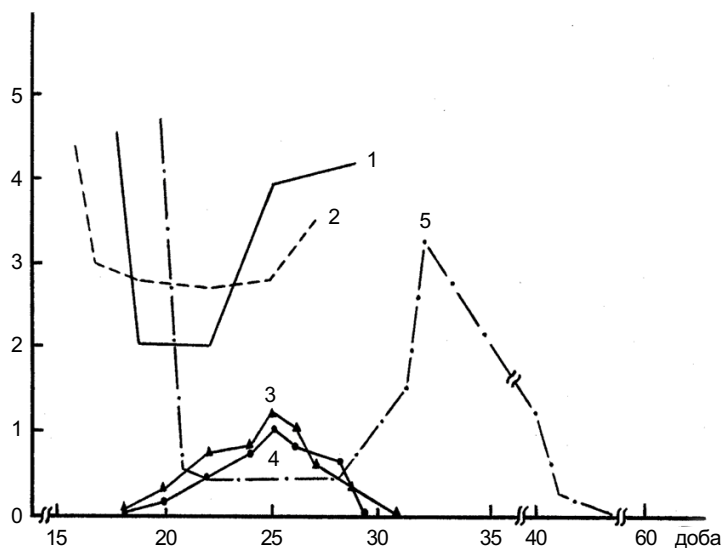


Рис. 2. Динаміка розвитку характерних неврологічних ознак експериментального алергічного енцефаломієліту (ЕАЕ) у морських свинок після проведення гемоперфузії (ГП) через вуглецеві сорбенти: 1 – ГП за наявності характерних ознак ЕАЕ через гемосорбент СКН, 2 – ГП за наявності характерних ознак ЕАЕ через сорбент АУВМ, 3 – ГП у латентному періоді розвитку ЕАЕ через гемосорбент СКН, 4 – ГП у латентному періоді розвитку ЕАЕ через сорбент АУВМ, 5 – ГП за наявності характерних ознак ЕАЕ через імуносорбент

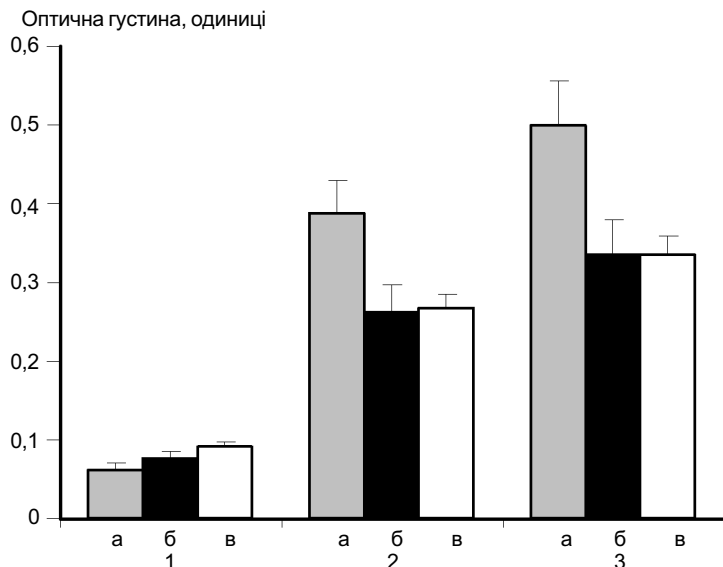


Рис. 3. Сорбція анти-ОБМ-антитіл на імуносорбентах: 1 – сироватка крові інтактних морських свинок, 2 – сироватка крові морських свинок з експериментальним алергічним енцефаломієлітом (10-та доба), 3 – 18-та доба; а – до гемоперфузії, б – після гемоперфузії через карбоніат гемосорбенту СКН (СКН<sub>к</sub> з іммобілізованим основним білком мієліну), в – після гемоперфузії через імуносорбент (СКН з іммобілізованим основним білком мієліну)

Таким чином, отримані нами результати дають підставу вважати, що рівень адсорбції анти-ОБМ-антитіл на синтезованому імуносорбенті був зумовлений специфічною взаємодією антитіл з іммобілізованим антигеном.

Іммобілізація ОБМ на вуглецевій матриці СКН призвела до зниження адсорбції

маркерних сполук малої та середньої молекулярної маси імуносорбентом, а саме креатиніну, сечової кислоти та ціанокобаламіну на 13, 17 та 10 % відповідно (табл.1), тобто до незначної втрати неспецифічної сорбційної ємкості.

У плазмі крові морських свинок з характерними ознаками ЕАЕ в динаміці гемоперфузії та через добу після неї визначали вміст компонентів з молекулярною масою до 30 кДа, до складу яких, як прийнято вважати, входять метаболіти, що мають відношення до формування синдрому ендогенної інтоксикації. Після гемоперфузії через досліджувані сорбенти в одному об'ємі циркулюючої крові вміст цих компонентів в ультрафільтратах плазми крові тварин збільшився на 18–

26 % ( $P < 0,05$ ), в двох об'ємах – вірогідно не відрізнявся від показника до її початку (табл. 2). Однак через 1 год та 1 добу після гемоперфузії вміст компонентів крові з молекулярною масою до 30 кДа вірогідно зменшився на 33–44 та 36–44 % відповідно в порівнянні з їх вмістом до гемоперфузії.

Таблиця 1. Структурно-сорбційні характеристики та показники неспецифічної сорбції імуносорбентів

Сорбент	Структурно-сорбційні показники		Показники сорбції маркерних сполук		
	Питома площа поверхні, $S_{\text{плт.}}$ , м <sup>2</sup> /г	Об'єм сорбційних пор, $V_s$ , за бензолом, см <sup>3</sup> /г	Креатинін, мкмоль/г (С <sub>почат.</sub> = 1,33 ммоль/л)	Сечова кислота, мкмоль/г (С <sub>почат.</sub> = 2,98 ммоль/л)	Ціанокобаламін, мкмоль/г (С <sub>почат.</sub> = 24,6 мкмоль/л)
<b>Матриці</b>					
карбоніат гемосорбенту СКН (СКН <sub>к</sub> )	70	0,15	35,3	121,4	0,25
гемосорбент СКН	1250	0,70	70,0	154,2	1,47
<b>Імуносорбенти</b>					
СКН <sub>к</sub> з іммобілізованим основним білком мієліну	45	0,10	10,1	97,0	0,12
СКН з іммобілізованим основним білком мієліну	250	0,45	61,0	128,6	1,33

**Таблиця 2. Вміст компонентів із молекулярною масою до 30 кДа в ультрафільтратах плазми крові морських свинок з характерними ознаками експериментального алергічного енцефаломієліту до та після гемоперфузії (ум. од. площі хроматографічних піків  $\times 10^6$ ,  $M \pm m$ )**

Схема досліджу	Гемосорбент СКН (n=5)	Сорбент АУВМ (n=4)	Імуносорбент (СКН з іммобілізованим основним білком мієліну) (n=5)
До гемоперфузії	5,56±0,68	4,98±0,39	5,34±0,18
Після проходження циркулюючої крові			
1 об'єму	7,01±0,54*	5,93±0,29*	6,29±0,68*
2 об'ємів	5,87±0,48	5,07±0,33	5,68±0,42
Після гемоперфузії			
через 1 год	3,71±0,66*	2,79±0,44*	3,51±0,29*
через 1 добу	3,24±0,70*	2,81±0,60*	3,44±0,51*

\*  $P < 0,05$  вірогідність відмінностей між показниками до та після проведення гемоперфузії.

При цьому профілі елюції ультрафільтратів плазми крові тварин до, під час проведення та після гемоперфузії були якісно ідентичні та мали лише кількісні відмінності компонентів. Імуносорбентом поглиналася менша кількість досліджуваних компонентів, оскільки деяка частина поверхні сорбційних пор на ньому вже була зайнята ОБМ, молекулярна маса якого становить приблизно 18,5 кДа. Отримані результати вказують, що нетривалий позитивний ефект гемоперфузії через неспецифічні сорбенти СКН та АУВМ у тварин за наявності характерних ознак ЕАЕ може бути результатом детоксикації, а саме зменшення метаболічного навантаження внаслідок зниження так званих “середньомолекулярних” компонентів у плазмі крові.

Таким чином, синтезований імуносорбент є біфункціональним, тобто таким, що виявляє як специфічні сорбційні властивості відносно анти-ОБМ-антитіл, так і неспецифічні – відносно, перш за все, метаболітів, вміст яких у крові перевищує фізіологічну норму. Можна припустити, що більша терапевтична ефективність цього сорбенту щодо неврологічних проявів ЕАЕ є результатом видалення із системної циркуляції тварин не лише анти-ОБМ-антитіл, а й специфічних клонів лімфо-

цитів, що мають на своїй мембрані рецептори проти ОБМ. Такий підхід був застосований Nakane і співавт. [17] для вилучення специфічних клонів CD4<sup>+</sup> Т-лімфоцитів за допомогою цитаферезу з використанням фільтрів з іммобілізованими анти-CD4<sup>+</sup>-антитілами при ЕАЕ у шурів. Той факт, що період ремісії у хворих на розсіяний склероз корелює саме із зниженням у циркуляції вмісту вільних анти-ОБМ-антитіл [18], дає змогу стверджувати, що синтезований нами імуносорбент може стати основою для розробки еферентного засобу для імунокорекції при розсіяному склерозі.

## ВИСНОВКИ

1. Імуносорбент, синтезований ковалентною іммобілізацією ОБМ на вуглецевій матриці СКН, має більшу терапевтичну ефективність у морських свинок із ЕАЕ у порівнянні з сорбентами СКН та АУВМ.

2. Отриманий імуносорбент видаляє із сироватки крові морських свинок із ЕАЕ до 32 % анти-ОБМ-антитіл, зберігає до 84 та 90 % поглинальної ємності відносно мало- та середньомолекулярних сполук ендogenous походження відповідно, і знижує на 36 % вміст компонентів з молекулярною масою до 30 кДа у плазмі крові.

**N.M. Gurina, K.I. Bardakhivska,  
T.M. Kuchmerovska**

### **EFFICACY OF IMMUNOADSORBENT IN EXPERIMENTAL ALLERGIC ENCEPHALOMYELITIS**

Hemoperfusion through the granulated hemoabsorbent SCN, fibrous carbonic adsorbent AUVM and immunoadsorbent (SCN with immobilized MBP) was applied for the treatment of experimental allergic encephalomyelitis (EAE) in guinea pigs. EAE was induced by single subcutaneous injection of 100 µg of MBP in complete Freund's adjuvant. Hemoperfusion was performed on the stage of EAE manifestation or in latent period. It was found that immunoadsorbent has the highest therapeutic efficacy and allows to eliminate up to 32% anti-MBP antibodies from the serum of guinea pigs with EAE, has up to 84% and 90% of adsorptive capacity of small and middle weight endogenous substances, respectively, and reduces the level of metabolites with molecular weight less than 30 kDa in blood plasma up to 36%.

*R.E.Kavetsky Institute of Experimental Pathology,  
Oncology & Radiobiology, National Academy of Sciences  
of Ukraine, Kyiv;*

*O.V.Palladin Institute of Biochemistry, National Academy  
of Sciences of Ukraine, Kyiv*

### **СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Бакалинская О.Н., Сухаренко Н.В., Стрелко В.В. и др. Сорбционные свойства углеродных гемосорбентов с иммобилизованными белками // Укр. хим. журн. – 1989. – **55**, №12. – С.1273–1276.
2. Палладин А.В., Терлецкая Я.Т., Козулина Е.П. Белки структурных образований ткани головного мозга // Укр. биохим. журн. – 1970. – **42**, №2. – С.144–154.
3. de Andres C., Anaya F., Gimenez – Roldan S. Plasma immunoadsorption treatment of malignant multiple sclerosis with severe and prolonged relapses // Rev. Neurol. – 2000. – **30**, №7. – P.601–605.
4. Belogurov A.A.Jr., Kurkova I.N., Friboulet A. et al. Recognition and degradation of myelin basic protein peptides by serum autoantibodies: novel biomarker for multiple sclerosis // J. Immunol. – 2008. – **180**, №2. – P.1258–1267.
5. Berger T., Rubner P., Schautzer F. et al. Antimyelin antibodies as a predictor of clinically definite multiple sclerosis after a first demyelinating event // N. Engl. J. Med. – 2003. – **349**, №2. – P.139–145.
6. Braun N., Bosch Th. Immunoadsorption, current status

- and future developments // Exp. Opin. Invest. Drugs. – 2000. – **9**, №9. – P.2017–2038.
7. Cavaletti G., Perseghin P., Dassi M. et al. Extracorporeal photochemotherapy reduces the severity of Lewis rat experimental allergic encephalomyelitis through a modulation of the function of peripheral blood mononuclear cells // J. Biol. Regul. Homeost. Agents. – 2004. – **18**, №1. – P.9–17.
8. Cho Y.K., Baily J.E. Immobilization of enzymes on activated carbon: Selection and preparation of the carbon support // Biotechnol. and Bioeng. – 1979. – **21**, №3. – P.461–476.
9. Egg R., Reindl M., Deisenhammer F. et al. Anti-MOG and anti-MBP antibody subclasses in multiple sclerosis // Mult. Scler. – 2001. – **7**, №5. – P.285–289.
10. Irie H., Sanai J., Nagai Y. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for anti-myelin basic protein antibody and its application to studies of experimental allergic encephalomyelitis // Jap. J. Exp. Med. – 1981. – **51**, №4. – P.201–208.
11. Keegan B.M., Noseworthy J.H. Multiple sclerosis // Annu. Rev. Med. – 2002. – **53**. – P.285–302.
12. Kuhle J., Lindberg R.L., Regeniter A. et al. Antimyelin antibodies in clinically isolated syndromes correlate with inflammation in MRI and CSF // J. Neurol. – 2007. – **254**, №2. – P.160–168.
13. Moldenhauer A., Haas J., Wascher C. et al. Immunoadsorption patients with multiple sclerosis: an open-label pilot study // Eur. J. Clin. Invest. – 2005. – **35**, №8. – P.523–530.
14. Nakane S., Matsuo H., Goto H. et al. Cytapheresis with a filter for selective removal of CD4+ T cells in experimental allergic encephalomyelitis // Mult. Scler. – 2003. – **9**, №6. – P.579–584.
15. Sedgwick J., Brostoff S., Mason D. Experimental allergic encephalomyelitis in the absence of a classical delayed-type hypersensitivity reaction. Severe paralytic disease correlates with the presence of interleukin 2 receptor-positive cells infiltrating the central nervous system // J. Exp. Med. – 1987. – **165**, №4. – P.1058–1075.
16. Storch M.K., Piddlesden S., Haltia M. et al. Multiple sclerosis: in situ evidence for antibody and complement-mediated demyelination // Ann. Neurol. – 1998. – **43**. – P.465–471.
17. Tomassini V., De Giglio L., Reindl M. et al. Anti-myelin antibodies predict the clinical outcome after a first episode suggestive of MS // Mult. Scler. – 2007. – **13**, №9. – P.1086–1094.
18. Warren K.G., Catz I. The effect of intrathecal MBP synthetic peptides containing epitope P85 VVHFFK-NIVTP96 on free anti-MBP levels in acute relapsing multiple sclerosis // J. Neurol. Sci. – 1997. – **148**, №1. – P.67–78.

*Ін-т експерим. патології, онкології та радіобіології ім.*

*Р.С. Кавецького НАН України, Київ;*

*Ін-т біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, Київ*

*E-mail: luna@onconet.kiev.ua*

*Матеріал надійшов до  
редакції 31.03.2008*