

---

doi: <https://doi.org/10.15407/dopovidi2017.06.088>

УДК 612.017:677.345:616-089.843-092.9

**І.П. Пастер<sup>1</sup>, Л.А. Баранова<sup>1</sup>, Н.М. Дмитруха<sup>2</sup>, О.С. Лагутіна<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> ДУ “Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України”, Київ

<sup>2</sup> ДУ “Інститут медицини праці НАМН України”, Київ

E-mail: [pasteur@ukr.net](mailto:pasteur@ukr.net); [dmytrukha@ukr.net](mailto:dmytrukha@ukr.net)

## **Імунологічні реакції щурів на трансплантацію альгінатних мікрокапсул**

*Представлено членом-кореспондентом НАН України І.М. Трахтенбергом*

*Трансплантація альгінатних мікрокапсул щурам призводить до ряду імунологічних реакцій, що свідчить про необхідність додаткового очищення комерційного біополімеру перед його застосуванням в експериментах на тваринах.*

**Ключові слова:** альгінатні мікрокапсули, щури, трансплантація, імунологічні реакції.

Важливою проблемою сучасної медицини є компенсація гіпофункціонального стану ендокринних органів. Поряд з медикаментозним лікуванням гіпофункцій активно впроваджують метод трансплантації відповідних органів, тканин і клітин. Для запобігання реакції відторгнення трансплантату застосовують як супресивну терапію, так і метод його мікроінкапсуляції в капсули з напівпроникними мембранами [1]. Такі капсули проникні для гормонів, поживних речовин і кисню, але не проникні для компонентів імунної системи.

Для виготовлення мікрокапсул застосовують альгінат, отриманий із свіжозбираних морських водоростей або вирощений у біореакторі з використанням генетично модифікованих спорофітів [1]. Функціональні властивості альгінату як матриксу для іммобілізації фрагментів тканин і клітин жорстко корелюють з його складом та структурою.

Для практичного застосування методу мікроінкапсуляції трансплантата необхідно попереднє проведення доклінічних випробувань альгінатних мікрокапсул (АМК), як обов'язкового та одного з найважливіших етапів створення лікарських засобів [2]. Відповідне виконання всього комплексу дослідницьких процедур та операцій з вивчення нешкідливості та специфічної активності АМК гарантує в подальшому їх безпечність і високу терапевтичну ефективність за умов клінічного застосування.

Законодавство з контролю за хімічними сполуками, прийняте країнами-членами Організації з економічного співробітництва та розвитку, вимагає від виробника проведення лабораторних випробувань і надання результатів цих випробувань уповноваженим державним органам для оцінки потенційної небезпечності для здоров'я людини та навколишнього

© І.П. Пастер, Л.А. Баранова, Н.М. Дмитруха, О.С. Лагутіна, 2017

середовища препаратів, що виробляються [2]. Основний принцип цього законодавства полягає в тому, що оцінка потенційної небезпеки, пов'язаної з дією хімічних речовин, повинна базуватися на даних випробувань гарантованої якості.

Водночас використання альгінату в фармацевтичній та/або біомедичній галузях вимагає також обов'язкової відповідності всіх компонент мікрокапсул критеріям безпеки American Society for Testing and Materials та US Food and Drug Administration [3].

Імунна система є високочутливою до дії багатьох ксенобіотиків, що може виявитися в порушеннях маси, клітинності, складу та гістологічної структури лімфоїдних органів: тимуса, кісткового мозку, селезінки, лімфатичних вузлів, периферичної крові [2]. При цьому можуть пошкоджуватись як самі клітини, так і взаємодії між ними, що призводить до порушення імунної функції, підвищення чутливості до інфекційних агентів та появи злоякісних пухлин.

Оскільки імунна система є однією з надчутливих і швидко реагуючих, зміни показників імунітету можуть бути визнані ранніми критеріями прояву негативного впливу різних речовин на організм людини та піддослідних тварин [4].

Мета дослідження полягала у вивченні імунологічних реакцій щурів на трансплантацію альгінатних мікрокапсул.

**Експериментальна частина.** АМК виготовляли за допомогою генератора мікрокапсул дослідного виробництва "Philipps-University" (Німеччина) з використанням комерційного альгінату (A-7128, "Sigma", США) за стандартним методом [4]. Для цього через перший канал генератора мікрокапсул пропускали 1,0 %-й розчин альгінату; через другий канал — повітря зі швидкістю 8–10 л/хв. З вихідного отвору генератора АМК діаметром приблизно 2 мм потрапляли в гелеутворюючий розчин хлориду кальцію ("Sigma", США) з концентрацією 100 ммоль/л для перехресного зв'язування карбоксильних груп мануронової та гулууронової кислот альгінату, в якому їх інкубували протягом 10–15 хв і промивали кілька разів 0,9 %-м розчином хлориду натрію.

Щурам дослідної групи внутрішньоочередово трансплантували по 5 АМК під ефірним наркозом. Тваринам контрольної групи виконували удавану операцію під ефірним наркозом без трансплантації АМК.

Загальний аналіз крові з підрахунком лейкоцитарної формули виконували стандартним методом [6].

Фагоцитарну активність нейтрофілів крові та макрофагів перитонеального ексудату до часточок полістиролового латексу ( $d = 1,5$  мкм) визначали за даними фагоцитарного індексу (ФІ — відсоток клітин, що беруть участь у фагоцитозі) і фагоцитарного числа (ФЧ — середнє значення часточок латексу, поглинутих одним фагоцитом) [7, 8].

Бактерицидну активність (окисно-відновний потенціал) нейтрофілів крові та макрофагів перитонеального ексудату визначали за даними спонтанного і стимульованого латексом тесту відновлення нітросинього тетразолію (НСТ-тест) [7, 8].

Вміст циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) у сироватці крові тварин визначали в реакції преципітації з поліетиленгліколем ( $M = 6000$ ) у концентраціях 3,5 % (ЦІК високомолекулярні) і 7,0 % (ЦІК низькомолекулярні) [7, 8].

До початку дослідження було отримано позитивне рішення Комісії з етики ДУ "Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України". Усі дослідження на

Таблиця 1. Зміни клітинного складу периферичної крові щурів за умови трансплантації альгінатних мікрокапсул ( $M \pm m$ ,  $n = 7$ )

| Показники                 | Одиниці виміру         | 17-та доба спостереження |                  | 31-ша доба спостереження |                   |
|---------------------------|------------------------|--------------------------|------------------|--------------------------|-------------------|
|                           |                        | Контрольна група         | Дослідна група   | Контрольна група         | Дослідна група    |
| Лейкоцити                 | $\times 10^9/\text{л}$ | 16,49 $\pm$ 1,72         | 17,40 $\pm$ 1,62 | 13,83 $\pm$ 0,91         | 10,01 $\pm$ 0,60* |
| Лімфоцити                 | $\times 10^9/\text{л}$ | 10,46 $\pm$ 0,56         | 10,29 $\pm$ 0,19 | 7,35 $\pm$ 0,32          | 3,86 $\pm$ 0,39   |
|                           | %                      | 63,43 $\pm$ 3,41         | 59,14 $\pm$ 1,12 | 53,14 $\pm$ 2,28         | 38,57 $\pm$ 3,86* |
| Моноцити                  | $\times 10^9/\text{л}$ | 1,86 $\pm$ 0,24          | 2,39 $\pm$ 0,21  | 2,57 $\pm$ 0,32          | 1,90 $\pm$ 0,27   |
|                           | %                      | 11,29 $\pm$ 1,48         | 13,71 $\pm$ 1,23 | 18,57 $\pm$ 2,28         | 19,00 $\pm$ 2,73  |
| Сегментоядерні нейтрофіли | $\times 10^9/\text{л}$ | 3,13 $\pm$ 0,30          | 3,85 $\pm$ 0,16  | 3,60 $\pm$ 0,33          | 3,85 $\pm$ 0,21   |
|                           | %                      | 19,00 $\pm$ 1,84         | 22,14 $\pm$ 0,91 | 26,00 $\pm$ 2,38         | 38,43 $\pm$ 2,05* |
| Паличкоядерні нейтрофіли  | $\times 10^9/\text{л}$ | 0,28 $\pm$ 0,06          | 0,52 $\pm$ 0,05  | 0,06 $\pm$ 0,03          | 0,14 $\pm$ 0,07   |
|                           | %                      | 1,71 $\pm$ 0,36          | 3,00 $\pm$ 0,31* | 0,43 $\pm$ 0,20          | 1,43 $\pm$ 0,65   |
| Базофіли                  | $\times 10^9/\text{л}$ | 0,14 $\pm$ 0,04          | 0,10 $\pm$ 0,05  | 0,04 $\pm$ 0,02          | 0,06 $\pm$ 0,02   |
|                           | %                      | 0,86 $\pm$ 0,26          | 0,57 $\pm$ 0,30  | 0,29 $\pm$ 0,18          | 0,57 $\pm$ 0,20   |
| Еозинофіли                | $\times 10^9/\text{л}$ | 0,61 $\pm$ 0,11          | 0,22 $\pm$ 0,06  | 0,22 $\pm$ 0,11          | 0,20 $\pm$ 0,08   |
|                           | %                      | 3,71 $\pm$ 0,64          | 1,29 $\pm$ 0,36* | 1,57 $\pm$ 0,81          | 2,00 $\pm$ 0,79   |

\* $p < 0,05$  порівняно з показником відповідної контрольної групи цього ж терміну.

Таблиця 2. Порушення показників імунного статусу в щурів за умови трансплантації альгінатних мікрокапсул ( $M \pm m$ ,  $n = 7$ )

| Показники  | Одиниці виміру  | 17-та доба спостереження |                   | 31-ша доба спостереження |                   |
|--|-----------------|--------------------------|-------------------|--------------------------|-------------------|
|  |                 | Контрольна група         | Дослідна група    | Контрольна група         | Дослідна група    |
| Фагоцитарна активність нейтрофілів крові (ФІ)                      | %               | 31,14 $\pm$ 3,18         | 54,29 $\pm$ 3,96* | 22,67 $\pm$ 2,17         | 30,75 $\pm$ 1,25* |
| Фагоцитарна активність нейтрофілів крові (ФЧ)                      | ум. од.         | 4,23 $\pm$ 0,35          | 5,46 $\pm$ 0,24*  | 2,87 $\pm$ 0,08          | 4,53 $\pm$ 0,17*  |
| Бактерицидна активність нейтрофілів крові (НСТ-тест спонтанний)    | %               | 23,43 $\pm$ 1,80         | 25,29 $\pm$ 1,44  | 24,00 $\pm$ 1,48         | 23,88 $\pm$ 1,33  |
| Бактерицидна активність нейтрофілів крові (НСТ-тест стимульований) | %               | 33,29 $\pm$ 2,83         | 42,14 $\pm$ 2,87  | 33,43 $\pm$ 1,74         | 35,13 $\pm$ 1,22  |
| ЦІК високомолекулярні  | од. опт. щільн. | 0,06 $\pm$ 0,01          | 0,05 $\pm$ 0,01   | 0,06 $\pm$ 0,01          | 0,03 $\pm$ 0,01*  |
| ЦІК низькомолекулярні  | од. опт. щільн. | 0,17 $\pm$ 0,01          | 0,16 $\pm$ 0,01   | 0,19 $\pm$ 0,02          | 0,15 $\pm$ 0,01*  |
| Титр комплементу   | СН50            | 21,71 $\pm$ 1,93         | 61,23 $\pm$ 6,43* | 19,69 $\pm$ 1,75         | 31,84 $\pm$ 0,91* |

\* $p < 0,05$  порівняно з показником відповідної контрольної групи цього ж терміну.

тваринах проводили відповідно до норм “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідницьких та інших наукових цілей” від 18.03.1986 р., Закону України “Про захист тварин від жорстокого поводження” № 3447-IV від 21.02.2006 р. і “Загальних етичних принципів експериментів на тваринах”, затверджених на Першому національному конгресі з біоетики (Україна, Київ, 17–20.09.2001 р.).

Статистичну обробку результатів досліджень здійснювали за стандартними методами варіаційної статистики з використанням критерію *t* Стьюдента.

**Результати та їх обговорення.** Проведені нами дослідження показали, що АМК в умовах *in vitro* (одразу після їх виготовлення) та *in vivo* (на 17-ту та 31-шу добу після внутрішньоочеревиної трансплантації щурам) правильної округлої форми з рівною і чистою поверхнею.

На 17-ту добу після трансплантації АМК у щурів дослідної групи порівняно з твариною контрольної групи відмічено вірогідно вищу відносну кількість паличкоядерних нейтрофілів (на 75,4 %) і вірогідно нижчий відсоток еозинофілів у крові (на 65,2 %) (табл. 1). Вірогідно вищими були: фагоцитарна активність нейтрофілів крові (ФІ на 74,3 %, ФЧ на 29,1 %) і титр комплементу (на 182,0 %) (табл. 2), а також кількість перитонеальних макрофагів (на 35,6 %) та їх фагоцитарна (ФЧ на 16,2 %) і бактерицидна (спонтанний НСТ-тест на 49,8 %) активність (табл. 3).

На 31-шу добу дослідження у тварин дослідної групи порівняно з тваринами контрольної групи встановлено підвищений відсоток сегментоядерних нейтрофілів (на 47,8 %), а також вірогідне зниження кількості лейкоцитів (на 27,6 %) і лімфоцитів (на 27,4 %) (див. табл. 1). Виявлено підвищення фагоцитарної активності нейтрофілів крові (ФІ на 35,6 % і ФЧ на 57,8 %) і титру комплементу (на 61,7 %) та вірогідне зниження рівня високо- і низькомолекулярних ЦІК (на 50,0 % і 21,1 % відповідно) (див. табл. 2). У перитонеальному ексудаті підвищилась кількість (на 24,5 %) і фагоцитарна активність (ФЧ на 22,5 %) макрофагів (див. табл. 3).

**Таблиця 3. Зміни активності макрофагів перитонеального ексудату в щурів за умови трансплантації альгінатних мікрокапсул ( $M \pm m, n = 7$ )**

| Показники   | Одиниці виміру         | 17-та доба спостереження |                   | 31-ша доба спостереження |                  |
|---|------------------------|--------------------------|-------------------|--------------------------|------------------|
|   |                        | Контрольна група         | Дослідна група    | Контрольна група         | Дослідна група   |
| Макрофаги   | $\times 10^9/\text{л}$ | 5,02 $\pm$ 0,13          | 6,81 $\pm$ 0,17*  | 4,16 $\pm$ 0,09          | 5,18 $\pm$ 0,14* |
| Фагоцитарна активність макрофагів (ФІ)                      | %                      | 53,14 $\pm$ 1,50         | 60,86 $\pm$ 3,85  | 45,29 $\pm$ 1,80         | 51,43 $\pm$ 2,50 |
| Фагоцитарна активність макрофагів (ФЧ)                      | ум. од.                | 5,37 $\pm$ 0,30          | 6,24 $\pm$ 0,18*  | 4,66 $\pm$ 0,18          | 5,71 $\pm$ 0,27* |
| Бактерицидна активність макрофагів (НСТ-тест спонтанний)    | %                      | 16,43 $\pm$ 1,36         | 24,61 $\pm$ 1,53* | 20,29 $\pm$ 1,41         | 21,57 $\pm$ 0,57 |
| Бактерицидна активність макрофагів (НСТ-тест стимульований) | %                      | 46,00 $\pm$ 2,16         | 53,00 $\pm$ 3,11  | 40,86 $\pm$ 3,43         | 40,86 $\pm$ 2,83 |

\* $p < 0,05$  порівняно з показником відповідної контрольної групи цього ж терміну.

В усі терміни дослідження не виявлено вірогідних змін чисельності моноцитів і базофілів, а також бактерицидної активності нейтрофілів крові (див. табл. 1, 2).

У дослідженні ми використали АМК, оскільки альгінат є найбільш привабливим біополімером для мікроінкапсуляції тканин і клітин [1]. Трансплантацію АМК проводили внутрішньоочеревинно, оскільки місце імплантації щурам (внутрішньоочеревинно, підшкірно або під капсулу нирки) істотно не впливає на біосумісність порожніх АМК.

Альгінат для виготовлення мікрокапсул отримують із свіжозібраних морських бурих водоростей шляхом екстракції та очищення, що дає можливість частково видалити мітогенні та цитотоксичні домішки без руйнування полімеру [1].

Основним лімітуючим фактором при трансплантації АМК залишається імунологічна реакція організму реципієнта на чужорідне тіло з перикапсулярним фіброзом, причиною якої є контамінація біополімеру чужорідними речовинами [1].

У нашому дослідженні трансплантовані щурам внутрішньоочеревинно АМК залишалися цілими і візуально чистими на 17-ту і 31-шу добу спостереження.

Раніше повідомлялося, що протягом першого тижня після імплантації в черевну порожнину щурів зафіксовано збільшення частки альгінат-полілізинових капсул з клітинним розростанням, яке складалося з моноцитів/макрофагів, гранулоцитів, фібробластів, еритроцитів, багатоядерних гігантських клітин і базофілів [9]. Це розростання досить динамічне: якщо в перший день після імплантації в основному спостерігалися моноцити/макрофаги і гранулоцити, то в більш пізні періоди часу вони були замінені фібробластами. Більшість клітин запалення зникли через два тижні після імплантації.

Показано, що поверхня тришарових альгінат-полілізин-альгінатних мікрокапсул залишалася інтактною та вільною від фіброзного обростання протягом трьох місяців після імплантації в перитонеальну порожнину щурів [10]. Були навіть повідомлення, що АМК з високим вмістом мануранової кислоти, зшитої  $\text{BaCl}_2$ , після трансплантації діабетичним мишам BALB/c і мишам NOD залишалися вільними від клітинного розростання понад 350 днів [11]. Деякі дослідники стверджували, що мембрана з альгінат-полі(L)лізин-альгінату пригнічує активацію клітинної імунної відповіді хазяїна [12].

Зменшити імуногенність деяких альгінатних препаратів можна шляхом видалення залишкового забруднення білком [13]. Додатково знизити перикапсулярний фіброз можна за допомогою комбінування високоочищеного альгінату з коротким курсом імуносупресивної терапії [14]. Так, глюкокортикоїди пригнічують неспецифічну реакцію відторгнення, яка спостерігається навколо полімерного імплантата: значно зменшується популяція Т-лімфоцитів, знижується відсоток субпопуляцій клітин  $\text{CD4}^+$  і  $\text{CD8}^+$ , зникає маркер активації макрофагів, а оточуюча фіброзна тканина стає менш виразною і не настільки щільною.

У нашому дослідженні у щурів дослідної групи порівняно з контролем спостерігалось вірогідне зниження кількості лейкоцитів та лімфоцитів, що може свідчити про пригнічення імунної відповіді.

Збільшення кількості макрофагів перитонеального ексудату та їх фагоцитарної активності (ФЧ), а також вірогідне підвищення показників фагоцитарної активності нейтрофілів крові (ФІ та ФЧ) вказує на активацію функціональної активності клітин природного імунітету у відповідь на АМК як чужорідний об'єкт.

Як відомо, ЦІК складаються з антигену, антитіл і пов'язаних з ними компонентів комплексу С3, С4 і С1q. Утворення ЦІК є фізіологічним механізмом захисту організму шляхом зв'язування ендogenous і екзогенних антигенів антитілами та їх видалення шляхом фагоцитозу через ретикуло-ендотеліальну систему. Отже, вірогідне зниження рівня ЦІК у сироватці крові дослідних щурів на тлі підвищеного фагоцитозу може вказувати на їхню активну елімінацію, а зростання титру комплексу — про його вивільнення з ЦІК.

Раніше нами було встановлено, що 30-денне вживання щурами альгінату кальцію (у дозі 400 мг порошку на кожну тварину) за умови моделювання свинцевої інтоксикації сприяло підвищенню показників неспецифічної природної резистентності: збільшенню кількості лейкоцитів і нейтрофілів у крові, активації фагоцитарної активності (ФІ і ФЧ) та бактеріцидної здатності (спонтанного НСТ-тесту) нейтрофілів [3, 15].

Після припинення експозиції (відновний період) у дослідних щурів спостерігали зниження рівня ЦІК у крові [3, 15]. У групі щурів, які вживали альгінат кальцію ізольовано, виявлено активацію фагоцитозу в нейтрофілах на початку експерименту, а після відновного періоду встановлено зниження в сироватці крові титру комплексу і рівня ЦІК. Зазначене вказує на те, що вживання альгінату кальцію інтактними щурами і на фоні свинцевої інтоксикації зумовлює активацію клітин природної неспецифічної резистентності.

Також треба відзначити, що у тварин, які вживали альгінат кальцію ізольовано і одночасно з введенням ацетату свинцю, відмічали повнокров'я червоної пульпи селезінки і збільшення кількості лімфатичних фолікулів, що свідчить про імуностимуючу дію цього препарату [3].

Отже, на підставі отриманих результатів досліджень можна дійти висновку, що внутрішньоочеревинна трансплантація альгінатних мікрокапсул призводить до певних імунологічних реакцій, для нівелювання яких слід проводити багатоступінчасту, дорогу та тривалу процедуру (зокрема, повторну екстракцію, концентрацію, преципітацію, розведення, центрифугування, діаліз тощо) видалення імуногенних домішок з комерційного препарату, після чого він може бути успішно застосований в експериментальних дослідженнях і клінічних випробуваннях.

#### ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Zimmermann U., Mimietz S., Zimmermann H. et al. Hydrogel-based non-autologous cell and tissue therapy. *Biotechniques*. 2000. **29**, № 3. P. 564–572.
2. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації). О.В. Стефанов (ред.). Київ: Авіцена, 2001 р. 528 с.
3. Dornish M., Kaplan D., Skaugrud Ø. Standards and guidelines for biopolymers in tissue-engineered medical products: ASTM alginate and citosan standard guides. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2001. **944**. P. 388–397.
4. Дмитруха Н. М., Голуб І. О. Експериментальне дослідження впливу ацетату свинцю, препаратів “Альгінат кальцію” та “Кверцетин” на імунологічну реактивність організму білих щурів. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2005. № 2. С.74–80.
5. Figliuzzi M., Plati T., Cornolti R. et al. Biocompatibility and function of microencapsulated pancreatic islets. *Acta Biomater.* 2006. **2**, № 2. P. 221–227. doi: <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2005.12.002>
6. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник. В.В. Меньшиков (ред.). Москва: Медицина, 1987. 368 с.
7. Пастер Е.У., Овод В.В., Позур В.К., Вихоть Н.Е. Иммунология: Практикум. Киев: Вища школа. 1989. 304 с.

8. Сепиашвили Р.И. Введение в иммунологию. Цхалтубо, Кутаиси, 1987. 230 с.
9. de Vos P., van Hoogmoed C.G., de Haan B.J., Busscher H.J. Tissue responses against immunisolating alginate-PLL capsules in the immediate posttransplant period. *J. Biomed. Mater. Res.* 2002. **62**, № 3. P. 430–437. doi: <https://doi.org/10.1002/jbm.10345>
10. Lee C.H., Wang Y.J., Kuo S.M., Chang S.J. Microencapsulation of parathyroid tissue with photosensitive poly(L-lysine) and short chain alginate-co-MPEG. *Artif. Organs.* 2004. **28**, № 6. P. 537–542. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1525-1594.2004.00051.x>
11. Duvivier-Kali V.F., Omer A., Parent R.J. et al. Complete protection of islets against allojection and autoimmunity by a simple barium-alginate membrane. *Diabetes.* 2001. **50**, № 8. P. 1698–1705.
12. Okada N., Miyamoto H., Yoshioka T. et al. Immunological studies of SK2 hybridoma cells microencapsulated with alginate-poly(L)lysine-alginate (APA) membrane following allogeneic transplantation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1997. **230**, № 3. P. 524–527. doi: <https://doi.org/10.1006/bbrc.1996.5996>
13. Ménard M., Dusseault J., Langlois G. et al. Role of protein contaminants in the immunogenicity of alginates. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.* 2010. **93**, № 2. P. 333–340. doi: <https://doi.org/10.1002/jbm.b.31570>
14. Mathe Z., Bucher P., Bosco D. et al. Short-term immunosuppression reduced fibrotic cellular infiltration around barium-M-alginate microbeads injected intraportally. *Transplant. Proc.* 2004. **36**, № 4. P. 1199–1200. doi: <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2004.04.021>
15. Дмитруха Н.М. Вплив альгінату кальцію на стан неспецифічної резистентності організму білих щурів при свинцевій інтоксикації. *Современные проблемы токсикологии.* 2004. № 2. С. 16–20.

Надійшло до редакції 10.02.2017

## REFERENCES

1. Zimmermann, U., Mimietz, S., Zimmermann, H. et al. (2000). Hydrogel-based non-autologous cell and tissue therapy. *Biotechniques*, 29, pp. 564-581.
2. Stefanov, O.V. (Ed.). (2001). Preclinical studies of drugs (Guidelines). Kyiv: Avicenna (in Ukrainian).
3. Dornish, M., Kaplan, D. & Skaugrud, Ø. (2001). Standards and guidelines for biopolymers in tissue-engineered medical products: ASTM alginate and citosan standard guides. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 944, pp. 388-397.
4. Dmytrukha, N.M. & Golub, I.O. (2005). Experimental study of lead acetate, calcium alginate and kvvertsetin influence on immunological reactivity of the white rats. *Actual problems of transport medicine*, No. 2, pp. 74-80 (in Ukrainian).
5. Figliuzzi, M., Plati, T., Cornolti, R. et al. (2006). Biocompatibility and function of microencapsulated pancreatic islets. *Acta Biomater.*, 2, pp. 221-227. doi.org/ <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2005.12.002>
6. Menshikov, V.V. (Ed.). (1987). Laboratory methods studies in clinic: Directory. Moscow: Medicina (in Russian).
7. Paster, Ye.U., Ovod, V.V., Pozur, V.K. & Vihot, N.E. (1989). Immunology: Workshop. Kyiv: Vyscha shkola (in Russian).
8. Sepiashwili, R.I. (1987). Introduction to immunology. Tshaltubo, Kutaisi (in Russian).
9. de Vos, P., van Hoogmoed, C.G., de Haan, B.J. & Busscher, H.J. (2002). Tissue responses against immunisolating alginate-PLL capsules in the immediate posttransplant period. *J. Biomed. Mater. Res.*, 62, pp. 430-437. doi: <https://doi.org/10.1002/jbm.10345>
10. Lee, C.H., Wang, Y.J., Kuo, S.M. & Chang, S.J. (2004). Microencapsulation of parathyroid tissue with photosensitive poly(L-lysine) and short chain alginate-co-MPEG. *Artif. Organs.*, 28, pp. 537-542. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1525-1594.2004.00051.x>
11. Duvivier-Kali, V.F., Omer, A., Parent, R.J. et al. (2001). Complete protection of islets against allojection and autoimmunity by a simple barium-alginate membrane. *Diabetes*, 50, pp. 1698-1705.
12. Okada, N., Miyamoto, H., Yoshioka, T. et al. (1997). Immunological studies of SK2 hybridoma cells microencapsulated with alginate-poly(L)lysine-alginate (APA) membrane following allogeneic transplantation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 230, pp. 524-527. doi: <https://doi.org/10.1006/bbrc.1996.5996>
13. Ménard, M., Dusseault, J., Langlois, G. et al. (2010). Role of protein contaminants in the immunogenicity of alginates. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.*, 93, pp. 333-340. doi: <https://doi.org/10.1002/jbm.b.31570>

14. Mathe, Z., Bucher, P., Bosco, D. et al. (2004). Short-term immunosuppression reduced fibrotic cellular infiltration around barium-M-alginate microbeads injected intraperitoneally. *Transplant. Proc.*, 36, pp. 1199-1200. doi: <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2004.04.021>
15. Dmytrukha, N.M. (2004). Effect of calcium alginate state of non-specific resistance of the organism of white rats with lead intoxication. *Modern problems of toxicology*, No. 2, pp. 16-20 (in Ukrainian).

Received 10.02.2017

*И.П. Пастер<sup>1</sup>, Л.А. Баранова<sup>1</sup>, Н.Н. Дмитруха<sup>2</sup>, О.С. Лагутина<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> ГУ “Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П. Комиссаренко НАМН Украины”, Киев

<sup>2</sup> ГУ “Институт медицины труда НАМН Украины”, Киев  
E-mail: [pasteur@ukr.net](mailto:pasteur@ukr.net); [dmytrukha@ukr.net](mailto:dmytrukha@ukr.net)

#### ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ КРЫС НА ТРАНСПЛАНТАЦИЮ АЛЬГИНАТНЫХ МИКРОКАПСУЛ

Трансплантация альгинатных микрокапсул крысам приводит к ряду иммунологических реакций, что свидетельствует о необходимости дополнительного очищения коммерческого биополимера перед его применением в экспериментах на животных.

**Ключевые слова:** *альгинатные микрокапсулы, крысы, трансплантация, иммунологические реакции.*

*I.P. Pasteur<sup>1</sup>, L.A. Baranova<sup>1</sup>, N.M. Dmytrukha<sup>2</sup>, O.S. Lahutina<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the NAMS of Ukraine, Kiev

<sup>2</sup> Institute for Occupational Health of the NAMS of Ukraine, Kiev  
E-mail: [pasteur@ukr.net](mailto:pasteur@ukr.net); [dmytrukha@ukr.net](mailto:dmytrukha@ukr.net)

#### IMMUNOLOGICAL REACTIONS OF RATS TO THE TRANSPLANTATION OF ALGINATE MICROCAPSULES

Transplantation of alginate microcapsules to rats leads to a number of immunological reactions, indicating the need for a further purification of commercial biopolymer before its use in experiments on animals.

**Keywords:** *alginate microcapsule, rats, transplantation, immunological reactions.*