



Општи подаци и протокол истраживања

Назив Пројекта :

ИМУНОМОДУЛАЦИЈА ХРОНИЧНИХ ИНФЛАМАТОРНИХ БОЛЕСТИ

Кључне речи :

Интерлеукин 1 рецептор антагонист, мезенхималне стем ћелије, стрептозотоцин, дијабетес тип 1, експериментални алергијски енцефаломијелитис, C57Bl/6 мишеви

Предмет, садржај и циљ истраживања

Сажетак

Diabetes mellitus тип 1 је аутоимунско обољење у коме аутореактивне Т ћелије инфилтришу Langerhans-ова острваца у панкреасу узрокујући разарање β ћелије. Новија истраживања указују да оксидативни стрес и повећано присуство про-инфламаторних цитокина, посебно интерлеукина 1 бета, имају важну улогу у апоптози и оштећењу бета ћелија, те су одговорни за настанак оба типа дијабетеса. Блокирајући про-инфламаторне цитокине њиховим природним антагонистима, спречава се настанак или лечи дијабетес. Познато је да континуирана примена IL-1 Ra превенира настанак стрептозотоцином (STZ) индукованог дијабетеса тип 1 код C57Bl/6 мишева. Недавно је код C57Bl/6 мишева, којима је STZ-ом индукован дијабетес тип 1, показано да једнократна интравенска примена MSCs нормализује гликемију и гликозурију, регенерише ендокрини панкреас и превенира нефропатију. Важно је испитати да ли се IL-1 Ra може користити у лечењу дијабетеса тип 1 и утврдити да ли MSCs могу превенирати његов настанак.

Такође је показано да имуноглобулини могу да имају позитиван терапијски ефекат у лечењу неких аутоимунских болести. Ефекат имуноглобулина на патогенезу Diabetes mellitus тип 1 још увек није испитан. Наш циљ је да покажемо да континуирана примена IvIg доводи до поновног успостављања физиолошке регулације имунитета и сузбијања овог обољења.

Sclerosis multiplex је аутоимунска болест посредована CD4 Т лимфоцитима који се активирају на периферији, пролазе кроз хематоенцефалну баријеру и изазивају инфламацију у централном нервном систему. ЕАЕ, експериментални алергијски енцефаломијелитис је експериментални модел за *sclerosis multiplex*. Показано је да имуноглобулини могу да модификују ток ЕАЕ преко повећања пролиферације регулаторних Т лимфоцита. Наш циљ је да испитамо да ли постоји разлика у деловању природних и имуноглобулина модификованих хемом и механизме којима то остварују.



Циљ истраживања

Испитати да ли постоји значајна разлика у примени MSCs у односу на солубилни IL1RN у превенцији и лечењу стрептозотоцином индукованог дијабетес мелитуса тип 1 код мишева.

Показати да S/C дати Ig узрокују каснију појаву хипергликемије и гликозурије код мишева или уопште не доводе до појаве хипергликемије и гликозурије

Показати да S/C дати Ig модификују лимфоцитни инфилтрат у панкреасу и перипанкреасним лимфним жлездама и модификују продукцију проинфламаторних цитокина

Да се покаже да постоји евентуална разлика у испољавању болести између група које су примале природне имуноглобулине и имуноглобулине модификоване хемом. Да се испита механизам дејства имуноглобулина на патофизиолошке процесе у ЕАЕ-у (утицај на експресију цитокина, утицај на природне регулаторне Т ћелије, дендритске ћелије и на улазак Т лимфоцита у мождано ткиво.

Актуелност истраживања

Diabetes mellitus тип 1 је аутоимунско обољење у коме аутореактивне Т ћелије инфилтришу Langerhans-ова острваца у панкреасу узрокујући разарање β ћелије.

Новија истраживања указују да оксидативни стрес и повећано присуство про-инфламаторних цитокина, посебно интерлеукина 1 бета, имају важну улогу у апоптози и оштећењу бета ћелија, те су одговорни за настанак оба типа дијабетеса (1, 2). Због тога су бројне студије рађене са циљем да, блокирајући про-инфламаторне цитокине њиховим природним антагонистима, спрече настанак или лече дијабетес (3-6). Интерлеукин 1 рецептор антагонист (IL-1 Ra), протеин кога продукују или експримирају мезенхималне стем ћелије, ћелије имунског система, стромалне ћелије, адипоцити, епителне ћелије, хепатоцити, је анти-инфламаторни цитокин, компетитивни природни инхибитор интерлеукина 1 алфа и бета који, везујући се за IL-1 рецептор, блокира везивање IL-1 и спречава његово про-инфламаторно дејство (7, 8).

Познато је да континуирана примена IL-1 Ra превенира настанак стрептозотоцином (STZ) индукованог дијабетеса тип 1 код C57Bl/6 мишева (9, 10).

Недавно је откривено да посебна субпопулација мезенхималних стем ћелија (MSCs), која чини 24% од укупног броја мишијих MSCs (пореклом из костне сржи), односно 5% људских MSCs (пореклом из костне сржи) експримира IL-1 Ra (11).

Мезенхималне стем ћелије су мултипотентне стромалне ћелије, присутне у готово свим ткивима одраслог организма, које имају способност само-обнављања и диференцијације ка ћелијама ткива мезодермалног порекла (12). Карактерише их експресија сл. молекула: CD105 (SH2), CD73 (SH3/4), CD44, stromal antigen 1, CD166 (vascular cell adhesion molecule), CD54/CD102 (intracellular adhesion molecule), CD49 (very late antigen) и одсуство експресије CD14, CD34, CD11a/LFA-1, CD45 (карактеристика хематопоетских ћелија), glycophorin A



(карактеристика еритроцита), CD31 (карактеристика тромбоцита, ендотелних ћелија) (13). Мезенхималне стем ћелије имају важну улогу у модулацији имунског одговора коју остварују инхибицијом пролиферације Т ћелија (секретијом цитокина TGF- β , IL-10, ометањем сазревања дендритских ћелија), утицајем на пораст броја регулаторних Т лимфоцита, блокирањем пролиферације Б лимфоцита (14).

Недавно је код C57Bl/6 мишева, којима је STZ-ом индукован дијабетес тип 1 и чији су лабораторијски и клинички параметри одговарали поодмаклом дијабетесу тип 1 код људи, показано да једнократна интравенска примена MSCs нормализује гликемију и гликозурију, регенерише ендокрини панкреас и превенира нефропатију (15).

Постоји опрез са применом MSCs код људи обзиром да MSCs показују хромозомску нестабилност *in vitro* као и због чињенице да *in vivo* постоји могућност неконтролисане диференцијације ка нежељеним ћелијама ткива мезодермалног порекла (16-18).

Имуноглобулини могу да модификују имунски одговор на различите начине: неутрализацијом аутоантитела, модулацијом сигналних путева, модулацијом експресије и функције цитокина, модулацијом матурације и функције дендритских ћелија, инхибицијом комплемента, појачањем клиренса аутоантитела блокирањем FcRn, функционалним блокирањем Fc γ R, повећањем експресије Fc γ RIIB. Успостављају антиинфламаторну средину.(20, 21)

У скорије време је показано да имуноглобулини могу ако се континуирано примењују од почетка индукције ЕАЕ да спрече појаву болести и то повећањем пролиферације регулаторних Т лимфоцита који блокирају активацију и миграцију ефекторски Т лимфоцита и тако онемогуће инфламацију у нервном ткиву. (19)

**Предмет и опис истраживања,
задачи, методологија, очекивани резултати:**

Хипотеза: Применом MSCs, код мишева којим је STZ индукован DM 1, постиже се дуготрајнија превенција и дуготрајнији терапијски ефекат (дуготрајнија регулација гликемије, гликозурије, боља очуваност грађе панкреаса) него применом солубилног IL1RN.

Експерименталне животиње: 60 мишева C57BL/6 – мужјака, старости 8-12 недеља.

Индукција DM тип1 применом STZ-а: Свим мишевима се даје у току 5 дана по 40 мг/кг STZ интраперитонеално. Streptozotocin (STZ) ће бити растворен у стерилном цитратном пуферу (pH 4,48; conc. 25 mmol/L)

Мишеви ће бити подељени у 4 експерименталне групе (E1, E2, E3, E4) и 2 контролне групе (K1, K2). У свих 6 група биће по 10 мишева.

Посебно ће се испитати значај IL-1 Ra и MSCs у превенцији и лечењу дијабетеса тип 1.



Испитивање значаја IL-1 Ra и MSCs у превенцији дијабетеса тип 1

Експериментална група (E1): 10 мишева, 5.дан од почетка експеримента, 1 сат након примене последње дозе STZ-а, у репну вену сваког миша се апликује $0,5 \times 10^6$ MSCs у 0,2 мл њиховог медијума (компанија Celprogen, USA).

Експериментална група (E2): 10 мишева, 5.дан од почетка експеримента, 1 сат након примене последње дозе STZ-а, субкутано се сваком мишу апликује 8 мг/кг ТТ IL-1 Ra (Anakinra или Kineret, компаније Biovitrum), подељено у 2 дневне дозе (обзиром да је полуживот IL-1 Ra око 8 сати) свакодневно, наредна 12 дана.

Контролна група (K1): 10 мишева, 5.дан од почетка експеримента, 1 сат након примене последње дозе STZ-а, свакодневно ће, наредна 12 дана, субкутано примати 0,2 мл физиолошког раствора.

Крв за мерење гликемије ће се узимати из репне вене сваког дана, након јутарњег гладовања од 3 сата (наташтину). Гликемија ће се пратити коришћењем апарата Abbott Exccide и тест трака за мерење гликемије.

Гликозурија ће се свакодневно пратити, након спонтаног уринирања мишева, у јутарњим сатима, коришћењем тест трака Uroscan 2.

Упоређиваће се свакодневне средње вредности гликемије и гликозурије између мишева E1, E2, K1 групе (ANOVA test, SPSS).

Мишеви група E1, E2, K1 ће бити жртвовани 23-ог дана након почетка експеримента, обзиром да се очекује да до развоја дијабетеса код мишева K1 групе дође око 11. дана, а код мишева E2 групе дође око 19. дана, пар дана након последње дозе IL-1 Ra (10). Непознато је да ли ће и када доћи до појаве дијабетеса код мишева E1 групе (обзиром да до сада нико није испитивао значај MSCs у превенцији дијабетеса тип 1).

Након жртвовања, извадиће се панкреас и припремити за хистолошку анализу (исечци панкреаса дебљине 4 μ m, фиксирани 4% параформалдехида, парафином, и бојени хематоксилин-еозином). Пратиће се промене присутне у бета острвцима панкреаса између мишева E1, E2 и K1 групе.

Критеријуми за хистолошка анализу панкреаса: 1-без мононуклеарног инфилтрата, очувана грађа панкреаса; 2-пери-инсуларни мононуклеарни инфилтрат; 3-интра-инсуларни мононуклеарни инфилтрат; 4-масивна деструкција острвца.

Испитивање значаја IL-1 Ra и MSCs у лечењу дијабетеса тип 1

Експериментална група (E3): 10 мишева. Након дијагностиковања дијабетеса (3 узастопна дана гликемија $> 11,1$ mmol/l уз присутну гликозурију), свим мишевима ове групе у репну вену се апликује $0,5 \times 10^6$ MSCs у 0,2 мл њиховог медијума (компанија Celprogen, USA).

Експериментална група (E4): 10 мишева. Након дијагностиковања дијабетеса (3 узастопна дана гликемија $> 11,1$ mmol/l уз присутну гликозурију), свим мишевима ове групе субкутано се



апликује 8 мг/кг ТТ IL-1 Ra (Anakinra или Kineret, компаније Biovitrum), подељено у 2 дневне дозе (обзиром да је полуживот IL-1 Ra око 8 сати) свакодневно, наредна 12 дана.

Контролна група (К2): 10 мишева. Након дијагностиковања дијабетеса (3 узастопна дана гликемија $> 11,1$ mmol/l уз присутну гликозурију), сви мишеви ове групе свакодневно ће, наредна 12 дана, субкутано примати 0,2 мл физиолошког раствора.

Одређивање гликемије и гликозурије

Крв за мерење гликемије ће се узимати из репне вене сваког дана, након јутарњег гладовања од 3 сата (наташтину). Гликемија ће се пратити коришћењем апарата Abbott Exccide трака за мерење гликемије.

Гликозурија ће се свакодневно пратити, након спонтаног уринирања мишева, у јутарњим сатима, коришћењем тест трака Uroscan 2.

Упоређиваће се свакодневне средње вредности гликемије и гликозурије између мишева Е3, Е4, К2 групе (ANOVA test, SPSS).

Мишеви Е3, Е4 и К2 групе ће бити жртвовани 62. дан након дијагностиковања дијабетеса, обзиром да се тада очекује потпуна нормализација гликемије и гликозурије код мишева Е3 групе (15). Непознато је да ли ће доћи до нормализације гликемије и гликозурије код мишева Е4 (обзиром да до сада нико није испитивао значај IL-1 Ra у лечењу дијабетеса тип 1).

Хистолошка анализа

Након жртвовања, извадиће се панкреас и припремити за хистолошку анализу (исечци панкреаса дебљине 4 μ m, фиксирани 4% параформалдехида, парафином, и бојени хематоксилин-еозином). Пратиће се промене присутне у бета острвцима панкреаса између мишева Е3, Е4 и К2 групе.

Критеријуми за хистолошка анализу панкреаса: 1-без мононуклеарног инфилтрата, очувана грађа панкреаса; 2-пери-инсуларни мононуклеарни инфилтрат; 3-интра-инсуларни мононуклеарни инфилтрат; 4-масивна деструкција острвца.

Испитивање ефекта природних и модификованих имуногломулина на дијабетес тип 1

Мишеви

Експерименталне животиње: 70 мишева C57BL/6 – мужјака, старости 8-12 недеља.

активне супстанце:

- Стрептозотоцин (STZ) свеже растворен у стерилном цитратном пуферу (pH 4,48; conc. 25 mmol/L)
- природни Ig
- модификовани хемом Ig
- модификовани FeII Ig



доза:

- STZ - 40 mg/kg ($\approx 60\mu\text{L}$)
- природни Ig (50 mg/kg, 200 mg/kg)
- модификовани хемом Ig (50 mg/kg, 200 mg/kg)
- модификовани FeII Ig (50 mg/kg, 200 mg/kg)

начин апликације:

- Интраперитонеално- STZ
- Субкутано – Ig
- Субкутано – бовин серум албумин (BSA)

Индукција DM тип1 применом STZ-а: Свим мишевима се даје у току 5 дана по 40 mg/kg STZ интраперитонеално. Streptozotocin (STZ) ће бити растворен у стерилном цитратном пуферу (pH 4,48; conc. 25 mmol/L)

Мишеви ће бити подељени у 4 експерименталне групе (E1, E2, E3, E4, E5, E6) и 1 контролну групу (K1). У свакој групи биће по 10 мишева.

Испитивање ефекта природних и модификованих имуноглобулина на развој diabetes mellitus-a

Експериментална група (E1): 10 мишева- Мишеви ће бити третирани 21 дан природним Ig (50 mg/kg)

Експериментална група (E2): 10 мишева- Мишеви ће бити третирани 21 дан природним Ig (200 mg/kg)

Експериментална група (E3):10 мишева- Мишеви ће бити третирани 21 дан Ig модификованим хемом (50 mg/kg)

Експериментална група (E4):10 мишева- Мишеви ће бити третирани 21 дан Ig модификованим хемом (200 mg/kg)

Експериментална група (E5):10 мишева- Мишеви ће бити третирани 21 дан Ig модификованим Fe II (50 mg/kg)

Експериментална група (E6):10 мишева- Мишеви ће бити третирани 21 дан Ig модификованим Fe II (200 mg/kg)

Одређивање гликемије и гликозурије

Ниво глукозе (Abbott Excside) ће се свакодневно мерити у крви добијеној из репне вене мишева након гладовања од 4h. Ниво глукозе из мокраће мишева ће се свакодневно мерити test траком Uroscan 2.



Упоређиваће се свакодневне средње вредности гликемије и гликозурије између мишева експерименталних и контролне групе (ANOVA test, SPSS).

Хистолошка анализа

Након жртвовања мишевима ће се извадити панкреаси и перипанкреасни лимфни чворови од којих ће се правити парафински исечци (део обојити хематоксилином и еозином). Обојени препарати служе за бројање лимфоцитних инфилтрата у Лангерхансовим острвцима панкреаса.

ELISA

Мерења нивоа серумских цитокина: IFN- γ , TNF, IL-17 коришћењем ензимоимунотест (ELISA) кита специфичног за мишје цитокине.

Мононуклерне ћелије изоловане из регионалних лимфних чворова и слезине ће се *in vitro* стимулирати ConA и MOG пептидом 24 и 48 сати и у супернатанту ће се ELISA методом одредити ниво цитокина: IL-17, IFN- γ , TNF

FACS

Одредиће се број CD4+, CD8+, CD4+CD25+, FoxP3+, CD4+FoxP3+, F4/80+ и CD19+ у панкреасним лимфним чворовима

Real time PCR

Одредиће се ниво цитокина IFN- γ , TNF, IL-17 у панкреасним лимфним чворовима и слезини

Испитивање ефекта природних и модификованих имуноглобулина на ЕАЕ

Експерименталне животиње: 80 C57BL/6 мишева.

Индукција ЕАЕ

MOG 35-55 пептид се раствори у PBS-у у концентрацији 3 mg/ml. Једнаке запремине раствора MOG-а и комплетног *Freund*-овог адјуванса, CFA (1 mg/ml) уз додаток 7 mg/ml *M.tuberculosis* се измешају да се добије емулзија

- 200 μ l овако добијене емулзије се апликује мишу, по 50 μ l бочно у сваки екстремитет

- укупно миш прими 300 μ g MOG пептида и 800 μ g *M.tuberculosis*

Првог и трећег дана експеримента мишу се интраперитонеално апликује и 300ng pertusis toxina у 100 μ l PBS-а.



Испитивање утицаја природних имуноглобулина и имуноглобулина модификованих хемом на ток ЕАЕ

Мишеви ће бити подељени на 4 групе:

Е1 група (20 мишева): прима природне имуноглобулине субкутано од почетка индукције ЕАЕ сваког дана у току 18 дана, 200 mg/kg

Е2 група (20 мишева): прима имуноглобулине модификоване хемом субкутано од почетка индукције ЕАЕ 18 дана, 200 mg/kg

К група (20 мишева): прима BSA растворен у физиолошком раствору субкутано 18 дана од почетка индукције ЕАЕ који не показује никакав имуномодулаторни ефекат, 200 mg/kg

К1 група (20 мишева): прима на исти начин само хем и која је контролна група за групу која прима имуноглобулине модификоване хемом, 200 mg/kg.

Клиничко испољавање болести

По групама ће се пратити: клиничко испољавање болести, одређивање нивоа инфилтрације на основу хистолошких препарата, фенотипске карактеристике мононуклеара изолованих из слезине, регионалних лимфних чворова, мозга и кичмене мождине и интрацелуларни ниво цитокина у овим ћелијама, као и ниво продукованих цитокина у супернатантима након рестимулације изолованих ћелија MOG пептидом и поликлонским стимулатором, ConA. Поредиће се по групама: средње вредности цитокина, проценти појединих ћелија, средње вредности инфилтрације и клиничког скорa (SPSS).

Клиничко испољавање болести ће се пратити сваког дана и оцењивати на основу критеријума: 1-парализа репа; 2- атаксија; 2,5- једна задња нога парализована; 3- обе задње ноге парализоване; 3,5- 3 ноге парализоване; 4- комплетна парализа и предњих и задњих ногу; 5- смрт.

Хистолошка анализа

Мишеви ће се жртвовати пре почетка испољавања болести, у време најјачег испољавања болести и у фази ремисије.

Препарати мозга и кичмене мождине се боје хематоксилин еозином и одређује се проценат инфилтрације: 0-нема инфилтрације, 1-умерена инфилтрација око крвних судова можданих омотача, 2-инфилтрација CNS-а појединачним ћелијама, 3-инфилтрат ствара омотаче око крвних судова, 4- интензиван инфилтрат око крвних судова уз субарахноидалну и паренхималну инфламацију.

FACS

Издвојиће се мононуклеарне ћелије из регионалних лимфних чворова, слезине, мозга и кичмене мождине и flow цитометријом ће се испитати проценат ћелија које су CD4+, CD8+, CD4+CD25+, FoxP3+, CD4+FoxP3+, F4/80+ и CD19+. Истом методом ће се испитати и интрацелуларни ниво цитокина IL-17, IFN- γ , TNF, IL-6, IL-10, TGF- β . Интрацелуларни ниво ових цитокина би могао да се испита и PCR методом.



ELISA

Мерења нивоа серумских цитокина у серуму издвојеном из крви из трбушне аорте: IFN- γ , TNF, IL-17 коришћењем ензимоимунотест (ELISA) кита специфичног за мишје цитокине.

Мононуклерне ћелије изоловане из регионалних лимфних чворова и слезине ће се *in vitro* стимулирати ConA и MOG пептидом 24 и 48 сати и у супернатанту ће се ELISA методом одредити ниво цитокина: IL-17, IFN- γ , TNF, IL-6, IL-10, TGF- β .

Статистичка обрада података

Разлике између група анализираћемо или не-параметријским Mann-Whitney тестом или параметријским независним T- тестом., у зависности од нормалности расподеле. Нормалност расподеле вредности унутар група анализираћемо Kolmogorov-Smirnov и Shapiro-Wilk тестовима. Вредност p мању од 0.05 рачунаћемо као статистички значајну. За статистичку обраду свих података користиће се SPSS пакет, верзија 13.0

Значај истраживања

Обзиром да је познато да је IL-1 Ra ефикасан у превенцији дијабетеса тип 1, а и да је недавно показан добар терапијски ефекат IL-1 Ra у лечењу дијабетеса тип 2 (6) важно је испитати да ли се IL-1 Ra може користити у лечењу дијабетеса тип 1.

Са друге стране, важно је утврдити да ли MSCs, које успешно лече дијабетес тип 1 код анималних модела (15), могу ефикасно превенирати настанак дијабетеса тип 1.

С обзиром да IVIG могу да имају позитиван терапијски ефекат у лечењу неких аутоимунских болести, а да њихова улога у патогенези дијабетеса тип 1 није испитана, важно је испитати њихову улогу у овом обољењу и њихов утицај на сам ток болести.

Разјашњавање имунских процеса који чине основу патофизиолошког процеса експерименталног енцефаломијелитиса, а тиме посредно и *sclerosis multiplex*. Испитивање могућих начина имуномодулације у ЕАЕ који би могли да се примене и на људима.

Временски оквир

Истраживање ће се спровести у периоду од две године.



Литература

1. Rother K. Diabetes treatment-bridging the divide. *NEJM*. 2007 Apr; 356:1499-1501.
2. Donath MY, Schumann DM, Faulenbach M, Ellingsgaard H, Perren A, Ehses JA. Islet inflammation in type 2 diabetes: from metabolic stress to therapy. *Diabetes Care*. 2008 Feb; 31 Suppl 2:161-4.
3. Perrier S, Darakhshan F, Hajdich E. IL-1 receptor antagonist in metabolic disease: Dr Jekyll or Mr Hyde? *FEBS letters* 2006; 580: 6289-6294.
4. Dinarello CA. The Role of the Interleukin-1-Receptor Antagonist in Blocking Inflammation Mediated by Interleukin-1. *NEJM*. 2000 Sep; 343:732-34.
5. Sauter NS, Schulthess FT, Galasso R, Castellani LW, Maedler K. The antiinflammatory cytokine interleukin-1 receptor antagonist protects from high-fat diet-induced hyperglycemia. *Endocrinology*. 2008 May; 149(5):2208-18.
6. Larsen CM, Faulenbach M, Vaag A, Vølund A, Ehses JA, Seifert B, Mandrup-Poulsen T, Donath MY. Interleukin-1-Receptor Antagonist in Type 2 Diabetes Mellitus. *NEJM* 2007 Apr; 356:1517-26.
7. P. Seckinger, J.W. Lowenthal, K. Williamson, J.M. Dayer, H.R. MacDonald. A urine inhibitor of interleukin 1 activity that blocks ligand binding, *J. Immunol*. 1987; 139: 1546–1549.
8. C. Gabay, M.F. Smith, D. Eidlen, W.P. Arend, Interleukin 1 receptor antagonist (IL-1Ra) is an acute-phase protein. *J. Clin. Invest*. 1997; 99: 2930–2940.
9. Stosić-Grujčić S, Lukić M, Ostajić N. Interleukin 1 receptor antagonists prevent the induction of experimental insulin-dependent autoimmune diabetes. *Srp Arh Celok Lek*. 1994; 122 Suppl 1:11-2.
10. Sandberg JO, Andersson A, Eizirik DL, Sandler S. Interleukin-1 receptor antagonist prevents low dose streptozotocin induced diabetes in mice. *Biochem Biophys Res Commun*. 1994 Jul; 202(1):543-8.
11. Ortiz LA, Dutreil M, Fattman C, Pandey AC, Torres G, Go K, Phinney DG. Interleukin 1 receptor antagonist mediates the antiinflammatory and antifibrotic effect of mesenchymal stem cells during lung injury. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007 Jun 26; 104(26):11002-7.
12. Porada CD, Zanjani ED, Almeida-Porad G. Adult mesenchymal stem cells: a pluripotent population with multiple applications *Curr Stem Cell Res Ther*. 2006 Sep;1(3):365-9.
13. Chamberlain G, Fox J, Ashton B, Middleton J. Concise review: mesenchymal stem cells: their phenotype, differentiation capacity, immunological features, and potential for homing. *Stem Cells*, 2007; 25:2739–2749.
14. Abdi R, Fiorina P, Adra CN, Atkinson M, Sayegh MH. Immunomodulation by mesenchymal stem cells: a potential therapeutic strategy for type 1 diabetes. *Diabetes*. 2008 Jul; 57(7):1759-67.
15. Ezquer FE, Ezquer ME, Parrau DB, Carpio D, Yañez AJ, Conget PA. Systemic administration of multipotent mesenchymal stromal cells reverts hyperglycemia and prevents nephropathy in type 1 diabetic mice. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2008 Jun; 14(6):631-40.
16. Tolar J, Nauta AJ, Osborn MJ, Panoskaltsis Mortari A, McElmurry RT, Bell S, Xia L, Zhou N, Riddle M, Schroeder TM, Westendorf JJ, McIvor RS, Hogendoorn PC, Szuhai K, Oseth L, Hirsch B, Yant SR, Kay MA, Peister A, Prockop DJ, Fibbe WE, Blazar BR. Sarcoma derived from cultured mesenchymal stem cells. *Stem Cells*, 2007; 25:371–379.
17. Breitbach M, Bostani T, Roell W, Xia Y, Dewald O, Nygren JM, Fries JW, Tiemann K, Bohlen H, Hescheler J, Welz A, Bloch W, Jacobsen SE, Fleischmann BK. Potential risks of bone marrow cell transplantation into infarcted hearts. *Blood*, 2007; 110:1362–1369.
18. Atsma DE, Fibbe WE, Rabelink TJ. Opportunities and challenges for mesenchymal stem cell-mediated heart repair. *Curr Opin Lipidol*, 2007; 18:645–649.



19. Ephrem et al. Blood, 2008. Expansion of CD4+CD25+ regulatory T cells by intravenous immunoglobulin: a critical factor in controlling experimental autoimmune encephalomyelitis
20. J Bayry, S Lacroix-Desmazes, C Carbonneil, N Misra, Blood, 2003. Inhibition of maturation and function of dendritic cells by intravenous immunoglobulin
21. Benoît M. Lapointe, Leonie M. Herx, Varinder Gill, Luanne M. Metz, and Paul Kubes, Brain, 2004. IVIg therapy in brain inflammation: etiology-dependent differential effects on leucocyte recruitment

Руководилац пројекта:

Др Владислав Воларевић

Главни истраживач:

Др Владислав Воларевић

Ангажовани истраживачи:

Проф. др Миодраг Лукић

Проф. др Небојша Арсенијевић

Асс. Слађана Пајовић

Др Марија Миловановић

Асс. Немања Здравковић