

Фесенкова В.И. Влияние препарата Эрбисол на функциональную активность иммунокомпетентных клеток. - Рукопись.

Диссертация на соискание научной степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.09 - иммунология (биологические науки). Национальный медицинский университет им.О.О.Богомольца МОЗ Украины, Киев, 2003.

SUMMARY

Fesenkova V.I. The influence of the Erbisol on functional activity of immunocompetent cells. - Manuscript.

The dissertation has been submitted for winning the scientific degree Candidate of Biological Sciences on speciality 03.00.09 - Immunology (biological sciences), National Medical University named by Bogomolets, Kyiv, 2003.

The work is designed to study the influence of the Erbisol class preparations on functional activity of immunocompetent cells.

There was determined the action of various Erbisol doses on functional activity of macrophage phagocytic linkage by secretion of IL-1B and TNF-6, of T-helpers type I (ThI) by their production of IL-2 and r-IF, of T-helpers type II (ThII) by their secretion of IL-4 and IL-10. The preparations used in different concentrations (with maximum dilution 1:100) showed the increase in production of IL-1B and TNF-6 by cells of macrophage monocytic linkage and IL-2 and r-IF by T-helpers type I. It was demonstrated first time that Erbisols foster the decrease in functional activity of T-helpers type II with production of such anti-inflammatory cytokines as IL-4 and IL-10.

The determined effects of preparations were retained in vitro in the study of the immunocompetent cells of patients with chronic urogenital chlamydiosis. There was demonstrated the statistical increase of immune cells, under the action of Erbisol preparations, in production of IL-1B and NO as factors of unspecific immunity and oxygen-independent mechanisms of killing, such an important factor of antichlamydial immunity as r-IF along with inhibition of anti-inflammatory cytokine IL-10.

If after incubation of cells in vitro the expression of membrane antigens of lymphocytes (CD3+, CD4+, CD3+16+56+, CD3+DR+, CD4+25+) is inhibited then the Erbisol preparations demonstrate the protective action in relation to the immune T-line cells (T-lymphocytes, T-helpers, T-killers, T-active and T-helpers by receptors to IL-2 (CD25+), respectively) and do not restore of expression of antigens to B-cells (CD3-19, CD-DR+) after incubation and decreased parameters this expression.

Thus, the immunostimulating and protective effects of the Erbisol preparations were demonstrated first time on the basis of investigating the factors of intercellular cooperation (production of mediators and expression of receptors and antigens which define phenotypical specificities); there were elucidated the peculiar disturbances of immunity which suggest the possibility to use these preparations, as it was demonstrated in cases of such a pathology like chronic urogenital chlamydiosis.

Key words: cytokines, T-helpers type I and II, membrane antigens, class **Erbisol** preparations.

АННОТАЦИЯ

В диссертации представлены результаты изучения функциональной активности иммунокомпетентных клеток здоровых и больных хроническим мочеполовым хламидиозом по продукции цитокинов под влиянием препарата Эрбисол и его производных, проведение сравнительного анализа влияния Эрбисола, Супер Эрбисола и Экстра Эрбисола на иммунокомпетентные клетки по продукции ими ряда лимфо- и монокинов. Результаты исследования позволили сделать вывод, что Эрбисол и Супер Эрбисол являются иммуностимуляторами, которые влияют на активацию неспецифических факторов защиты организма.

В результате исследований определено влияние различных доз Эрбисола (разведения 1:100, 1:500, 1:1000 и 1:10000) на функциональную активность макрофагально-фагоцитарного звена по секреции ИЛ- $\text{I}\beta$ и ФНО- α , Т-хелперов I типа (Т-х I) по продукции ими ИЛ-2 и у-ИФ, Т-хелперов II типа (Т-х II) по секреции ими ИЛ-4 и ИЛ-10. Показано, что препарат почти во всех использованных концентрациях (максимальный эффект - при разведении 1:100) повышает продукцию ИЛ- $\text{I}\beta$ и ФНО- α клетками моноцитарно-макрофагального звена и ИЛ-2 и у-ИФ Т-хелперами I типа. Впервые продемонстрировано, что препарат Эрбисол и его производные способствуют снижению функциональной активности Т-хелперов II типа по продукции таких противовоспалительных цитокинов как ИЛ-4 и ИЛ-10.

При сравнительном анализе эффектов Эрбисола, Супер Эрбисола и Экстра Эрбисола не определено существенной разницы по влиянию на цитокинпродуцирующую способность иммунокомпетентных клеток здоровых доноров. Исследования *in vitro* показали, что все производные Эрбисола повышают функциональную активность моноцитов/макрофагов по продукции ИЛ- $\text{I}\beta$ (в 3 раза) и ФНО- α (в 15 раз, максимальный эффект продемонстрировал препарат "Эрбисол"); происходит увеличение продукции ИЛ-2 и интерферонов (α , β , γ) в 3-4 раза, при этом самый сильный эффект - стимуляцию в 6 раз как ИЛ-2 так и у-ИФ - продемонстрировал Супер Эрбисол.

Проведенные исследования позволяют определить механизмы действия нового отечественного препарата Эрбисола, главным направлением которого является стимуляция иммунной системы за счет повышения цитокинпродуцирующей способности моноцитов/макрофагов и Т-лимфоцитов хелперов I; снижение секреторной активности Т-лимфоцитов хелперов II может быть следствием увеличения активности Т-х I.

Те эффекты Эрбисола, которые были определены у здоровых доноров, сохранялись *in vitro* при исследовании иммунокомпетентных клеток больных с хроническим мочеполовым хламидиозом. Продемонстрировано достоверное повышение под влиянием Эрбисола и его аналогов продукции ИЛ- $\text{I}\beta$ и ИЛ-10 как факторов неспецифического иммунитета и кислороднезависимых механизмов киллинга, такого важного фактора противохламидийного иммунитета как у-ИФ одновременно с угнетением противовоспалительного цитокина ИЛ-10.

Исследование экспрессии дифференцировочных поверхностных антигенов лимфоцитов крови 15 здоровых доноров показало, что все производные Эрбисола достоверно изменяли в сравнении с уровнем до инкубации: число не-Т-хелперов, которые несут рецептор к ИЛ-2 (CD25+) от $0,44 \pm 0,03$ до $2,7 \pm 0,06\%$ ($p < 0,05$); Супер Эрбисол повышал уровень Т-киллеров (CD3+16+56+) от $3,69 \pm 0,6$ до $7,67 \pm 0,5\%$ ($p < 0,05$). Показано, что если после инкубации клеток *in vitro* происходит угнетение экспрессии поверхностных антигенов лимфоцитов (CD3+, CD4+, CD3+16+56+, CD3+DR+, CD4+25+), то Эрбисол демонстрирует протекторное действие по отношению к клеткам

T-звена імунітета (соответственно T-лімфоцитів, T-хелперів, T-кіллерів, T-активних і T-хелперів с рецепторами к ИЛ-2 и не во становлює зниженні після інкубації *in vitro* параметри експресії антигенів В-кліток (CD3-19+, CD3-DR+).

Таким образом, впервые показаны иммуностимулирующие и протекторные эффекты Эрбисола на основании исследования факторов межклеточной кооперации (продукции медиаторов и экспресии рецепторов и антигенов, которые определяют фенотипические особенности клеток); определены особенности нарушения иммунитета, которые свидетельствуют о возможности применения этих препаратов, как это продемонстрировано на примере такой патологии как хронический мочеполювой хламидиоз.

Ключевые слова: цитокины, T-хелперы I и II типов, Эрбисол.

Тема автореферата диссертации: Вплив препарату Ербісол на функціональну активність імуноткомпетентних клітин 2003 года.

Источник: Автореф. дис. канд. біол. наук: 03.00.09 / В.Й. Фесенкова; Нац. мед. ун-т ім. О. О.Богомольця. — К., 2003. — 22 с.: табл. — укр.

Аннотация: Вперше продемонстровано, що ербісол та його похідні (супер ербісол та екстра ербісол) сприяють зниженню функціональної активності T-хелперів II типу за продукцією таких протизапальних цитокинів як ІЛ-4 та ІЛ-10. Визначено механізм дії нового вітчизняного препарату "Ербісол", головними напрямками якої є стимуляція імунної системи за рахунок підвищення цитокін-продукуючої здатності моноцитів/макрофагів та T-лімфоцитів хелперів I; зниження секреторної активності T-лімфоцитів хелперів II може бути наслідком зростання активності T-х I. Уперше показано імуностимулювальні та протекторні ефекти препарату "Ербісол" та його похідних (супер ербісолу та екстра ербісолу) на основі дослідження факторів міжклітинної кооперації (продукції медиаторів та експресії рецепторів і антигенів, що визначають фенотипічні особливості). Визначено особливості порушень імунітету, які свідчать про можливість застосування цих препаратів, як це продемонстровано на прикладі такої патології як хронічний сечостатевиий хламидіоз.

СПИСОК ОСНОВНИХ ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Дріяньська В.Є., Ващенко В.В., Кушко Л.Я., Григоренко І.П., Сухін Р.Є., Федорук Г.В., Фесенкова В.І., Драннік Г.М. Стан імунітету та продукція інтерлейкіну-10 у хворих на урогенітальний хламидіоз // Галицький лікарський вісник. - 2000. - №3. - С. 40-43.
2. Драннік Г.Н., Дриянская В.Е., Ващенко В.В., Фесенкова В.И., Савченко В.С., Дриянская В.В. Состояние иммунитета у больных с хроническим мочеполювым хламидиозом // Український журнал гематології та трансфузіології. - 2002. - №5. - С.23-24.
3. Драннік Г.М., Дріяньська В.Є., Фесенкова В.Й., Бойко М.І. Експериментальні дослідження впливу Супер ербісолу на продукцію гама-інтерферону та інтерлейкіну-10 лімфоцитами хворих на хронічний сечостатевиий хламидіоз // Імунологія та алергологія. -2003. - №2. - С. 48-52.

4. Дріянська В.Є., Драннік Г.М., Горпінченко Фесенкова В.Й., Ващенко С.М. Продукція інтерлейкіну-1 і оксиду азоту у хворих на хронічний сечостатеви́й хламідіоз та вплив Ербісолу на ці показники в умовах *in vitro* // Імунологія та алергологія. - 2003. - №1. - С. 5-7.
5. Дранник Г.Н., Дриянская В.Е., Ващенко В.В., Фесенкова В.И., Папакина В.С., Дриянская В.В. Продукция цитокинов у больных хроническим урогенитальным хламидиозом в динамике лечения с использованием иммуотропной терапии // Цитокины и воспаление (Cytokines & Inflammation). - 2002. - Том 1, №2. - С. 112.
6. Фесенкова В.Й., Папакина В.С., Дриянская В.Е. Вплив Ербісолу на продукцію цитокінів імунокомпетентними клітинами здорових донорів в умовах *in vitro* // Імунологія та алергологія. - 2002. - №2. - С. 59.
7. Фесенкова В.Й., Драннік Г.М., Дріянська В.Є., Папакіна В.С., Ващенко С.М. Дослідження *in vitro* впливу препаратів Ербісол на продукцію інтерлейкіну-2 та у-інтерферону Т-хелперами I типу здорових донорів // Лабораторна діагностика. - 2003. - №2. - С.37-40.
8. Драннік Г.М., Фесенкова В.Й., Дріянська В.Є., Папакіна В.С., Ніколаєнко О.М., Назар О.В. Дослідження впливу препаратів "Ербісолу" на функціональну активність Т-хелперів II типу за продукцією ІЛ-4 та ІЛ-10 *in vitro* // Лікарська справа. - 2003. - №3. - С.113-117.

АНОТАЦІЯ

Фесенкова В.Й. Вплив препарату Ербісол на функціональну активність імунокомпетентних клітин. - Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня **кандидата біологічних наук** за спеціальністю 03.00.09 - імунологія (біологічні науки). Національний медичний університет ім.О.О.Богомольця МОЗ України, Київ, 2003.

Роботу присвячено вивченню впливу препарату "Ербісол" та його похідних на функціональну активність імунокомпетентних клітин.

Визначений вплив різних доз Ербісолу на функціональну активність макрофагально-фагоцитарної ланки за секрецією ІЛ-1 β та ФНП-а, Т-хелперів I типу (Т-х I) за продукцією ними ІЛ-2 та у-ІФ, Т-хелперів II типу (Т-х II) за секрецією ними ІЛ-4 та ІЛ-10. Показано, що препарат майже в усіх використаних концентраціях (при максимальній дії розведення 1:100) підвищує продукцію ІЛ-1 β і ФНП-а клітинами моноцитарно-макрофагальної ланки та ІЛ-2 і у-ІФ Т-хелперами I типу. Вперше продемонстровано, що Ербісол та його похідні (Супер Ербісол та Екстра Ербісол) сприяють зниженню функціональної активності Т-хелперів II типу за продукцією таких протизапальних цитокінів як ІЛ-4 та ІЛ-10. При порівняльному аналізі ефектів Ербісолу, Супер Ербісолу та Екстра Ербісол не виявлено суттєвої різниці за їх впливом на цитокінпродукуючу здатність імунокомпетентних клітин здорових донорів, за винятком найбільш вираженого впливу Супер Ербісолу на функціональну активність Т-хелперів I типу за продукцією ІЛ-2 та у-ІФ. Проведені дослідження дозволяють визначити механізми дії нового вітчизняного препарату Ербісолу, головними напрямками якої є стимуляція імунної системи за рахунок підвищення цитокін-продукуючої здатності моноцитів/макрофагів та Т-лімфоцитів хелперів I; зниження секреторної активності Т-лімфоцитів хелперів II може бути наслідком зростання активності Т-х I.

Визначені ефекти препарату та його похідних зберігались *in vitro* при дослідженні імунокомпетентних клітин хворих на хронічний сечостатевої хламідіоз. Продемонстровано вірогідне підвищення під впливом Ербісолу продукції ІЛ-1 β та NO як факторів неспецифічного імунітету та киснево незалежних механізмів кілінгу, такого важливого фактору протихламідійного імунітету як у-ІФ разом з пригніченням протизапального цитокіну ІЛ-10.

Якщо після інкубації клітин *in vitro* відбувається пригнічення експресії поверхневих антигенів лімфоцитів (CD3+, CD4+, CD3+16+56+, CD3+DR+, CD25+), то Ербісол та його похідні демонструють протекторну дію по відношенню до клітин Т-ланки імунітету (відповідно Т-лімфоцитів, Т-хелперів, Т-кілерів, Т-активних та Т-хелперів рецепторами до ІЛ-2 (CD28+) і не відновлюють знижені після інкубації *in vitro* параметри експресії антигенів В-клітин (CD3-19+, CD3-DR+).

Таким чином, вперше показані імуностимулюючі та протекторні ефекти препарату Ербісол та його похідних (Супер Ербісолу та Екстра Ербісолу) на основі дослідження факторів міжклітинної кооперації (продукції медіаторів та експресії рецепторів і антигенів, що визначають фенотипічні особливості); визначені особливості порушень імунітету, які свідчать про можливість застосування цих препаратів, як це продемонстровано на прикладі такої патології як хронічний сечостатевої хламідіоз.

Ключові слова: цитокіни, Т-хелпери I та II типів, Ербісол.