

В.Й. Фесенкова, Г.М. Драннік, В.Є. Дряньська, В.С. Папакіна, С.М. Ващенко
ДОСЛІДЖЕННЯ *in vitro* ВПЛИВУ ПРЕПАРАТІВ ЕРБІСОЛ
НА ПРОДУКЦІЮ ІНТЕРЛЕЙКІНУ-2 ТА γ -ІНТЕРФЕРОНУ
Т-ХЕЛПЕРАМИ 1 ТИПУ ЗДОРОВИХ ДОНОРІВ

Інститут урології АМН України, м. Київ; Інститут нефрології АМН України, м. Київ

Сучасний стан здоров'я населення характеризується зниженням захисних сил організму людини та зростанням інфекційної патології, боротьба з якою може бути ефективною при використанні не тільки антимікробних препаратів, але й інших засобів.

В зв'язку з цим зростає інтерес до препаратів, що впливають на імунну систему, особливо - до імуностимуляторів.

Імуностимулятори — лікарські засоби, які мають імуотропну активність та в терапевтичних дозах відновлюють функції імунної системи (ефективний імунний захист) [6].

Важливою проблемою медицини є доцільність використання препаратів, особливо з імуотропною дією, в кожному окремому випадку з розумінням, по-перше, чіткої спрямованості позитивного корегуючого ефекту і, по-друге, можливостей негативного впливу на імунну систему.

В останній час актуальними є дослідження факторів міжклітинної кооперації імунної системи, важливими з яких можна вважати інтерлейкіни - ІЛ (ІЛ-1, -2, -4, -10 та ін.) та інтерферони (ІФ). Останнім часом стало очевидним існування щонайменше двох видів Т-хелперів (Тх), що відрізняються між собою набором цитокінів, які вони синтезують під впливом різноманітних індукторів [8]. Було показано, що CD4⁺-Т-хелпери 1-го типу (Тх1) синтезують ІЛ-2, ІЛ-3, γ -ІФ і ФНП, в той час як Т-хелпери 2-го типу (Тх2) - ІЛ-4, ІЛ-5, ІЛ-6, ІЛ-10. При цьому цитокіни, синтезовані Тх1, сприяють, в основному, розвитку клітинної імунної відповіді, тоді як Тх2 - гуморальної [5, 7].

Дослідження різних видів Тх, котрі визначають тип імунної відповіді, є надзвичайно важливим і дозволяє зробити ще один крок на шляху до розуміння механізмів як розвитку імунопатологічних процесів, так і спрямованості дії різноманітних чинників на імунну систему.

В даному аспекті ми вважали цікавим вивчення впливу нового імуотропного препарату Ербісол та його аналогу Супер Ербісол на стан функціональної активності клітин імунної системи за продукцією цитокінів. Фармакологічна активність Ербісолу визначається вмістом в ньому низькомолекулярних біологічно активних пептидів, активуючих природні, еволюційно сформовані контролюючі системи організму, які відповідають за пошук та видалення патологічних змін [3, 4].

В даній роботі представлений аналіз динаміки продукції ІЛ-2 та γ -ІФ Тх1 під впливом різних доз препаратів Ербісолу.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Продукція цитокінів визначалась шляхом дослідження спонтанного та індукованого синтезу γ -ІФ клітинами здорових донорів в умовах *in vitro*. Для отримання супернатантів з активністю цих медіаторів лімфоїдні клітини в кількості $1,5 \times 10^6$ кл/мл піддавали інкубації протягом 24 годин в CO₂-інкубаторі при 37°C в присутності мітогенів з метою визначення стимульованої секреції, яка характеризує потенційні можливості клітин, та різних доз препаратів Ербісолу. Для оцінки спонтанної продукції цитокінів клітини інкубували без додавання індуктору. Після інкубації клітини осаджували центрифугуванням, збирали супернатанти і зберігали до тестування при -20°C. Вміст цитокінів у супернатантах визначали за допомогою імуоферментного методу на аналізаторі STAT-Fax Plus-303 (USA). Для визначення використовували тест-системи "DIACLON", Франція.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Досліджено вплив препаратів Ербісол та Супер Ербісол на продукцію γ -ІФ у 6 здорових донорів. При спонтанній середній продукції γ -ІФ 57,5±3,5 пкг/мл мітогени фітогемаглютинін (ФГА) та ліпополісахарид (ЛПС) достовірно підвищували вміст γ -ІФ в супернатантах відповідно до 145,6±2,9 пкг/мл та 117,4±6,5 пкг/мл (p<0,05). Під дією Ербісолу продукція γ -ІФ підвищується більш ефективно в розведеннях 1:100 (в 4,5 рази) та 1:500 (в 3,5 рази); продукція цитокіну при концентрації препарату 1:1000 підвищувалась так само, як під дією ЛПС, та була нижче, ніж під впливом ФГА, а розведення 1: 10000 хоч і перевищували спонтанну продукцію γ -ІФ в 1,5 рази, але показники були найнижчими (табл. 1).

Отже, аналіз середніх даних показав, що усі використані розведення препарату Ербісол достовірно підвищують продукцію γ -ІФ, максимум якої відмічено за умов дії Ербісолу в розведенні 1:100 (рис. 1).

Аналогічні результати отримані і при дослідженні препарату Супер Ербісол (рис. 2).

Таким чином, при досліджуваних концентраціях 1:100, 1:500, 1:1000 і 1: 10 000 (розведення 1:100 відповідало разовій дозі препарату 2 мл в перерахунку на кількість клітин лімфоцитарно-моноцитарного ряду в 1 мл культурального "середовища на $1,5 \times 10^6$ кл/мл Ербісол та Супер Ербісол проявляли інтерферон-індукуючу активність, досягаючи максимуму і перевищуючи можливості таких мітогенів, як ФГА та ЛПС, відповідно в 1,5 та 2 рази при розведенні 1:100. При цьому, продукція γ -ІФ під впливом цих препаратів навіть при розведенні 1:10 000 в 1,5 рази перевищувала спонтанну продукцію цитокіну.

Дослідження продукції ІЛ-2 під впливом препаратів Ербісол та Супер Ербісол продемонстрували такі ж самі ефекти (табл. 2, рис. 3). Обидва препарати суттєво підвищували продукцію медіатора, максимальний вплив відмічено при розведенні 1:100 - показники перевищували спонтанну секрецію майже в 6 разів, а стимульовану ФГА і ЛПС - в 2,5 та 1,5 рази відповідно.

Розведення 1:10 000 не змінювали активність клітин по секреції ІЛ-2.

Таблиця 1

Вплив препарату Ербісол на продукцію γ -інтерферону (пкг/мл) у здорових донорів в умовах *in vitro*

Донори	Спонтанна продукція	Фітогем-аглютинін	Ліпополісахарид	Розведення Ербісолу			
				1: 100	1:500	1 : 1000	1 : 10000
				4	5	6	7
1	50,8	145,7	135,4	230,2	178,4	138,5	103,3
2	48,5	139,0	131,3	236,5	171,3	118,3	97,6
3	68,5	145,4	103,6	248,6	182,6	126,8	98,2
4	57,8	155,3	98,7	267,3	206,2	120,1	88,5
5	50,8	142,6	125,5	273,4	228,8	128,7	96,8
6	68,5	145,7	110,6	283,9	198,7	128,9	91,7
M±m	57,5±3,5	145,6±2,9	117,4±6,5	256,719,5	194,3±10,1	126,9±3,6	96,0±2,6

Примітки: P1-(2-7)<0,05.

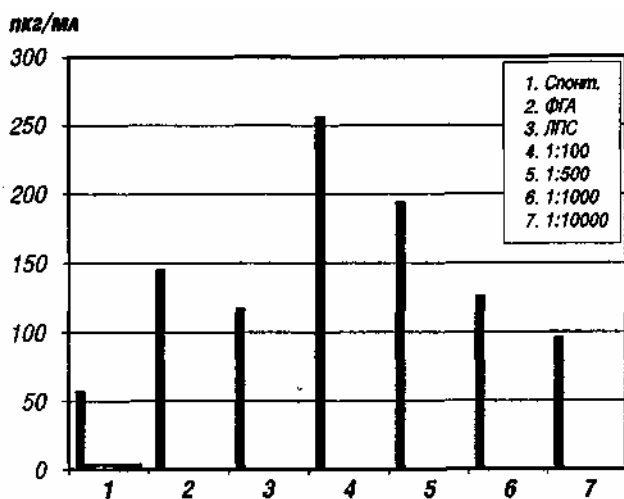


Рис.1. Вплив мітогенів ФГА, ЛПС (2, 3) і різних доз Ербісолу (4—7) на продукцію γ -інтерферону (пкг/мл) імунокомпетентними клітинами здорових осіб в умовах *in vitro*

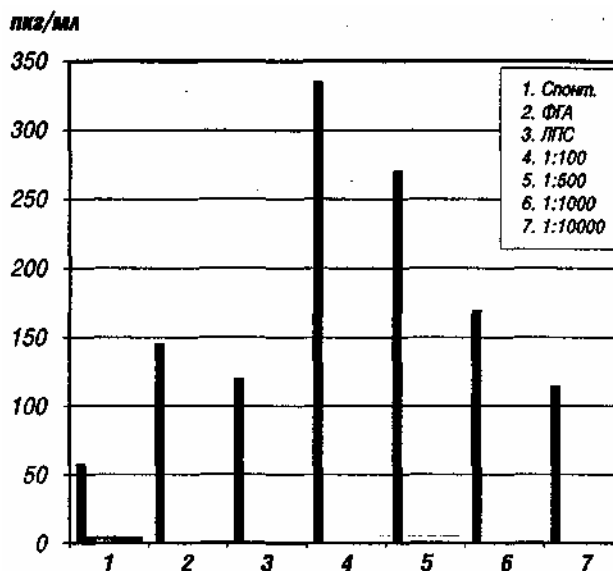


Рис.2. Вплив мітогенів ФГА, ЛПС (2, 3) і різних доз Супер Ербісолу (4-7) на продукцію γ -інтерферону (пкг/мл) імунокомпетентними клітинами здорових осіб в умовах *in vitro*

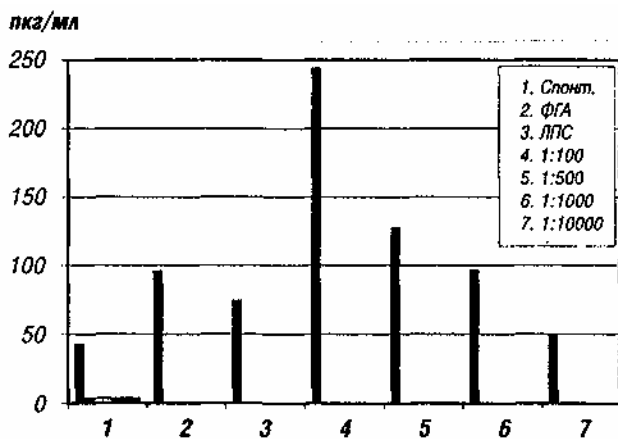


Рис. 3. Вплив мітогенів ФГА, ЛПС (2, 3) і різних доз Супер Ербісолу (4—7) на продукцію інтерлейкіну-2 (пкг/мл) імунокомпетентними клітинами здорових осіб в умовах *in vitro*

Система ІФ — найважливіший фактор неспецифічної резистентності, яка представлена практично у кожній клітині організму. ІФ здатний проявляти пряму антипроліферативну та цитотоксичну дію на вірус-інфіковані та пухлинні клітини, а також пригнічувати реплікацію вірусів у клітині та розмноження ряду внутрішньоклітинних паразитів. γ -ІФ підвищує експресію антигенів головного комплексу гістосумісності (HLA) 1 та 2 класів на моноцитах/макрофагах, тим самим підвищуючи ефективність презентації антигенів [2, 10, 11].

Продемонстрована нами динаміка продукції γ -ІФ та ІЛ-2 дозволяє вважати препарати Ербісол та Супер Ербісол імуностимуляторами, які впливають на активацію Тх1, та рекомендувати ці препарати для використання в клініках з метою підвищення функціональної активності відповідних ланок імунітету.

Таблиця 2

Вплив препарату Ербісол на продукцію інтерлейкіну-2 (пкг/мл) у здорових донорів в умовах *in vitro*

Донори	Спонтанна продукція	Фітогем-аглютинін	Ліпополі-сахарид	Розведення Ербісолу			
				1:100	1:500	1:1000	1:10000
	1	2	3	4	5	6	7
1	46,7	92,0	67,0	277,4	138,1	109,6	54,4
2	36,4	96,8	79,4	218,0	113,2	91,4	48,6
3	41,2	95,0	67,9	218,2	114,5	92,2	44,5
4	44,0	96,7	80,5	220,1	107,9	87,6	43,6
5	44,9	104,0	71,0	265,3	135,5	100,4	49,8 6
6	42,1	95,0	72,8	253,1	130,5	96,8	47,3
M±m	42,6±1,8	96,6±2,1	73,1±2,4	242,0±10,5	123,3 ±4,4	96,3 ±3,9	48,0 ±1,9

Примітки: P1-(2-6)<0,05; P2-(1-5)<0,05.

ЛІТЕРАТУРА

1. Кашкин К. П. Цитокины иммунной системы: основные свойства и иммунобиологическая активность (лекция) // Клинич. лаб. диагностика. — 1998. — N11 — С. 21-32.
2. Малащенко И.К., Тазулахова Э.Б., Дидковский Н.А. Интерфероны и индукторы их синтеза (обзор) // Терапевт, архив. — 1998. — N П. — С. 35-39.
3. Николаенко А.Н. Новый высокоэффективный лекарственный препарат Эрбисол // 5 Российский конгресс "Человек и лекарство". — 1998. — С. 390.
4. Николаенко А.Н. Основные направления в создании и внедрении нового лекарственного препарата Эрбисол // **Новый украинский медицинский препарат Эрбисол.** — Киев, 1994. - С. 4-9.
5. Фрейдлин И. С. Паракринные и аутокринные механизмы цитокиновой иммунорегуляции // Иммунология. — 2001. - N5. - С. 4-7.
6. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. Современные иммуномодуляторы: основные принципы их применения // Иммунология. — 2000. — N5. — С. 4-7.
7. Шичкин В. П. Патогенетическое значение цитокинови перспектива цитокин / антицитокиновой терапии // Иммунология. — 1998. — N2. — С. 9-13.
8. Ярилин А.А. Система цитокинов и принципы ее функционирования в норме и при патологии // Иммунология. 1997. - N 5. - С. 7-13.
9. Granowich E. V., Vanner E., Pontsiaca D.D., Dinarello C.A. Interaction of immunocompetibility cells by IL-1 and IL-2 in immune reaction // Blood. — 1992. — Vol. 79, N9. - P. 2364-2369.
10. Kerr I. M., Stark G. R. The antiviral effects of the interferon sand their inhibition // Interferon Res. — 1992. — N 12. — P. 237-240.
11. Maeyer E., Maeyer-Guignard J. Interferon-; and other regulatory cytokines // New York. — 1988. — 450 p.
12. Romagnani S. The Th1/Th2 paradigm // Immunol. Today. - 1997. - Vol. 18, N6. - P. 263-266.
13. Wahls S.M., McCartney-Francis N., Hunt D.A. et al. Monocyte interleukin 2 receptor gene expression and interleukin 2 augmentation of microbicidal activity // J. Immunol. — 1997. - N4. - P. 1342-1347

ИССЛЕДОВАНИЕ *in vitro* ВЛИЯНИЯ ПРЕПАРАТОВ ЭРБИСОЛ НА ПРОДУКЦИЮ ИНТЕРЛЕЙКИНА-2 И γ -ИНТЕРФЕРОНА Т-ХЕЛПЕРАМИ I ТИПА ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ

В. И. Фесенкова, Г.Н.Дранник, В.Е. Дриянская, В.С. Паникина, С.Н. Ващенко

Проведены исследования влияния различных доз препаратов Эрбисол и Супер Эрбисол на функциональную активность Т-лимфоцитов хелперов I типа здоровых лиц по продукции интерлейкина-2 (ИЛ-2) и γ -интерферона (γ -ИФ) в условиях *in vitro*. Полученные данные позволяют считать эти препараты иммуностимуляторами, влияющими на повышение секреции таких важных медиаторов иммунной системы, как ИЛ-2 и γ -ИФ.

***In vitro* INVESTIGATION OF ERBISOL PREPARATIONS EFFECT ON INTERLEUKINE-2 AND γ -INTERFERONE PRODUCTION BY T-HELPERS I OF HEALTHY DONORS**

V.I. Fesenkova, G.N. Drannik, V.Ye. Driyanskaya, V.S. Papakina, S.N. Vashchenko

The effect of various doses of Erbisol and Super Erbisol preparations on the functional activity of T-lymphocytes helpers I of healthy persons in the production of interleukine-2 (IL-2) and γ -interferone (γ -IF) has been investigated *in vitro*. The data obtained allow us to consider these preparations as immunostimulators influencing the increased secretion of such important mediators of the immune system as IL-2 and γ -IF.