

Г. М. ДРАННИК, В. Й. ФЕСЕНКОВА, В. Є. ДРІЯНСЬКА, В. С. ПАПАКІНА,
О. М. НІКОЛАСНКО, О. В. НАЗАР (Київ)

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ПРЕПАРАТІВ "ЕРБІСОЛУ" НА ФУНКЦІОНАЛЬНУ АКТИВНІСТЬ Т-ХЕЛПЕРІВ II ТИПУ ЗА ПРОДУКЦІЄЮ ІЛ-4 ТА ІЛ-10 IN VITRO

Інститут урології АМН України, Інститут нефрології АМН України

Нині, завдяки дослідженням в галузі фундаментальної та клінічної імунології, не викликає сумніву, що багато захворювань прямо чи побічно обумовлено порушеннями в системі імунітету, нормалізація яких може значно підвищити ефективність терапевтичних заходів. Необхідність застосування імунокоригуючих препаратів особливо актуальна в зв'язку із збільшенням кількості факторів, що негативно впливають на стан імунітету. Серед них забруднення навколишнього середовища та наслідки чорнобильської катастрофи одні з найважливіших. Розвиток фундаментальної та прикладної імунології дозволив дійти висновку, що функції імунної системи можуть істотно змінюватися (в напрямі підсилення або пригнічення) під впливом різних ендогенних і екзогенних факторів. Як наслідок з'явився новий клас лікарських засобів — імунотропні препарати, якими можуть бути як синтетичні та біотехнологічні, так і природні речовини, здатні впливати на різні ланки імунної системи і, як наслідок, — змінювати силу, характер і спрямованість імунної реакції [8]. До таких засобів належить вітчизняний препарат "Ербісол" — комплекс природних небілкових низькомолекулярних органічних сполук негормонального походження, отриманих з тваринної ембріональної тканини, який містить глікопептиди, пептиди, нуклеотиди, амінокислоти [4, 5].

Фармакологічна активність препарату визначається вмістом в ньому низькомолекулярних біологічно активних пептидів, які активізують імунну систему щодо прискорення відновлення пошкоджених та знищення аномальних клітин і тканин. Основний імуномодулюючий ефект препарату проявляється перш за все через дію на макрофагальну ланку, відповідальну за репарацію пошкоджених клітин та відновлення функціональної активності органів і тканин, а також через N- та T-кілери, відповідальні за знищення пошкоджених клітин, не здатних до регенерації, або аномальних клітин (мутантних, злоякісних, клітин-вірусоносіїв тощо) і тканин [5, 6].

Імунокоригуюча дія "Ербісолу", спрямована на функціональну активність клітин, викликає інтерес спеціалістів. Останнім часом в імунології виник такий напрям, як дослідження факторів міжклітинної кооперації імунної системи, важливими з яких можна вважати інтерлейкіни (ІЛ) та інтерферони (ІФ) [2, 3, 9, 10]. В процесі регуляції імунної відповіді беруть участь різні цитокіни, деякі виступають як синергісти, наприклад ІЛ-4 та ІЛ-10, інші — як антагоністи, зокрема ІЛ-10 та інтерферон [1, 7].

Втручання в процеси взаємозв'язку між клітинами імунної системи — макрофагальною ланкою, Т-хелперами I та II типів — шляхом продукції цитокінів за допомогою імуномодулюючих засобів повинно бути науково обгрунтованим для запобігання негативним реакціям імунної системи.

Метою досліджень було визначення динаміки продукції інтерлейкінів ІЛ-4 та ІЛ-10, що продукуються Т-хелперами II типу донорів під впливом різних доз препаратів "Ербісол" та "Супер Ербісол" в умовах *in vitro*.

Продукцію цитокінів визначали шляхом дослідження спонтанного та індукovanого синтезу ІЛ-4 та ІЛ-10 клітинами донорів *in vitro*. Для отримання супернатантів з активністю цих медіаторів лімфоїдні клітини в кількості $1,5 \cdot 10^6$ кл./мл інкубували протягом 24 год в CO_2 -інкубаторі при 37°C за наявності мітогенів з метою визначення стимульованої секреції, яка характеризує потенційні можливості клітин, та різних розведень доз препаратів "Ербісол". Для оцінки спонтанної продукції цитокінів клітини інкубували без додавання індуктора. Після інкубування клітини осаджували центрифугуванням, збирали супернатанти і зберігали до тестування при -20°C . Вміст цитокінів у супернатантах визначали за допомогою імуноферментного методу на аналізаторі STAT-Fax Plus-303 (США) з використанням тест-системи "Diaclon" (Франція).

При дослідженні функціональної активності імунокомпетентних клітин за секрецією ІЛ-4 у 6 здорових донорів виявлено відсутність значних коливань спонтанної продукції цього цитокіну; результати були досить однорідні (табл. 1). Під дією мітогену ФГА не відмічено достовірних змін середньої спонтанної про-

дукції ІЛ-4 в групі: спонтанна становила (12,5±0,4) пкг/мл, після стимуляції фітоагмаглютинину (ФГА) - (13,6±0,6) пкг/мл (P>0,05). Ліпополісахарид (ЛПС) підвищував концентрацію ІЛ-4 в супернатантах до (17,1±0,9) пкг/мл (P<0,05) (див. табл. 1).

За результатами тестування супернатантів імунокомпетентних клітин наявність в них ІЛ-4 після прийому "Ербісолу" встановлено, що порівняно із спонтанною середньою продукцією ІЛ-4 — (12,5±0,4) пкг/мл дія "Ербісолу" була пригнічувальна: максимальний інгібуючий ефект на продукцію ІЛ-4 "Ербісол" проявив у розведенні 1:100 і становив при цьому (3,0±0,5) пкг/мл (P<0,05) (див. табл. 1). Навіть розведення 1:10 000 достовірно знижувало показник активності ІЛ-4 в супернатанті від (12,5±0,4) пкг/мл до (7,5±0,7) пкг/мл (P<0,05) (див. табл. 1). Динаміка поступових змін секреції медіатора Т-хелперами II типу — підвищення продукції із зниженням концентрації "Ербісолу" — представлена на рис. 1.

Таблиця 1. Показники продукції ІЛ-4 у здорових під впливом різних розведень препаратів "Ербісол" та "Супер Ербісол" в умовах in vitro

Продукція ІЛ-4 під впливом			Розведення препаратів			
спонтанна (1)	ФГА (2)	ЛПС (3)	1:100 (4)	1:500 (5)	1:1 000 (6)	1:10 000 (7)
13,4	14,8	20,3	2,1/2,4	3,8/3,9	4,6/5,2	7,5/6,9
12,0	14,1	15,5	1,9/2,5	3,2/3,8	3,7/4,6	5,6/7,5
11,1	13,7	15,4	2,3/2,9	2,5/3,8	3,9/5,4	6,3/8,3
13,6	14,2	18,6	4,8/5,1	5,5/6,1	6,4/6,5	9,8/8,6
11,7	13,1	16,2	2,6/2,6	4,7/3,5	5,9/3,8	7,6/6,8
13,4	11,5	16,4	4,4/4,4	5,2/5,9	6,2/6,7	8,4/9,7
12,5±0,4	13,6±0,6	17,1±0,9	3,0±0,5	4,2±0,4	5,1±0,5	7,5±0,7

Примітки: P1-(3-7)>0,05; P2-(3-7)>0,05.

У чисельнику показник продукції ІЛ-4 під впливом "Ербісолу", у знаменнику — під впливом "Супер Ербісолу".

Дослідження впливу препарату "Супер Ербісол" на продукцію ІЛ-4 показало аналогічний ефект, різниці в показниках після дії тих самих розведень (1:100, 1:500, 1:1000 та 1:10 000) не було (див. табл. 1).

Таким чином, обидва препарати достовірно знижували продукцію медіатора - максимальне зниження продукції ІЛ-4 під дією препаратів "Ербісол" та "Супер Ербісол" спостерігалось при їх концентрації 1:100. При цьому під впливом препаратів у даній концентрації продукція ІЛ-4 була в 4 рази нижчою порівняно з вихідним рівнем. При порівняльному аналізі не виявлено різниці між дією "Ербісолу" та "Супер Ербісолу" на секрецію ІЛ-4 Т-хелперами II типу.

При аналізі продукції ІЛ-10 відмічено, що мітогени достовірно

стимулювали її (табл. 2), тоді як під впливом препаратів "Ербісол" та "Супер Ербісол" відбувалось прямо

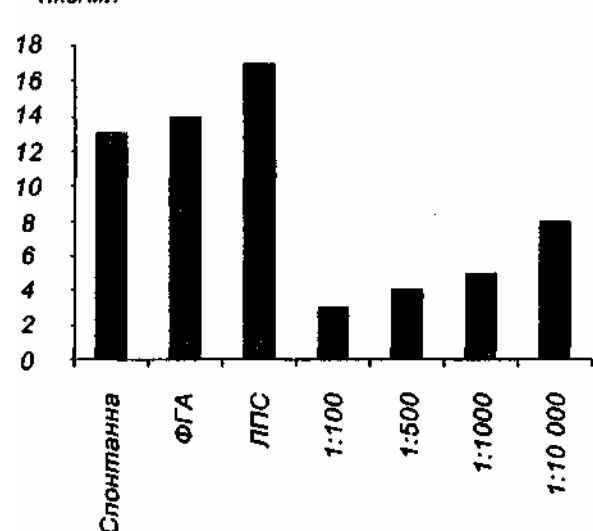


Рис. 1. Вплив мітогенів ФГА, ЛПС і різних розведень "Ербісолу" на продукцію ІЛ-4 імунокомпетентними клітинами донорів в умовах in vitro

Таблиця 2. Показники продукції ІЛ-10 у здорових під впливом різних розведень препарату "Ербісол" в умовах *in vitro*

Продукція ІЛ-10 під впливом			Розведення			
спонтанна (1)	ФГА (2)	ЛПС (3)	1:100 (4)	1:500 (5)	1:1 000 (6)	1:10 000 (7)
95.8	100.6	122.5	43.3	55.8	64.6	77.5
77.5	109.3	134.7	37.4	53.2	63.7	75.6
88.5	122.9	165.1	30.4	42.5	53.9	66.3
82.5	117.8	156.2	19.7	35.5	46.4	59.8
85.8	104.5	124.6	32.4	49.7	60.1	77.6
79.4	107.4	132.8	19.0	35.2	46.2	68.4
84,9±3,2	110,4±3,9	139,3±7,1	30,4±4,3	45,3±3,6	55,8±3,2	70,9±3,1

Примітки: $P_4 < 0,05$; $P_5 < 0,05$.

пропорційне зниження секреції цього цитокіну (в 1,5 раза при розведенні 1:1000) (рис. 2). При порівняльному аналізі впливу різних розведень обох препаратів показники не різнились між собою (див. рис. 2).

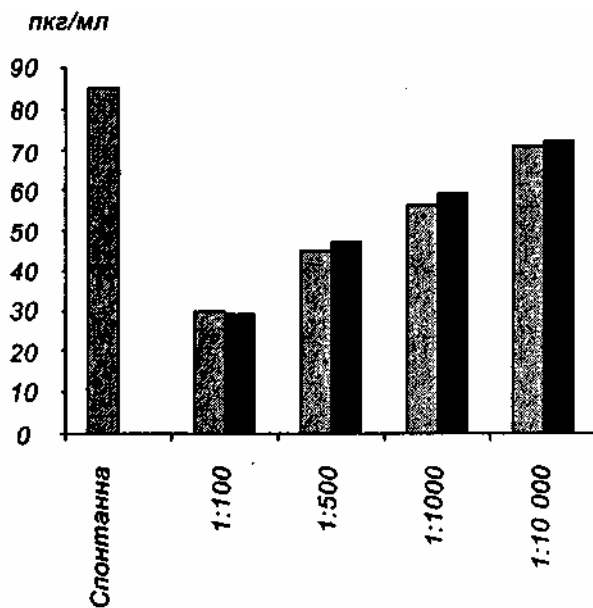


Рис. 2. Вплив "Ербісолу" та "Супер Ербісолу" на продукцію ІЛ-10 клітинами донорів *in vitro*:
— "Ербісол"; — "Супер Ербісол"

Максимальне зниження продукції ІЛ-10 під дією препаратів "Ербісол" та "Супер Ербісол" (майже в 3 рази) спостерігалось при їх концентрації 1:100 (див. рис. 2). При цьому під дією препаратів "Ербісолу" в даній концентрації секреція ІЛ-10 була в 4 рази нижча, ніж під дією мітогенів ФГА та ЛПС (див. табл. 2).

Таким чином, дослідження впливу "Ербісолу" та "Супер Ербісолу" на продукцію ІЛ-10 показало, що препарати суттєво знижували продукцію медіатора, максимальний вплив — зниження показників в 3 рази — відмічено при їх дії в розведенні 1:100.

Виявлений вплив препаратів на продукцію імунокомпетентними клітинами ІЛ-4 та ІЛ-10 має велике значення для подальшого застосування препаратів класу "Ербісол".

Відомо, що ІЛ-4 та ІЛ-10 належать до цитокінів, які продукуються Т-хелперами II типу. За наявності цього лімфокину СД4-ЛІМФОЦИТИ диференціюються в хелпери II типу, які у

подальшому продукують ІЛ-4, ІЛ-5, ІЛ-6, ІЛ-10 та призводять до включення гуморальної імунної відповіді, тобто активізують синтез специфічних антитіл — імуноглобулінів [1-3, 10, 13]. ІЛ-4 — ключовий фактор в регуляції алергічної відповіді та ІgЕ-антитілоутворення через механізм активізації Т-хелперів II типу [2]. ІЛ-4 у більшості випадків виступає як антагоніст гамма-ІФ при дії на макрофаги, Т-хелпери, В-лімфоцити. Перш за все ІЛ-4 пригнічує продукцію макрофагами прозапальних цитокінів та хемокінів - фактор некрозу пухлин (α -ФНП), ІЛ-1, ІЛ-2, а також продукцію макрофагами супероксидних та нітросидних радикалів і порушує відповідь макрофагів на дію деяких субкласів імуноглобулінів, змінюючи експресію відповідних FcR [2, 7, 13].

ІЛ-10 також відіграє важливу біологічну роль. Він є протизапальним цитокіном, що специфічно пригнічує активність Т-хелперів I типу, інгібує продукцію активованими моноцитами ІЛ-1, ІЛ-6, ІЛ-8, ІЛ-12, ІФ, α -ФНП, супероксидних та нітросидних радикалів, антигенірезентуючу функцію макрофагів за рахунок зниження експресії НLА-антигенів II класу на мембранах та ін. [1, 2, 10-12].

Неможливо дати однозначну оцінку ефектам впливу "Ербісолів" на функціональну активність Т-хелперів II типу — проблематично стверджувати, що препарати односпрямовано діють тільки на ці клітини, пригнічуючи продукцію ІЛ-4 та ІЛ-10. Нашими дослідженнями також показано, що ці препарати достовірно стимулюють продукцію цитокінів Т-хелперами I типу (ІЛ-2, гамма-ІФ) і, можливо, ці клітини є першочерговим об'єктом дії, а зниження лімфокін-продукуючої здатності хелперів II типу є вторинним ефектом, тобто високий рівень прозапальних цитокінів сприяє зниженню секреції протизапальних.

Слід взяти до уваги, що різні цитокіни є компонентами єдиного функціонального комплексу і вони практично завжди створюються та діють в комбінації. Система медіаторів чітко структурована, Ідо забезпечує послідовність продукції цитокінів, відповідальних за різні фази та ланки механізмів захисту. Тому продемонстрований нами імуноотропний вплив "Ербісолів" на одну з ланок імунітету — Т-хелпери II типу — викликає великий інтерес для аналізу комплексної дії цих препаратів на продукцію цитокінів імунокомпетентними клітинами, особливо у випадках конкретного захворювання, для якого характерні особливості продукції лімфокінів.

С п и с о к л і т е р а т у р и

1. Беклемишев Н. Д. // Иммунология. — 1995. — №5. — С. 4-9.
2. Кашкин К. П. // Клин. лаб. диагностика. — 1998. — № 11. — С. 21-32.
3. Нейко Є. М., Александрук О. Д., Островський М. М. // Галин, лікар, вісн. — 2000. — №4. — С. 153-158.
4. Николаенко А. Н. // 5-й Рос. конгр. "Человек и лекарство". — М., 1998. — С. 390.
5. Николаенко А. Н. // Новый украинский медицинский препарат Эрбисол. — К., 1994. — С. 4-9.
6. Николаенко А. Н. // Фармакол. вісн. — 1998. — № 6. — С. 69-74.
7. Фрейдлин И. С. // Иммунология. — 2001. — № 5. — С. 4-7.
8. Хаитов Р. М., Пинегин Б. В. // Там же. — 2000. — № 5. — С. 4-7.
9. Шичкин В. П. // Там же. — 1998. — № 2. — С. 9-13.
10. Ярилин А. А. // Там же. — 1997. — № 5. — С. 7-13.
11. Gaewski T. F., Fitch F. // J. Immunol. — 1988. — Vol. 140. — P. 4245-4246.
12. Mosman T. R. // Adv. Immunol. — 1994. — Vol. 56. — P. 1-9.
13. Romagnani S. // Immunol. Today. — 1997. — Vol. 18, N 6. — P. 263-266.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ПРЕПАРАТОВ "ЗРБИСОЛА" НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ Т-ХЕЛПЕРОВ II ТИПА ПО ПРОДУКЦИИ ИЛ-4 И ИЛ-10 IN VITRO

Г. Н. Дранник, В. И. Фесенкова, В. Е. Дриянская, В. С. Папакина,
А. Н. Николаенко, О. В. Назар (Киев)

Проведены исследования влияния различных разведений доз препаратов "Эрбисол" и "Супер Эрбисол" на функциональную активность Т-лимфоцитов хелперов II типа здоровых лиц по продукции ИЛ-4 и ИЛ-10 in vitro. Полученные данные позволяют считать их иммуноотропными препаратами, влияющими на снижение секреции таких важных медиаторов иммунной системы, как ИЛ-4 и ИЛ-10.

STUDIES ON EFFECTS OF ERBISOL DRUG PREPARATIONS ON THE FUNCTIONAL ACTIVITY OF TYPE II T-HELPERS AS TO IN VITRO PRODUCTION OF IL-4 AND IL-10

G. N. Drannik, V. I. Fesenkova, V. E. Driyanskaya, V. S. Papakina, A.
N. Nikolaenko, O. V. Nazar (Kiev)

Studies were conducted on effects of different doses of the drug preparations erbisol and super erbisol on the functional activity of type II helpers T-lymphocytes in healthy subjects in respect of in vitro production of interleukine-4 (IL-4) and interleukine-10 (IL-10). The data secured permit regarding the above drugs as immunomodulating agents promoting reduction of secretion of such important mediators of the immune system as IL-4 and IL-10

«Лікарська справа» 2003 р. № 3-4, с. 113-117.