

Humus Ekstraktının Farelerde Trypanosoma brucei Enfeksiyonuna Karşı Koruyucu Etkisi

Hiroshi KODAMA¹⁾, DENSO^{1)*}, Fumi OKAZAKI¹⁾ ve Saeko ISHIDA¹⁾

¹⁾Veteriner İmmünoloji Laboratuvarı, Veterinerlik Bilimi Kursu, Yaşam ve Çevre Bilimleri Enstitüsü, Osaka Prefektörlük Üniversitesi, Sakai, Osaka 599-8531, Japonya

(17 Mart 2008'de alındı/20 Haziran 2008'de kabul edildi)

ÖZ. Hüyük maddeler, humustaki organik maddenin ayrışması sırasında oluşur ve organik madde ve mikroorganizmaların bulunduğu birçok doğal ortamda bulunur. Humus ekstraktının farelere ağızdan uygulanması, iki alt tür olan Trypanosoma brucei brucei ve T. brucei gambiense tarafından deneysel mücadeleye karşı başarılı bir şekilde etkili koruma sağladı. Ölüm oranı, ad libitum içme suyunda 21 gün boyunca %3 humus özütü alan farelerde en çok azaldı. Humus uygulanan farelerden alınan dalak hücreleri, L1210 fare lösemi hedef hücrelerine karşı belirgin, spesifik olmayan sitotoksik aktivite sergiledi. Ayrıca, dalak hücreleri, Concanavalin A ile in vitro uyarıldıklarında, normal kontrollerdeki hücrelere göre önemli ölçüde daha yüksek miktarlarda Interferon-y üretmiştir. Bu sonuçlar, humus ekstraktının farelere uygulanmasının Trypanosoma enfeksiyonuna karşı etkili direnci indüklediğini açıkça göstermektedir.

Doğuştan gelen bağışıklık sisteminin güçlendirilmesi, tripanozomiyazise karşı konak savunmasında yer alabilir.

ANAHTAR KELİMELEER: hüyük madde, İnterferon-y, lenfosit aktivasyonu, koruma, Trypanosoma brucei.

Vet. İle. bilim 70(11): 1185-1190, 2008

Trypanosoma brucei, sığırlarda Nagana'nın ve insanlarda Afrika uyku hastalığına neden olan bir ajandır. Çeçe sineği [14] tarafından bulaşan ve Sahra altı Afrika'da dağıtılan bir kan akışı hemoflagellat protozoa parazittir. Etkilenen hayvanlar, ölümlü sonuçlanan halsizlik, şiddetli anemi ve kaşeksiye maruz kalır [4, 19]. Uzun yıllar süren çabalara rağmen, tripanozomların antijenik varyasyonları nedeniyle etkili profilaktik aşilar geliştirilememiştir.

Konağın bağışıklık sisteminden kaçmak için varyant yüzey glikoproteinlerini değiştirirler [2-4, 19]. Ayrıca, kitlesel gözetim kampanyalarına rağmen, vektörler tamamen ortadan kaldırılmamıştır ve insektisitlere karşı direncin kazanılması endişe vericidir [14]. Afrika tripa nosomiyazını tedavi etmek için kullanılan ilaçlar da ilişkili konak toksisitesi nedeniyle kısıtlamalara sahiptir. Bu nedenle, tripanozomlara karşı konak direncini etkili bir şekilde indükleyebilen yeni doğal ve sentetik bileşikler aramaya değer.

Hüyük maddeler, humustaki organik maddenin ayrışması sırasında oluşur. Organik materyallerin ve mikroorganizmaların mevcut olduğu veya mevcut olduğu birçok doğal ortamda bulunabilirler [24]. Kimyasal bileşimleri, yapıları ve fonksiyonel grupları kökenlerine, yaşlarına ve nemlendirme işleminin koşullarına (nem, havalandırma, sıcaklık, mineral mikro ortam vb.) göre değişebilir. Humus, turba, sapropel ve mumya gibi doğal nemlendirme ürünleri, tıp pratiğinde çeşitli uygulamalara sahip farmakolojik ajanlar geliştirmek için kullanılmıştır [23, 25]. Bu ajanlar, lokal antiinflatuar ve analjezik özelliklere sahip oldukları için antiinflatuar ajanlar olarak başarıyla kullanılmaktadır [7, 16, 21]. Kömür türevli hüyük asit ve fulvik asitin kullanılması

antimikrobiyaller de araştırılmıştır [20] ve oksihumatin [22] ve sentetik hüyük asit analoglarının [18] anti-HIV aktivitesi bildirilmiştir. Bununla birlikte, hayvan hastalıklarının tedavisinde hüyük maddelerin potansiyeli pek araştırılmamıştır. Buna göre, bu çalışma humus ekstraktının farelerde T. brucei enfeksiyonuna karşı koruyucu etkisini araştırmak için yapılmıştır. Muhtemel koruma mekanizmasını belirlemek için konakçı bağışıklık sisteminin spesifik olmayan aktivasyonu da araştırıldı.

MALZEMELER VE YÖNTEMLER

Humus özü: Açık kahverengimsi iki atomlu toprak (humus), Aino-machi, Nagasaki Eyaleti, Kyushu, Japonya'da 5 ila 10 m derinlikte yer altında toplandı. Humus ekstraktı, su kullanılarak humustan hazırlanmıştır [8]. Humusa 6 hacim kloruz su (v/w) ilave edildi; karışım 30 gün boyunca her gün çalkalandı ve ardından 4 ay boyunca 25 ila 28°C'de beklemeye bırakıldı. Nihai süpernatant toplandı ve bir membran filtre (gözenek boyutu: 25 m) kullanılarak süzüldü. Ortaya çıkan humus ekstraktı pH 2.8'e sahiptir ve Al, Ca, Mg, Na ve Si dahil olmak üzere çeşitli mineraller içerir.

Ekstrakt 1,500 ppm sülfat içeriyordu. Bu ekstraktta kültürlenebilir bakteri bulunmadı. Küçük miktarlarda protein ve karbonhidrat vardı (toplam ağırlığın %0,7'si).

Farelerin humus ekstraktı ile tedavisi: Her iki cinsiyetten sekiz haftalık kendilenmiş BALB/c fareleri gruplara ayrıldı ve farklı aralıklarla kloruz musluk suyunda çözünmüş %1-6 humus ekstraktı ad libitum ile uygulandı.

Yüksek konsantrasyonda humus ekstraktı (%10'a kadar) uygulanan farelerde olağandışı bir içme davranışı gözlenmedi. Kontrol farelerine humus ekstraktı içermeyen su verildi.

T. brucei ile meydan okuma: T. brucei brucei suşu ILtat 1.4 ve Dr.

* Yazışma Adresi : KODAMA, H., Veteriner İmmünoloji Laboratuvarı, Veterinerlik Bilimi Kursu, Yaşam ve Çevre Bilimleri Enstitüsü, Osaka İli Üniversitesi, Sakai, Osaka 599-8531, Japonya. e-posta: kodama@vet.osakafu-u.ac.jp

Uluslararası Salgın Hastalıkların Önlenmesi, Veterinerlik Bilimi Kursu, Biyoloji ve Çevre Bilimleri Enstitüsü, Osaka İli Üniversitesi. T. brucei stoğu , virülansı korumak için deneyden önce tripanozom içeren periferik kanın intraperitoneal aşılama ile farelerde iki kez geçirildi. Tehdit için, her fare intraperitoneal olarak T. brucei'nin kan dolaşımı formunun 101/0.1 ml'si ile aşılandı. Birinci deneyde, içme suyunda 21 gün boyunca %3'lük humus ekstraktı verilen fareler, T. brucei gambiense ile tehdit edildi. İkinci denemede humus ekstraktının koruyucu etkisi ile uygulama süresi (0, 5, 10 veya 21 gün) arasındaki ilişkiyi incelemek amacıyla T. brucei kullanılarak yüklem testleri yapılmıştır. Humus ekstraktının koruyucu etkisi ile konsantrasyon (yüklemeden 21 gün önce uygulanan %1, 2, 3, 4 veya 6) arasındaki ilişkiyi incelemek için T. brucei kullanılarak zorlama testleri de yapıldı (üçüncü deney). Tripanozom aşılama sonrası 20 gün boyunca humus ekstraktı uygulandı. Tüm fareler, hayatta kalmalarını belirlemek için 20 gün boyunca gözlemlendi.

Deney, Osaka İli Üniversite Hayvan Bakımı ve Kullanımı Komitesinin yönergelerine göre yapıldı.

Dalak hücreleri sitotoksik testi: Dalak hücreleri ayrıldı ve sitotoksik analizi için kullanıldı. Dalaklar, antibiyotik içeren Hanks Dengeli Tuz Çözeltisi (HBSS, pH 7.4; Nissui Pharmaceutical Co., Tokyo, Japonya) içinde küçük parçalar halinde kesildi. Daha sonra hücreler paslanmaz çelik ağırlardan geçirilerek tek hücreli süspansiyonlar hazırlandı. 4°C'de 5 dakika 400 x g'de santrifüjlemeden sonra elde edilen hücre pelletleri, kırmızı kan hücrelerini parçalamak için 0.15 M Tris-HCl tamponunda (pH 7.6) çözölmüş %0.75 amonyum klorür içinde karıştırıldı. 60 saniye lizis tamponu ile muameleden sonra hücreler iki kez HBSS ile yıkandı. Tripan mavisi boya dışlama testi ile belirlenen hücre canlılığı, %90'dan fazlaydı.

Dalak hücrelerinin L1210 fare lenfositik lösemi hattı hücrelerine karşı spesifik olmayan sitotoksik aktivitesi, ticari bir kit (Cytotox 96 Non-Radioactive Assay, Promega, Madison, Wis., ABD) kullanılarak incelenmiştir. L1210 hedef hücreleri, %10 fetal siğir serumu ve antibiyotikler içeren RPMI 1640'ta (pH 7.4; Nissui Pharmaceutical Co.) 37°C'de yetiştirildi. Daha sonra 5 x 10⁵ hücre/ml'lik bir konsantrasyonda RPMI 1640 içinde süspansiyon edildi. Etketör hücrelerin (0.1 ml) ve hedef hücrelerin (0.1 ml) her bir alikotu , 20'lik efektör hücre-hedef hücre oranlarında (E:T) 96 oyuklu U tabanlı mikropalaklara (Iwaki, Tokyo, Japonya) yerleştirildi. 10, 5 ve 2.5, dört kopya halinde. Plakalar, 4 saat boyunca 37°C'de inkübe edildi. RPMI 1640 ayrıca laktat dehidrojenaz (LD) salınımının ölçülmesi için kontrol hedef hücrelerine eklendi. Maksimum LD salınımını belirlemek için kontrol kültürleri , üreticinin protokolüne uygun olarak 10 l 10x lizis solüsyonu ile muamele edildi. Mikropalakların santrifüjlenmesi için 5 dakika 300 x g, mikropalaklara (Iwaki) aktarıldı. Her kuyucuğa 50 l substrat solüsyonu eklendikten 30 dakika sonra 50 l substrat solüsyon durduruldu.

m

m

tion. Her kuyucuğun optik yoğunluğu (OD), 492 nm dalga boyunda bir mikropalaka okuyucu (Model 680, Bio Lad., Tokyo, Japonya) kullanılarak ölçüldü. Spesifik sitotoksikite yüzdesi daha sonra aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı: Spesifik sitotoksikite yüzdesi =

$$\frac{\text{OD test örneği} - \text{OD efektör kontrolü} - \text{OD hedef kontrolü}}{\text{OD maksimum yayın} - \text{OD hedef kontrolü}} \times 100$$

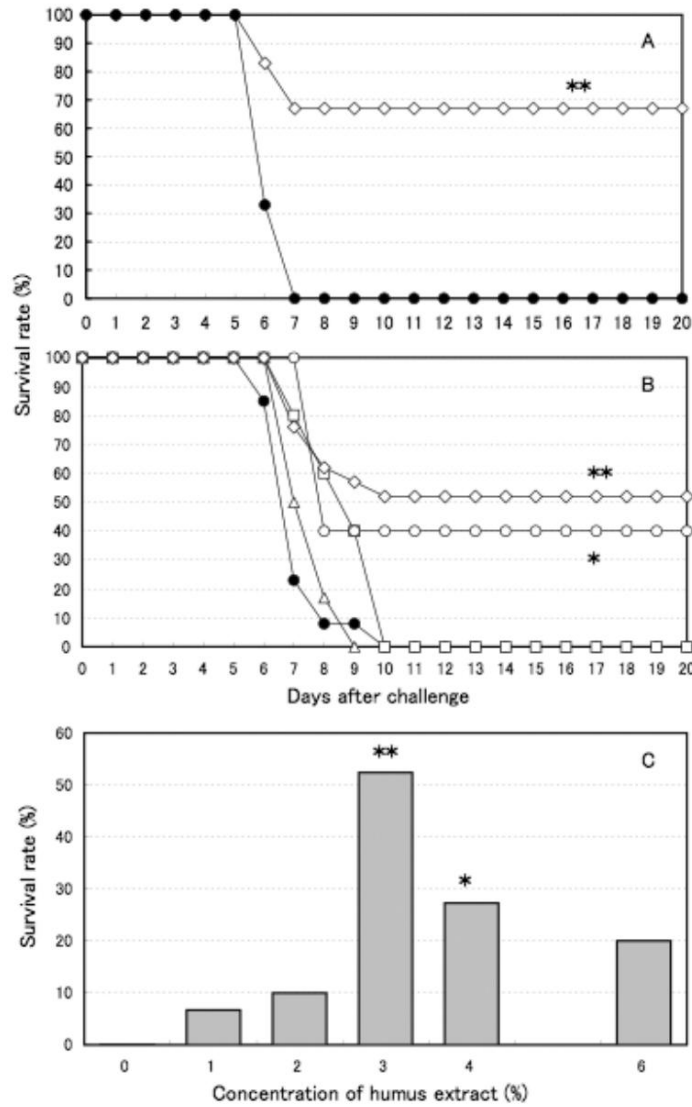
Sitokin üretimi: RPMI 1640 içinde süspansiyon edilen dalak hücreleri , çeşitli konsantrasyonlarda Concanavalin A (Con A) varlığında 37°C'de 24 oyuklu plastik plakalarda (5 x 10⁵ hücre/ 0.5 ml her oyukta, Iwaki) yetiştirildi. ; Elasm Products Co., Owensville, Mo, ABD) veya Con A olmadan. Kültür süpernatant sıvılarından interferon (IFN)- γ , IL-12 ve IL 6 konsantrasyonları ticari bir ELISA kitleri (Biosource Immunoassay) kullanılarak ölçüldü. , BioSource International, Camarillo, CA, ABD).

SONUÇLAR

T. brucei yüklemesine karşı humus ekstraktı uygulamasının koruyucu etkisi: Birinci deneyde, içme suyunda 21 gün boyunca %3 humus ekstraktı verilen fareler, T. brucei gambiense ile tehdit edildi . Tüm kontrol fareleri, yüklemeden sonraki 7 gün içinde öldü (bkz. Şekil 1A), humusla tedavi edilen farelerin %67'si hayatta kaldı (χ^2 testine göre kontrol farelerine kıyasla P <0.01, her grupta n=6). İkinci deneyde, humus ekstraktının koruyucu etkisi ile uygulama süresi (0 ila 21 gün) arasındaki ilişkiyi incelemek için T. brucei kullanılarak yüklem testleri yapıldı. Şekil 1B, humus ekstraktının farelere uygulanmasının da etkili korumayı indüklediğini göstermektedir. Kontrol grubunu oluşturan tedavi edilmemiş 12 farenin tümü, yüklemeden sonraki 10 gün içinde öldü. Buna karşılık, yüklemeden 10 gün önce veya 21 gün önce %3 humus özütü alan farelerin hayatta kalma oranları sırasıyla %40 (P<0.05, n=5) ve 20 gün sonra %52 (P<0.01, n=21) olmuştur. meydan okuma. Bununla birlikte, ekstraktı 5 gün önce (n=5) veya mücadele ile aynı günde (n=6) alan farelerin hiçbiri hayatta kalmadı (anlamlı değil). Üçüncü deneyde, humus ekstraktının koruyucu etkisi ile ekstraktın konsantrasyonu (%0 ila 6) arasındaki ilişkiyi incelemek için T. brucei kullanılarak yüklem testleri yapıldı. Şekil 1C, koruyucu etkinin sudaki humus özütünün konsantrasyonuna bağlı olduğunu göstermektedir; en yüksek koruma 21 gün boyunca %3 ekstrakt alan farelerde sağlandı (P<0.01, n=21) ve %4 ekstrakt alan farelerin hayatta kalma oranı da önemli ölçüde daha yüksekti (P<0.05, n=11). kontrol fareleri (n=13).

Dalak hücrelerinin sitotoksik aktivitesi: L1210 hedef hücrelerine karşı humus uygulanmış farelerden alınan dalak hücrelerinin spesifik olmayan sitotoksik aktivitelerini ölçtük (Şekil 2). Dalak hücreleri , tedavi edilmemiş kontrollere göre 20 (P<0.05) ve 10 (P<0.05) E:T oranlarında önemli ölçüde daha yüksek sitotoksikite sergiledi .

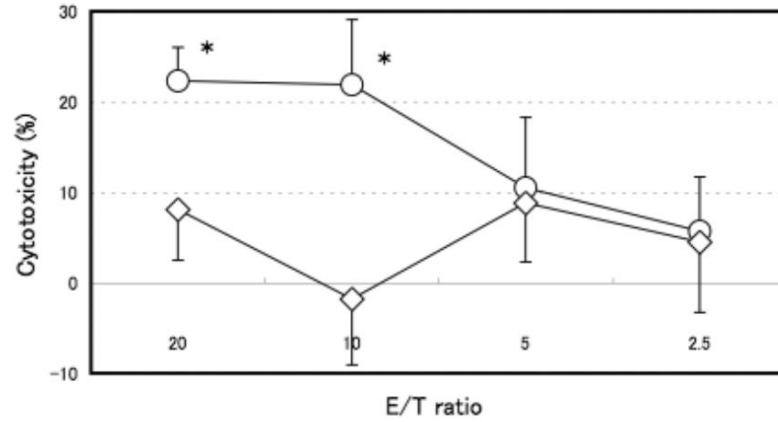
Dalak hücreleri tarafından sitokin üretimi:



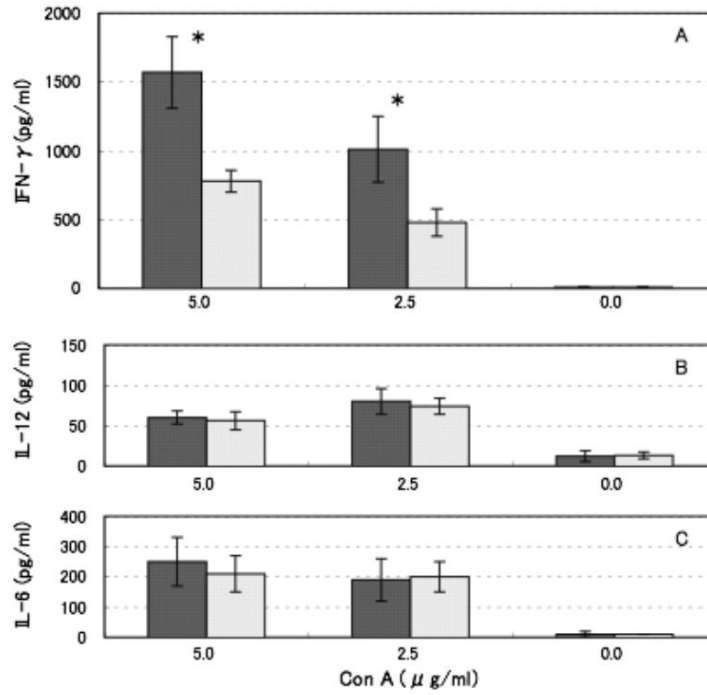
Şekil 1. *T. brucei*'nin iki alt türü ile tehdit edilen farelerin hayatta kalması. (A) Humus ekstraktı, *T. brucei* gambiense ile mücadeleden önce içme suyunun (\diamond ; %3, n=6) veya ekstrakt içermeyen suda (\bullet , n=6) 21 gün boyunca ağızdan uygulandı. (B) %3 humus özütünün 21 (\diamond , n=21), 10 (\square , n=5), 5 (\triangle , n=5) veya 0 (\bullet , n=6) gün önce uygulanan tüm test fareleri (n=12) deney süresi boyunca humus ekstraktı almadı. (C) Farelerin hayatta kalması ayrıca %1 (n=15), %2 (n=10), %3 (n=21), %4 (n=11), %6 (n=15) veya *T. brucei brucei* ile mücadeleden 21 gün önce humus ekstraktı olmadan (n=13). Bu deneylerde, hayatta kalmalarını belirlemek için tüm fareler 20 gün boyunca gözlemlendi. Bu testlerdeki sağkalım oranı kontrol farelerinininkiyle istatistiksel olarak karşılaştırıldı (**; $P < 0.01$, *; χ^2 testi ile tahmin edilen $P < 0.05$).

21 gün boyunca %3 humus özütü alan fareler, Con A ile uyarıldı. Şekil 3, kültür süpernatantındaki IFN- γ , IL-12 ve IL-6 konsantrasyonlarını göstermektedir. IFN- γ üretimi, kültüre eklenen Con A dozuna bağlıydı (Şekil 3A). Dalak hücreleri önemli ölçüde daha yüksek üretti

fareler %3 humus ekstraktı ile önceden tedavi edildiğinde IFN- γ miktarı (işlenmemiş farelere kıyasla 5 ve 2.5 g/ml Con A konsantrasyonunda $P < 0.05$). IL-12 ve IL-6, dalak hücrelerinin Con A ile uyarılmasından sonra kültür sıvılarında da saptandı (Şekil 3B ve 3C); önemli bir fark yok



Şekil 2. Humus ile tedavi edilmiş farelerden (21 gün boyunca %3) dalak hücrelerinin L1210 hedef hücrelerine karşı spesifik olmayan sitotoksik aktiviteleri. Testler, 20, 10, 5 ve 2.5 E:T oranlarında dört kez (ortalama \pm SE) tekrar edildi. Sitotoksik aktivite, humusla tedavi edilen farelerde, tedavi edilmeyen kontrollere göre önemli ölçüde daha yüksekti (*; Student t-testine göre $P < 0.05$).



Şekil 3. 21 gün boyunca %3 humus ekstraktı verilen farelerin dalak hücrelerinin sitokin üretimi. Hücreler in vitro olarak 5.0 veya 2.5 g/ml veya Con A olmadan uyarıldı. Kültür süpernatantları (A) IFN- γ (B) ve IL-6 (C) konsantrasyonu ELISA ile ölçüldü ve humusla tedavi edilen fareler (■) ve tedavi edilmeyen fareler (□) arasında her grupta istatistiksel olarak karşılaştırıldı (*; Student t-testine göre $P < 0.05$). Sonuçlar, 6 fareden elde edilen ortalama konsantrasyon \pm SE olarak gösterilmiştir.

Humusla tedavi edilen fare grubu ile tedavi edilmeyen grup arasındaki bu akraba akrabaların konsantrasyonunda farklılıklar gözlemlendi.

TARTIŞMA

Sonuçlarımız, humus ekstraktının uygulanmasının, fareleri *T. brucei*'nin her iki alt türüyle deneysel mücadeleye karşı koruduğunu, ölüm oranının azalmasıyla gösterildiği gibi açıkça göstermektedir.

(Şek. 1). T. brucei gambiense ve T. brucei brucei ile mücadeleden sonra , 21 gün boyunca %3'lük humus ekstraktı ile önceden tedavi edildiğinde farelerin sırasıyla %67'si ve %52'si hayatta kaldı. Ekstraktın etkisi açıktı, çünkü tedavi edilmeyen kontrol farelerinin tümü, yüklemmeden sonraki 10 gün içinde öldü. Şekil 1C'de gösterilen sonuçlar, özütün farelere uygulanması için en uygun koşulun mevcut olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, balıkların ülser hastalığında (Aeromonas salmonicida'nın neden olduğu) deneysel enfeksiyonlarda [9] ve farelerde anti-tümör etkisinde [8] benzer fenomen gözlemlendiğimiz için, ekstraktın optimal konsantrasyonunu ve uygulama süresini belirlemek gereklidir.]

Humus ekstraktının T. brucei enfeksiyonuna karşı koruma mekanizması net değildir, ancak doğuştan gelen bağışıklık tepkilerinin koruma sağlaması muhtemeldir. Koruma mekanizmasını araştırmak için, humus özütünün, fare lösemi hedef hücrelerine karşı spesifik olmayan hücre sitotoksitesi ve humus özü alan farelerden alınan dalak hücrelerinin sitokin üretimi üzerindeki artırıcı etkisini test ettik. Schep etkin ve ark. [17], uzun süreli nemlendirme ile oluşturulan yarı sert siyah bir reçine olan muminin, fare peritoneal makrofajlarında reaktif oksijen üreten hücrelerin sitotoksik etkisini azalttığı ve bitimmiştir. Başka bir rapor, turba bazlı bir müstahzarın mitojenler tarafından uyarılan fare timositlerinin proliferatif kapasitesini arttırdığını ve hidrokortizonun immün baskılayıcı etkisini önlediğini bulmuştur [13]. Bu gözlemler, hümik maddelerin konakçı bağışıklık tepkilerini spesifik olmayan bir şekilde arttırdığını göstermektedir.

Bu raporlarla uyumlu olarak, mevcut sonuçlar humus ekstraktının farelere uygulanmasından sonra dalak hücrelerinde sitotoksik aktivitenin indüklendiğini göstermiştir. Sitotoksite, E:T oranına bağlıdır ve aktivite, kontrol farelerindekienden önemli ölçüde daha yüksekti (Şekil 2). Ön verilerimiz, dalak hücreleri bir NK hücre popülasyonuna ve lenfositler ve makrofajlar içeren diğer hücrelere, antikör etiketli manyetik boncuklar (yayınlanmamış) kullanılarak ayrıldığında, lenfosit açısından zengin bir hücre popülasyonunda sitotoksitenin gözlemlendiğini gösterdi. Farelerin humus ekstraktı ile tedavisinden sonra , ayrılmış hücre popülasyonlarının Trypanosoma'ya karşı sitotoksik aktivitesini netleştirmek önemlidir .

Konak-parazit etkileşimindeki erken olaylar, bağışıklık tepkilerinin modelini yönlendirmede çok önemlidir. Enfeksiyon anında konak, tripanozomların vasküler bölgelerden temizlenmesi için önemli olan B hücresi aktivasyonu ile yanıt verir. T. brucei'ye karşı ilk konak tepkisi , doğuştan gelen bağışıklık sisteminin aktivasyonuna bağlı olan bir tip 1 bağışıklık tepkisi (yani IFN-y) ile ilişkili inflammatuar mediatörün erken salınması ile de karakterize edilir [5]. Mevcut sonuçlar, humus ekstraktı alan farelerin dalak hücrelerinde Con A ile uyarılan IFN-y üretiminin önemli ölçüde arttığını ortaya koyar (Şekil 3), bu da IFN-y'ye bağlı bağışıklık tepkisinin arttığına işaret eder. T. brucei'ye karşı direnç , enfekte olmuş hayvanların enfeksiyonun erken bir aşamasında IFN-y üretme yeteneği ile ilişkilidir, çünkü T lenfositleri veya NK hücresi aktivasyonu gibi Th1 hücre tepkileri, IFN-y üretimi ile ilişkilidir.

Trypanosoma enfeksiyonu [1, 6, 12].

Con A'nın dalak hücreleri tarafından IFN-y üretimi üzerindeki artırıcı etkisinin aksine, IL-12 ve IL-6 için belirgin bir uyarı gözlenmedi (Şekil 3). IL-12, enfeksiyonlar sırasında IFN-y üretiminin güçlü bir uyarıcısı olduğundan, IL-12, bağışıklık yanıtının başlatılmasında ve Th2 yanıtının Th1 tipine geçişinde yer alır [10]. Öte yandan, IL-12'den bağımsız IFN-y üretilebilir, bu da T. brucei [1] ve Trypano soma cruzi enfeksiyonuna [11] karşı dirençle sonuçlanır. Hızlı IFN-y üretimi, Trypanosoma enfeksiyonuna karşı dirençte kritik olabilir .

Humus ekstraktının farelerde nakledilebilir L1210 lösemi [8] üzerindeki in vivo anti-tümör etkisini ve sazanda ülser hastalığına karşı spesifik olmayan direncin indüklenmesini daha önce bildirmiştik [9]. Humus tedavisini takiben anti-tümör ve anti-mikrobiyal tepkide yer alan ayrıntılı mekanizmalar ve maddeler (önemli bitki türleri ve dejenereleri, hücre duvarı bileşenleri veya lipopolisak karitler gibi bakteri bileşenleri, vb. humusta mevcuttu) belirsizliğini koruyor, bu nedenle daha fazla araştırma yapılması gerekiyor. Humus ekstresi ile bu hayvanlarda doğuştan gelen bağışıklık tepkilerinin nasıl indüklendiğini belirlemek için gereklidir.

Hümik maddelerle [15, 21] ölçülebilir hiçbir yan etki gözlenmemiştir, çünkü bunlar çoğunlukla karboksilik asitler ve sıradan fizyolojik metabolitlerdir. Hümik maddeler ve/veya humus ekstraktı bu nedenle hayvan yemlerinde immüno-güçlendirici maddeler olarak kullanılabilir. Humustaki biyolojik olarak aktif bileşenlerin ayrılmasına yönelik analizler şu anda devam etmektedir.

TEŞEKKÜRLER. Yazarlar, faydalı önerileri için Profesör Tohru Miyajima'ya (Fen ve Mühendislik Fakültesi, Saga Üniversitesi, Saga, Japonya) ve Dr. Hisanori Mayumi'ye (Souju Memorial Hastanesi, Iwatsuki, Japonya) minnetardır. Bu çalışma, Japon Bilimi Geliştirme Derneği'nden (No. 18580311) bir Hibe Yardımı ile desteklenmiştir. Bu çalışma ayrıca Marinex Co., Sakai, Japonya tarafından finanse edildi.

REFERANSLAR

1. Barkhuizen, M., Magez, S., Atkinson, RA ve Brombacher, F. 2007. Interleukin-12p70'e bağlı IFN γ üretimi, Afrika tripanozomiyazında direnç için çok önemlidir. J. Bulaş. Dis. 196: 1253-1260.
2. Barry, JD 1997. Afrika tripanozomlarında antijenik varyasyon mekanizmalarının göreceli önemi. parazitoloj. Bugün 13: 212-217.
3. Cross, GAM 1990. Tripanozomlardaki antijenik varyasyonun hücresel ve genetik yönleri. Ann. Bağışıklık. 8: 83-110.
4. Doyle, JJ 1977. Salivarian tripano bazılarında antijenik varyasyon. Av. Tecrübe. Med. Biol. 93: 35-63.
5. Drennan, MB, Stijlemans, B., Van Den Abbeele, J., Quesniaux, VJ, Barkhuizen, M., Brombacher, F., De Baetselier, P., Ryffel, B. ve Magez, S. 2005. Trypanosoma brucei enfeksiyonunu takiben bir tip 1 bağışıklık tepkisinin indüklenmesi MyD88'e bağlıdır. J. Immunol. 175: 2501-2509.
6. Hertz, CJ, Filutowicz, H. ve Mansfield, JM 1998. Afrika tripanozomlarına karşı direnç, IFN-y'ye bağlıdır. J.

- immüno. 161: 6775-6783.
7. Jooné, GK ve van Rensburg, CEJ 2004. Potasyum humatin anti-inflamatuar özelliklerinin in vitro araştırılması. Enflamasyon 28: 169-174.
8. Kodama, H. ve Denso. 2007. Humus ekstraktının murin transplante edilebilir L1210 lösemi üzerindeki antitümör etkisi. Vet. Med. Bilim 69: 1069-1071.
9. Kodama, H., Denso ve Nakagawa, T. 2007. Sazanlarda (Cyprinus carpio L.) atipik Aeromonas salmonicida enfeksiyonuna karşı humus ekstraktının oral uygulamasıyla koruma. Vet. Med. Bilim 69: 405-408.
10. Liu, Y., Ragaa, E., Li, Z., Nuortio, L., Mustafa, A. ve Bakheit, M. 1999. İnterferon- γ ve interlökin-12 genleri, erken deneysel Afrika tripanozom sırasında tercihen ifade edilir. miyaz ve dalağın denervasyonu ile baskılanır. Tara. J. immüno. 50: 485-491.
11. Müller, U., Köhler, G., Mossmann, H., Schaub, GA, Alber, G., Di Santo, JP, Brombacher, F. ve Holscher, C. 2001. IL 12'den bağımsız IFN- γ üretimi deneysel Chagas hastalığında T hücreleri tarafından IL-18 aracılık eder. J. Immunol. 167: 3346-3353.
12. Namangala, B., Noël, W., De Baetseller, P., Brys, L. ve Bes chin, A. 2001. İnterferon- γ ve inter lökin-10'un mürin Afrika tripanozomoz direncine görel katkısı. J. bulaştırma. Dis. 183: 1794-1800.
13. Obmińska-Domoradzka, B. ve Stefańska-Jońca, M. 2001. Turba bazlı bir müstahzarın, tedavi edilmemiş ve hidrokortizon baskılanmış farelerde timositler üzerinde mitojen kaynaklı proliferasyon üzerindeki etkisi. Fitotip 8: 184-194.
14. Raper, J., Portela, MPM, Lugli, E., Frevert, U. ve Tomlin son, S. 2001. Tripanozom litik faktörleri: İnsanın doğuştan gelen bağıışıklığının yeni araçları. Curr. Görüş Microbiol. 4: 402-408.
15. Reichert, B. 1966. Modda hümik asitler ve türevleri terapi. Almanca Eczacı 18: 204-206.
16. Salz, H. 1974. Salhumin jel, hiperemik antiflojistik ve analjezik etkiye sahip lokal bir terapötik ajan. Med. Monat. 28: 548-550.
17. Schepetkin, IA, Khlebnikov, AI, Ah, SY, Woo, SB, Jeong, C.-S., Klubachuk, ON ve Kwon, BS 2003. Mumyadan hümik maddelerin karakterizasyonu ve biyolojik aktiviteleri. J. Agric. Gıda Kimyası 51: 5245-5254.
18. Schneider, J., Weis, R., Manner, C., Kary, B., Werner, A., Seu bert, BJ ve Riede, UN 1996. Türetmiş sentetik hümat analogları ile hücre kültüründe HIV-1'in inhibisyonu hidrokinondan: İnhibisyon mekanizması. Viroloji 218: 389-395.
19. Tomlinson, S. ve Raper, J. 1998. Tripanozomlara karşı doğal insan bağıışıklığı. parazitolo. Bugün 14: 354-360.
20. Van Rensburg, CEJ, Van Straten, A. ve Dekker, J. 2000. Oksiful vik asidin antimikrobiyal aktivitesinin in vitro araştırılması. J. Antimikrob. kimyager. 46: 853-854.
21. Van Rensburg, CEJ, Malfield, SCK ve Dekker, J. 2001. Oksifulvik asidin topikal uygulaması, farelerde kutanöz immün yanıtı baskılar. İlaç Dev. Res. 53: 29-32.
22. Van Rensburg, CEJ, Dekker, J., Weis, R., Smith, T.-L., Van Rensburg, EJ ve Schneider, J. 2002. Oksihumatin anti-HIV özellikleri üzerine araştırma. Kemoterapi 48: 138-143.
23. Vengerovskii, AI, Golovina, EL, Burkova, VN ve Sara tikov, AS 2001. Enterik sorbentler, deneysel toksik hepatitte Eplir'in hepatoprotektif etkisini güçlendirir. Eksp. Klinik. Eczane. 64: 46-48.
24. Visser, SA 1973. Sıçanlarda hümik asitlerin bazı biyolojik etkileri. Açta Biol. Med. mikrop. 31: 569-581.
25. Yudina, NV, Pisareva, SI ve Saratikov, AS 1998. Turba fenol bileşiklerinin anti ülserojenik aktivitesi. Khim. Rastit Sırya 4: 29-32.