

Potasyum Humat Kompleman Aktivasyonunu ve In Vitro Enflamatuvar Sitokinlerin Üretimini Engeller

Constance E. Jansen van Rensburg^{1,2} ve Pieter J. Naude¹

Özet—Lenfosit proliferasyonu, sitokin üretimi ve kompleman aktivasyonu üzerine linyit kömürükaynaklı potasyum humatı n etkileri in vitro olarak araştırıldı. Potasyum humat, fitohaemaglutinin A (PHA) ve pokeweed mitogen (PWM) ile uyarılmış mononükleer lenfositlerin (MNL) in vitro lenfosit proliferasyonunu doza bağlı bir şekilde 20 ila 80 µg/ml konsantrasyonlardan artırdı. Üç yandan potasyum humat, 40 µg/ml'de, PHA ile uyarılmış MNL tarafından TNF-α, IL-1β, IL-6 ve IL-10 salınımını önemli ölçüde inhibe etti. Kompleman aktivasyonu ile ilgili olarak, potasyum humatı n, kırmızı kan hücre zarları nın stabilitesini etkilemeden hem alternatif hem de klasik yolları n aktivasyonunu inhibe ettiği bulunmuş tur. Bu sonuçlar, potasyum humatı n anti-inflamatuvar potansiyelinin, kırmızı kan hücre zarları nın bu reaksiyonları n başlatmasından sorumlu olan proinflamatuvar sitokinlerin inhibisyonuna ve ayrıca kompleman aktivasyonunun inhibisyonuna bağlı olarak olabileceğini göstermektedir. Gözlenen artan lenfosit proliferasyonu, daha önce belgelendiği gibi artan IL-2 üretimine bağlı olabilir.

ANAHTAR KELİMELELER: potasyum humat; anti-inflamatuvar; tamamlayıcı aktivasyon; sitokinler.

GİRİŞ

Hümatları n antibakteriyel, anti-üserojenik, anti-alerjik ve anti-enflamatuvar özelliklere sahip olduğu tarif edilmiş tir [1].

Bitümlükömürün oksidasyonu yoluyla elde edilen suda çözünür bir humat olan oksihumatı n [2] in vitro bir çalışması, sağlıklı insan gönüllülerden ve HIV'den elde edilen fitohaemaglutinin A (PHA) ile uyarılmış mononükleer lenfositlerin (MNL) çoğalmasında arttırdı. enfekte kişiler [3]. Benzer sonuçlar ex vivo olarak da elde edildi. Bu durumda MNL, 2 hafta boyunca günde 4 g oksihumat uygulamasını n ardından HIV ile enfekte olmuş bireylerden toplanmış tir. Lenfosit proliferasyonundaki bu artış muhtemelen artan IL-2 ve CD25 üretimine bağlanabilir. Üç yandan Oxihumate de neden oldu

forbol-12-miristat-13-asetat (PMA) ile uyarılmış insan nötrofillerinin kompleman reseptörü3 (CR3) ekspresyonunda ve ayrıca PMA ile uyarılmış insan nötrofillerinin hücre içi adezyon molekülü1'i (ICAM) ifade eden bir bebek hamster böbrek hücre hattına yapılmış çalışmada azaldı [4]. Bu faktörler muhtemelen anti-inflamatuvar özelliklerine katkıda bulunabilir.

Oxihumate, yukarıda belirtilen çalışmaları için Enerkom (Pty) Ltd tarafından sağlanmış tir. Oxihumate, o zamandan beri durdurulan pahalı bir oksidasyon işlemiyle üretilir. Bir linyit kömürükaynağından çıkarılan humatı n anti-inflamatuvar özellikleri, van Rensburg ve diğerleri tarafından test edilmiştir. [5]. Bu çalışmada, 60 mg/kg kahverengi kömür türevi ürünün oral yoldan uygulanması nı n, ancak oksihumatı n değil, bilinen bir anti-inflamatuvar kortikosteroide (yani prednisilon) benzer şekilde, ancak sistemik belirtiler göstermeden sıçanlarda kutanöz aşırı duyarlılık reaksiyonunu inhibe ettiği bulunmuş tur. toksisite. Bu ürünün etki mekanizması nı n hala araştırılmamış tir. İması gerekmektedir.

Yukarıda belirtilen kaynaktan elde edilen linyit kömürünün etkilerini belirlemek için in vitro çalışmaları nı n yapılmış tir.

¹ Pretoria Üniversitesi, Pretoria, Güney Afrika

² Yazışmaları n Güney Afrika'daki Pretoria Üniversitesi'nde kime yöneltilmesi gerektiği. E-posta: connie.medlen@up.ac.za

Potasyum Humat Tamamlayıcı Aktivasyonu Engeller

MNL'nin büyümesi ve sitokin salınımını yanı sıra hem alternatif hem de klasik kompleman yollarını n aktivasyonu üzerinde.

MALZEMELER VE YÖNTEMLER

reaktifler

Kahverengi kömürden (leonardit) hazırlanan bir potasyum humat ürünü olan Zymate, Unique Health Trust (Milnerton, Güney Afrika) tarafından tedarik edildi. Histopaque-1077, fitohaemaglutinin A (PHA), pokeweed mitogen (PWM) ve 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT), Sigma Diagnostics'ten (St Louis, MO) satın alınmıştır. , AMERİKA BİRLEŞİK DEVLETLERİ). RPMI 1640 (Bio Whittaker, Walkersville, Maryland), pH 7.2'de (RPMI+) %0.1 glutamin, penisilin ve streptomisin ve %10 sıvıyla inaktive edilmiş buzağı fetal serumu ile desteklenmiştir.

Periferik Kan Mononükleer Hücrelerinin Hazırlanması

Kan, sağlıklı insan gönüllülerden venipunktur yoluyla heparin içeren tüplere alındı. MNL, bir Histopaque-1077 yoğunluk gradyanı üzerinde santrifüleme ile sağlıklı gönüllülerin buffy coat'undan ayrıldı. Hücreler üç kez yıkandı ve 2x10⁶ hücre/ml konsantrasyonunda RPMI 1640+ içinde yeniden süspanse edildi.

MNL Proliferasyon Testi

Lenfosit proliferasyon tahlili, yuvarlak tabanlı 96 oyuklu mikro titre plakaları da gerçekleştirildi. Farklı konsantrasyonlarda potasyum humat (20-100 µg/ml) içeren tüm kuyucuklara 100 µl MNL süspansiyonu eklendi ve PHA veya PWM (2 µg/ml) ile uyarıldı. Plakalar, 37°C'de %5 CO₂ ile nemlendirilmiş bir atmosferde 3 gün süreyle inkübe edildi. 3 günlük inkübasyon periyodundan sonra, hücre canlılığı orijinal olarak Mosmann [6] tarafından modifikasyonlarla [7] tarif edilen MTT boyama yöntemi ile belirlendi.

Sitokin Testi

Bir MNL süspansiyonu hazırlandı ve plakalar, yukarıda açılan klanana benzer şekilde kuruldu. 40 µg/ml nihai konsantrasyonda potasyum humat, uyarıcı olarak PHA ile birlikte hücre süspanسیونları na ilave edildi ve plakalar 36 saat inkübe edildi. Plakalar 10 dakika 400 x g'de santrifüjlendi ve süpernatantlar IL-1p, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70 ve

Kitte bulunan üreticinin prosedürlerine göre BD Cytometric Boncuk Dizisi Kullanılabilir Hazır insan inflamasyon kitini (BD Biosciences, San Jose, CA, ABD) kullanarak BD FACSAArray™ akış sitometresi ile TNF-α.

Alternatif Yol Yoluyla Tamamlayıcı Olmayan Faaliyet

Platts-Mills ve Ishizaka [8] tarafından açılan klanın modifiye edilmiş bir yöntem kullanıldı. Tahlil, yuvarlak tabanlı 96 oyuklu mikro titre plakaları da gerçekleştirildi. Etilen glikol tetraasetik asit (EGTA)-veronal tamponlu salin (VBS) içinde 3x10⁸ tavşan eritrositi/ml içeren bir süspansiyon hazırlandı. Tavşan eritrositlerinin %50 hemolizini (AH50 konsantrasyonu) verecek şekilde EGTA-VBS içinde önceden belirlenmiş bir konsantrasyona seyreltilmiş 40 ul insan serumu hacmi, yuvarlak tabanlı 96 oyuklu mikrotiter plakaları n tüm deneysel oyuukları na eklendi ve 10 ile önceden inkübe edildi 37°C'de 60 dakika boyunca çeşitli konsantrasyonlarda bir potasyum humat çözeltisinin ul'si. Bir kontrol olarak hücreler, potasyum humat yokluğunda inkübe edildi. İnkübasyondan sonra tüm kuyucuklara 50 µl tavşan eritrosit süspansiyonu eklendi. 37°C'de 60 dakikalık ikinci bir inkübasyon adı mını n ardı ndan her bir oyuğa 100 ul PBS ilave edildi. Plakalar 10 dakika 500 x g'de santrifüjlendi ve üç kez PBS ile yıkandı. Son olarak, 180 ul süpernatant aspire edildi ve geride 20 ul'lik bir pelet bırakıldı. Her kuyucuğa 200 µl distile su eklendi. Plaka, oda sıcaklığında 60 dakika inkübe edildi. İnkübasyondan sonra, her kuyudan 50 ul, ikinci bir mikro titre plakası na aktarıldı ve süpernatantın optik yoğunluğu, bir spektrofotometrik plaka okuyucu ile 405 nm dalga boyunda ölçüldü. Yüzde hemoliz, toplam hemolitik kontrol tarafından elde edilen lizise eşit %100 lizis ve arka plan hemoliz kontrolü tarafından elde edilen lizise eşit %0 lizis ayarlanarak normalleştirildi.

Klasik Yoluyla Anti-tamamlayıcı Etkinlik Patika

Bu tahlil için, koyun eritrositlerinin (SE; 4x10⁸ /ml) bir süspansiyonu, 1:2.000'lik bir son dilüsyonda VBS-EDTA içinde seyreltilmiş koyun karşıtı eritrosit antikorları (Sigma Diagnostics, St Louis, MO, ABD) ile duyarlı hale getirildi. 37°C'de 20 dakika artı 4°C'de 20 dakika inkübasyonun ardı ndan SE, VBS ile üç kez yıkandı kullanmadan önce 2 mM CaCl₂ (VBS2+) içerir. VBS2+ içinde seyreltilmiş 40 µl insan serumu hacmi (ön

belirlenen CH50 serum konsantrasyonu), 37°C'de 60 dakika boyunca yuvarlak tabanlı 96 oyuklu bir mikrotitre plakası nda potasyum humat (çeşitli konsantrasyonlarda) ile önceden inkübe edildi. Kontrol oyukları nda hücreler, potasyum humat yokluğunda inkübe edildi. İnkübasyondan sonra, tüm oyuklara VBS2+ (4x10⁸/ml) içinde duyarlı laş tı rı İmı ş SE süspansiyonunun 50 ul'si eklendi. 37°C'de 60 dakikalık ikinci bir inkübasyon adı mını nı n ardı ndan her bir oyuğa 100 ul fosfat tamponlu salin (PBS) ilave edildi. Plaka daha sonra 10 dakika 500 x g'de santrifüjlendi ve PBS ile yı kandı .

Hücre hemolizi önceki bölümde açıklanı dı ğı gibi belirlendi.

Kı rrmı zı Kan Hüresi Stabilite Testi

Tahlil, 96 oyuklu bir mikro titre plakası nda gerçekleş tirildi. Kı saca 40 ul PBS içinde yı kanmı ş SE'nin 1x10⁸/ml süspansiyonu tüm oyuklara, ardı ndan 50 ul PBS ilave edildi. Daha sonra deney kuyucukları na çeşitli konsantrasyonlarda 10 µl potasyum humat hacmi ve kontrol kuyucukları na 10 µl distile su ilave edildi. Plaka 30 dakika 37°C'de inkübe edildi. Elli mikrolitre lizofosfatidilkolin (LPC) solüsyonu (1 mg/ml) tüm oyuklara ilave edildi ve plaka 5 dakika daha inkübe edildi, bu sırada kı smi hemoliz gerçekleş ti. İnkübasyondan sonra plaka, üç kez PBS ile yı kandı .

Her kuyucuğa 200 mikrolitre distile su eklendi. Plaka daha sonra oda sıcaklı ğı nda 60 dakika inkübe edildi, ardı ndan her kuyudan 50 ul yeni bir mikro titre plakası na aktarı ldı ve optik yoğunluk bir spektrofotometrik plaka okuyucu ile 405 nm dalga boyunda ölçüldü

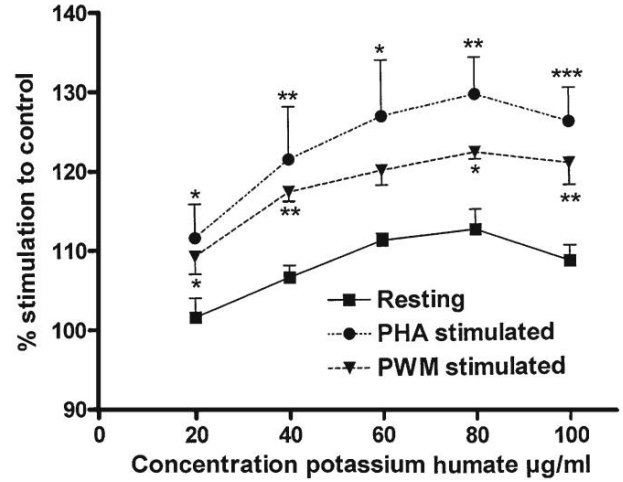
SONUÇLAR

MNL Proliferasyon Testi

Potasyum humat, 80 µg/ml'de maksimum stimüasyonla, konsantrasyona bağlı bir şekilde PHA ve PWM ile uyarı lan ancak istirahat olmayan MNL'nin çoğalması nı 20 µg/ml ve daha yüksekten önemli ölçüde artı rdı (Ş ekil 1).

Sitokin Testi

Ş ekil 2a-d'de gösterilen sonuçlar, 40 µg/ml'de 36 saatlik bir potasyum humat tedavisinin, istirahat ve PHA ile uyarı lan MNL tarafı ndan enflamatuar ilişkili sitokinlerin salınması üzerindeki etkilerini temsil eder. Potasyum humatın salınan sitokinler üzerinde etkisinin olmadığı gözlemlendi.



Ş ekil 1. Farklı konsantrasyonlarda potasyum humatın istirahat ve uyarı İmı ş lenfosit proliferasyonu üzerindeki in vitro etkisi. Veriler ortalama±SEM olarak ifade edildi. İstatistiksel anlamlılık, ANOVA kullanılarak hesaplandı, ardı ndan kontrole kı yasla ikili karşı laş tı rmlar için Bonferroni testi yapı ldı. *P<0.05, **P<0.001, ***P<0.0001.

dinlenme MNL. PHA ile uyarı İmı ş MNL tarafı ndan TNF-α, IL 1β, IL-6 ve IL-10 salınımında bir azalma kaydedildi.

Bununla birlikte, bu ürünün dinlenme veya PHA ile uyarı lan MNL tarafı ndan IL 12p70'in salınması üzerinde hiçbir etkisi olmaması tı r (sonuçlar gösterilmemiştir).

Anti-tamamlayıcı Etkinlik

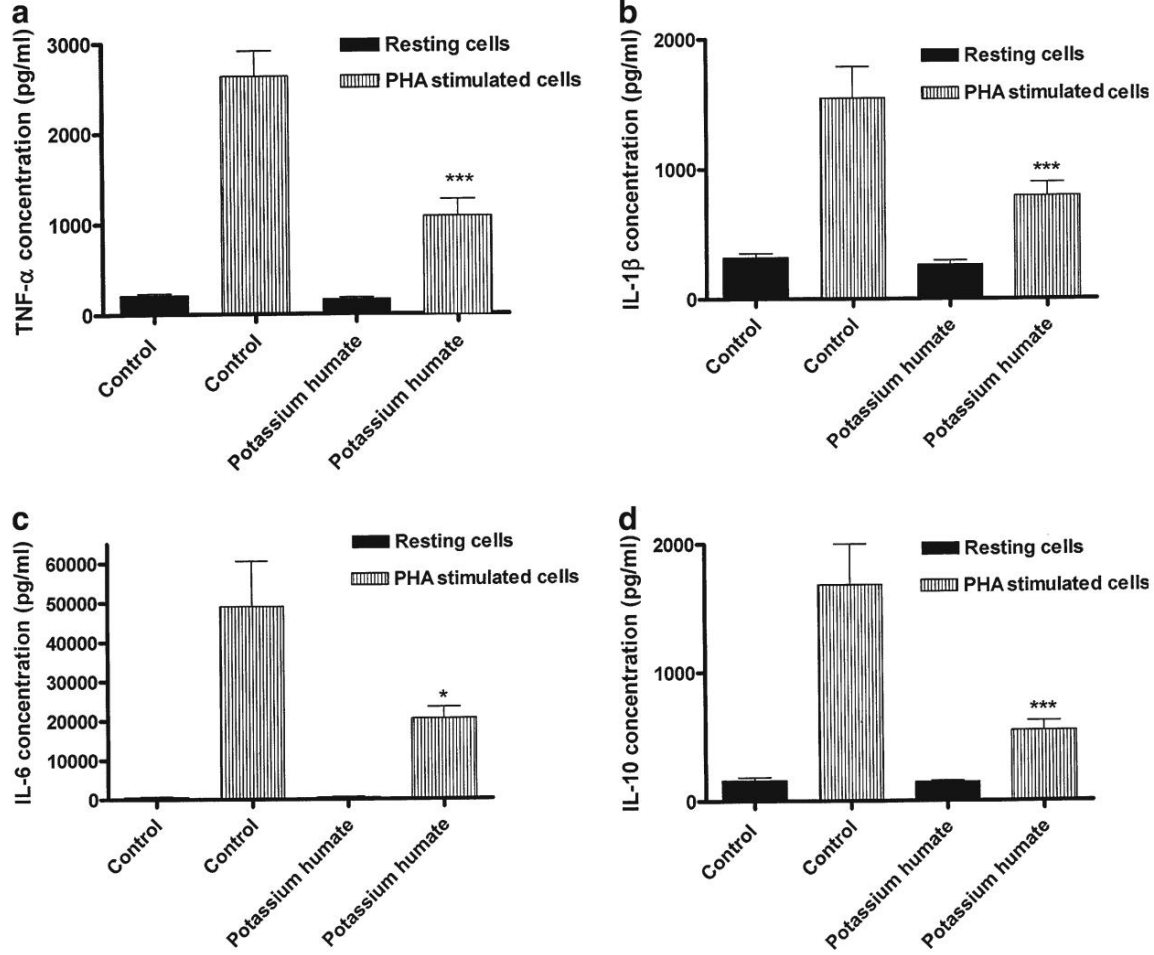
Potasyum humat, hem alternatif hem de klasik yollarla indüklenen hemolizi 10 µg/ml ve daha yüksekten doza bağlı bir şekilde inhibe etti (Ş ekil 3 ve 4).

Kı rrmı zı Kan Hüresi Stabilite Testi

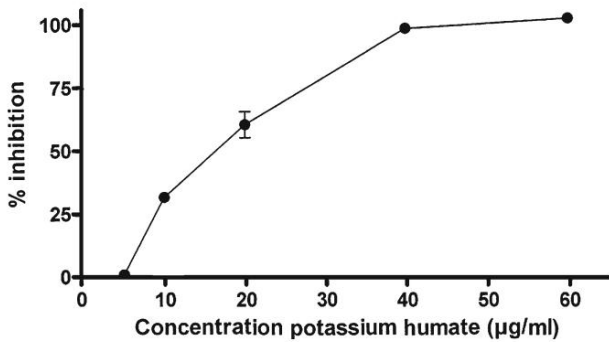
100 µg/ml ve daha yüksek bir konsantrasyonda potasyum humatın, kı smi hemoliz oluş turacak bir konsantrasyonda 5 dakika boyunca LPC'ye maruz kalan kı rrmı zı kan hücrelerinin hemolizi üzerinde hiçbir etkisi olmaması tı r (sonuçlar gösterilmemiştir).

TARTIŞMA

Bu, linyit kömüründen ekstrakte edilen doğal olarak oluşan bir humatın dinlenme ve PHA ve PWM ile uyarı İmı ş insan lenfositlerinin in vitro çoğalması üzerindeki uyarı cı aktivitesini belgeleyen ilk çalışmasıdır. Bu sonuçlar, Jooné ve diğerleri [3] tarafı ndan elde edilen sonuçlarla ilişkilidir. Ancak bu çalışmada oksihumat kullanılmı ş tı r. Ne yazık ki hünik asitin karışık yapısından dolayı



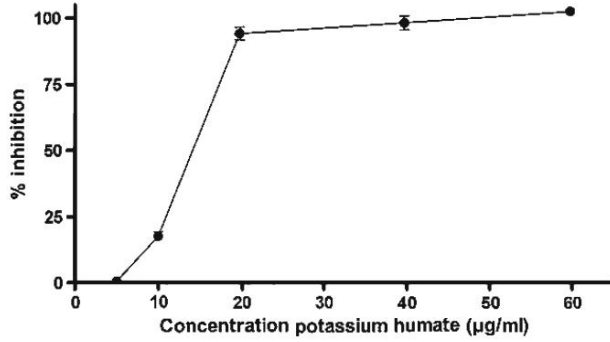
Şekil 2. Potasyum humatını 40 µg/ml'de TNF-α (a), IL-1β (b), IL-6 (c) ve IL-10 (d) salınımını ve sonrasında PHA ile uyarılmış lenfositler üzerindeki etkisi 36 saat inkübasyon. Veriler, ortalama ± SEM olarak ifade edilir. İstatistiksel anlamlılık, ANOVA kullanılarak hesaplandı, ardından kontrolle karşılaştırılması için Bonferroni testi yapıldı. ***P<0.0001.



Şekil 3. Potasyum humatının alternatif kompleman yolu üzerindeki etkisi. Veriler, ortalama ± SEM olarak ifade edilir.

asit, iki ürün arasında varsa yapısal farklılıklar hakkında yorum yapmak mümkün değildir. Antijen tanımasına yanıt olarak T hüresi proliferasyonuna, öncelikle, yanıt veren T hüresinin kendi büyüme teşvik eden sitokinlerini salgıladığı ve ayrıca bu sitokinler için hücre yüzeyi reseptörlerini ekspres ettiği bir otokrin yolu aracılığıyla keder [9].

Kompleman sistemi öncelikle konakçıyı enfektif mikroorganizmalardan korusa da, aynı zamanda enflamasyonun önemli bir aracıdır [10]. Enflamasyon, tamamlayıcı nişan aşırı aktivasyonundan kaynaklanabilir ve genellikle hem humoral hem de hüresel efektör sistemleri içeren karmaşık, işlevsel ve ağır ile karakterize edilir. Enflamasyonda tamamlayıcı nişan rolü



Ş ekil 4. Potasyum humatı n klasik kompleman yolu üzerindeki etkisi. Veriler, ortalama \pm SEM olarak ifade edilir.

septik ş ok, greft reddi ve miyokardiyal ve intestinal iskemii/reperfüzyon hasarı gibi hastalıklar kapsamlı bir şekilde araştırılmıştır [11].

Artrit durumunda, hem klasik hem de alternatif yolların kompleman aktivasyonu, tip II kollajen gibi eklem bileşenlerine karşı oto-antikörlerin oluşumu ile ilişkilendirilmiştir [12]. Miyokard enfarktüsünde, kompleman aktivasyon ürünlerinin nötrofil infiltrasyonundan sorumlu olduğu, oysa bu enflamatuar hücreler tarafından salınan enzimlerin vazodilatasyona ve vasküler geçirgenlikte bir artışa neden olduğu kaydedilmiştir. Ayrıca, inflamasyonun sistemini etkileyebilir ve çevredeki hücrelerde apoptozu indükleyebilir [13]. Bir murin pulmoner alerji modelinde tamamlama sürecini oynadığı önemli rol, Drouin ve arkadaşları tarafından incelenmiştir [14]. C3 eksikliği olan fareleri kullanarak, bu farelerin bir alerjiye karşılaşmalarında, vahşi tip farelere kıyasla pulmoner alerji gelişiminde bir azalma gösterdiğini gösterdi.

Monoklonal anti-C5 antikörleri ile kompleman aktivasyonunun kontrol edilmesinin, deneysel lupus eritematozus, romatoid artrit ve septik şok hayvan modellerinde inflamasyonu azaltmada etkili olduğu kanıtlanmıştır [11]. Kompleman reseptörleri CR3 ve CR4'e (CD18/CD11b,c) yönelik monoklonal antikörleri de köpekleri miyokardiyal reperfüzyon hasarından koruduğu gösterilmiştir.

Enflamatuar sitokinlerin aşırı ekspresyonunun, çoğu enflamatuar hastalıkta önemli olduğu tarif edilmiştir. Bunun bir örneği, IL-1, IL-6 için mRNA'nın bulunduğu romatoid artrit (RA). Bu hastaların eklem sıvısında IL8, IL-10 ve TNF- α saptanmıştır [15]. Bu durumda IL-1 ve TNF- α 'nın sadece RA patogenezinde değil, aynı zamanda diğer enflamatuar durumlarda da anahtar rol oynadığı tespit edilmiştir. Anti-sitokin antikörleri ve sitokin inhibitörleri başlangıçta test edilmiştir.

RA [16–19] ve Crohn hastalığı [20] olan hastalar.

İlginç bir şekilde C5a'nın TNF α üreten dendritik hücrelerin olgunlaşmasındaki rolü Soruri ve diğerleri tarafından tarif edilmiştir [21], kompleman aktivasyonunun inhibisyonunun muhtemelen inflammatuar sitokinlerin salınmasını inhibisyonuna yol açabileceğini belirtmektedir. Ayrıca C5a, monositlerden ve makrofajlardan IL-1, TNF- α ve IL-6'nın salgılanmasını indükleyerek, anafilatoksinleri ve proinflammatuar sitokinler arasındaki ilişkiyi vurgular [10].

Potasyum humatı, 10 μ g/ml ve üzeri doza bağlı olarak bir şekilde hem alternatif hem de klasik kompleman yollarını inhibe etti. Koyun kırmızı kan hücresi zarı stabilitesi deneyi, ürün hücre zarı stabilitesi üzerinde hiçbir etkisinin olmadığını göstermiştir. Bu nedenle, potasyum humatı hücre zarı stabilitesini etkilemeden kompleman yolunu spesifik olarak inhibe ettiği sonucuna varılabilir. Potasyum humatı bu yollar üzerindeki etkileri, tamamlama sürecinin belirli bileşenlerinin etkisizleşmesine yol açabilen bağlanma özelliklerinden kaynaklanabilir.

Potasyum humatı nispeten az sayıda temas aşırı duyarlılığı [5] ve insanlarda alerjik rinit [22] ve diz osteoartriti [23] tedavisinde etkili olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmanın sonuçları, kompleman aktivasyonunun inhibisyonunun ve enflamatuarla ilişkili sitokinlerin salınmasını, potasyum humatı inflamasyonu inhibe ettiği mekanizmada rol oynayabileceğini göstermektedir.

Bu çalışmada, potasyum humatı'nın PHA ile uyarılan MNL tarafından TNF- α , IL-1 β ve IL-6 üretimini inhibe ettiğini gösterdik. Humatların çeşitli moleküllere bağlanma özellikleri nedeniyle [24], potasyum humatı'nın interlökinlerin BD™ sitometrik bead dizisi kitinin antikörleri ile bağlanması engelleyici olabileceği ileri sürülebilir.

Bununla birlikte, (1) IL-12p70 seviyeleri üzerinde belirgin bir etki olmadığını ve (2) dinlenme hücrelerinin sitokin konsantrasyonları üzerinde hiçbir etkisi olmadığını bu durum göz ardı edilebilir.

Potasyum humatı'nın proinflammatuar sitokin konsantrasyonlarındaki bir azalmaya neden olması rağmen, yine de lenfosit proliferasyonunda bir artış meydana geldi. Benzer büyüme uyarıcı etkiler Jooné ve diğerleri tarafından rapor edilmiştir [3] oksihumat durumunda. Büyüme çalışmaları ek olarak, [3] bunun IL-2 sekresyonundaki artışla ilişkili olduğunu bulmuşlardır. Her iki ürün de lenfosit proliferasyonunu stimüle ettiğinden, her iki ürünün de IL-2 yolunu benzer şekilde etkileme olasılığı var olduğu yalnızca varsayılabilir. Ancak bunun onaylanması gerekiyor.

Ne yazık ki, pratik nedenlerle, potasyum humatı'nın TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve IL-10 üzerindeki etkileri

üretim sadece 40 µg/ml'lik sabit bir konsantrasyonda belirlenebilirken, tamamlayıcı ni n klasik ve alternatif yolları ni n aktivasyonu üzerindeki etkileri 10 ile 60 µg/ml arası nda değiş en konsantrasyonlarda yapı lmı ş tı r. Son durumda, 40–60 µg/ml'de maksimum etkilerle 10 µg/ml ve daha yüksek seviyelerde önemli etkiler görülmüş tür. Sitokin sekresyonunun aynı modeli takip etme olasılı ğı vardı r, ancak bunun doğrulanması gerekir.

Sonuç olarak, van Rensburg ve ark. [5] kı smen tamamlayıcı kaskadın inhibisyonundan kaynaklanıyor olabilir. Katkı da bulunan baş ka bir olası faktör, kompleman reseptörü3'ün (CR3) ifadesindeki bir azalma olabilir [4]. Potasyum humat bu nedenle gelecekte kompleman aktivasyonu ile iliş kili enflamatuar bozukluklar için potansiyel bir tedavi olarak kullanı labilir. Ayrıca, potasyum humat in vitro olarak bazı proinflatuar sitokinlerin salgı lanmasını da inhibe etmiş tir. Öte yandan, potasyum humat, istirahat halindeki lenfosit proliferasyonunu ve in vitro olarak PHA ve PWM ile uyarı lan lenfositleri arttı rması ş tı r; bu, potasyum humatın, hücre aracı lı bağı ş lı ğı düzenleyerek ve enflamatuar moleküllerin aktivitesini/üretimini azaltarak etkili immün modüle edici özelliklere sahip olabileceğini göstermektedir. Bununla birlikte, potasyum humatın bağı ş lı k sistemini modüle ettiği mekanizmaya ilişkin daha fazla araş tırma yapı lması gerekmektedir.

TEŞ EKKÜRLER

Bu araş tırma, Unique Health Trust (Milnerton, Güney Afrika) ve Güney Afrika Ulusal Araş tırma Vakfı 'ndan (NRF) bir hibe ile desteklenmiş tir.

İlgili yazar CEJ van Rensburg, şirket için danış man olarak görev yapmaktadı r.

REFERANSLAR

- Schepetkin, I., A. Khlebnikov ve BS Kwon. 2002. Humus maddesinden tübbi ilaçlar: mumyaya odaklanın. *İlaç Dev. Res.* 57:140–159. doi:10.1002/ddr.10058.
- Bergh, JJ, IJ Cronje, J. Dekker, TG Dekker, LM Gerritsma ve LJ Mienie. 1997. Su bulamaçlı kömürün oksijenle katalitik olmayan oksidasyonu: fulvik asitlerin ve akut toksisitenin tanımlanması. *Yakıt* 76:149–154. doi:10.1016/S0016-2361(96)00194-9.
- Joone, GK, J. Dekker ve CEJ van Rensburg. 2003. Oksihumatin immün sistemi uyarıcı özelliklerinin araş tırılması. *Z. Doğa Bilimci* 58:263–267.
- Jooné, GK ve CEJ Rensburg. 2004. Potasyumun anti-enflamatuar özelliklerinin in vitro araş tırılması

humat Enflamasyon 28:169–174. doi:10.1023/B:IFLA. 0000039563.90066.5d.

- Van Rensburg, CEJ, JR Snyman, T. Mokoale ve AD Cromarty. 2007. Kahverengi kömürden elde edilen humat, temas aş ır ı duyarlı lı ğı ni engeller; sı çanlarda bir etkinlik, toksisite ve terajenite çalı ş ması. *Enflamasyon* 30:148–152. doi:10.1007/s10753-007-9031-5.
- Mosmann, TR 1983. Hüresel büyüme ve hayatta kalma için hızlı kolorimetrik deney: proliferasyon ve sitotoksikite deneylerine uygulama. *J. immünol.* Yöntemler 65:37–64. doi:10.1016/0022-1759(83)90303-4.
- Van Rensburg, CEJ, R. Anderson, MS Myer, GK Jooné ve J. F. O'Sullivan. 1994. Riminofenazin ajanları klorfazimin ve B669, bir insan akciğer kanseri hücre hattı nda çoklu ilaç direncini tersine çevirdi. *kanser Letonya* 85:59–63. doi:10.1016/0304-3835(94)90239-9.
- Platts-Mills, TAE ve K. Ishizaka. 1976. İnsan tamamlayıcı sı nı n alternatif yolunun tavş an hücreleri tarafı ndan aktivasyonu. *J. immünol.* 113:348–358.
- Haslett, PAJ, LG Corral, M. Albert ve G. Kaplan. 1998. Talidomid birincil insan T lenfositlerini kostimüle eder, tercihen CD8+ alt kümesinde proliferasyonu, sitokin üretimini ve sitotoksik tepkileri indüklemeyi tercih eder. *Tecrübe. Med.* 187:1885–1892.
- Cooper, NR 1999. Tamamlayıcı sistemin biyolojisi. İçinde: Enflamasyon. Temel İlkeler ve Klinik Bağlantı lar, Gallin, JL ve R. Snyderman eds. 3. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, s. 281–315.
- Kirschfink, M. 1997. Enflamasyonda kompleman sisteminin kontrol edilmesi. *İmmünofarmakoloji* 38:51–62. doi:10.1016/S0162-3109(97)00057-X.
- Hietala, MA, KS Nandakumar, L. Persson, S. Fahlen, R. Holmdahl ve M. Pekna. 2004. Hem klasik hem de alternatif yollarla kompleman aktivasyonu, artrit için etki etmektedir. *EUR. J. Immunol.* 34:1208–1216. doi:10.1002/eji.200424895.
- Nijmeijer, R., WK Lagrand, CA Visser, CJLM Meijer, H. WM Niessen ve CE Hack. 2001. CRP, akut miyokard enfarktüsünde kompleman aracı lı doku hasarı nda önemli bir suçlu mu? *Int. İmmünofarmakol.* 1:403–414. doi:10.1016/S1567-5769 (00)00044-8.
- Drouin, SM, DB Corry, J. Kildsgaard ve RA Wetsel. 2001. Son teknoloji: C3'ün yokluğu, bir murin pulmoner alerji modelinde Th1 efektör fonksiyonları nda tamamlayıcı nı n rolünü gösterir. *J. Immunol.* 167:4141–4145.
- Arend, WP ve J. Dayer. 1995. Romatoid artrit intelökin-1 ve tümör nükleoz faktörüa'nın üretimini ve etkilerinin engellenmesi. *Artrit Rheum.* 38:151–160. doi:10.1002/art.1780380202.
- Charles, P, Elliott MJ, Davis D, Potter A, Calden JR, C. Antoni, FC Breedveld, JS Smolen, G. Eberl, K. deWoody, M. Feldmann ve RN Maini. 1999. Romatoid artrit anti-TNF tedavisini takiben sitokinlerin, sitokin inhibitörlerinin ve akut faz proteinlerinin düzenlenmesi. *J. Immunol.* 163:1521–1528.
- Gabay, C. 2002. Romatoid artrit tedavisinde sitokin inhibitörleri. *Uzman Görüş üBiol. orada.* 2:135–149. doi:10.1517/14712598.2.2.135.
- Calabrese, LH 2003. Antisitokinde moleküler farklı lı klar terapiler. *klinik Tecrübe. Romatol.* 21:241–248.
- Fitzgerald, AA, SA LeCercq, A. Yan, JE Homik ve CA Dinarello. 2005. Dirençli eriş kin baş langı çlı Still hastalığı olan hastalarda anakinra hı zlı tepkiler. *Artrit Rheum.* 52:1794–1803. doi:10.1002/art.21061.
- Van Dulleman, HM, SJH Van Deventer, DW Hommes, H. A. Bijl, J. Jansen, GNJ Tytgat ve J. Woody. 1995. Crohn hastalığı nı n antitümör nekroz faktörü kimerik antikor (cA2) ile tedavisi. *Gastroenteroloji* 109:129–135. doi:10.1016/0016-5085(95)90277-5.
- Soruri, A., J. Riggert, T. Schlott, Z. Kiarfard, C. Dettmer ve J. Zwiner. 2003. Anafilatoksin C5a, monosit alımı nı ve TNF- ve prostaglandin E2'ye bağı lı mekanizmalar tarafı ndan dendritik hücrelere farklı laş mayı indükler. *J. Immunol.* 171:2631–2636.

22. Gandy, JJ, JP Meeding, CEJ van Rensburg ve JR Snyman. 2007. Potasyum humatı n anti-alerjik özellikleri. XX Dünya Alerji Kongresi TM, Bangkok, Tayland. 7. Asya Pasifik Alerji, Astı m ve Klinik İmmünoloji Kongresi ile birlikte 10. WPAS dahil. 2-6 Aralı k 2007.
23. Badenhorst, BE, CEJ van Rensburg, JR Snyman ve PJ Becker. 2008. Hümk asit, İltihaplanmayı azaltı r. osteoartritli hastalar. Güney Afrika Temel ve Klinik Farmakoloji Derneđi Kongresi. Rodos, 5-8 Ekim 2008.
24. Corcia, AD, A. Costantino, C. Crescenzi ve R. Samperi. 1999. Doğal sularda fenilüre herbisitlerin ve bunları n serbest ve hümk asitle iliş kili metabolitlerinin miktarı nı n belirlenmesi. J. Kromatr. A.852:465-74. doi:10.1016/S0021-9673(99)00644-5.