

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. Çe 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, kısmen bu reaksiyonları n baş laması ndan sorumlu olan proinflamatuvar sitokinlerin inhibisyonuna ve ayrıca kompleman aktivasyonunun inhibisyonuna bağlı olabileceğini göstermektedir. Gözlenen artan lenfosit proliferasyonu, daha önce belgelendiği gibi artan IL-2 üretimine bağlı olabilir.

ANAHTAR KELİMELEER: potasyum humat; antienflamatuvar; tamamlayıcı aktivasyon; sitokinler.

GİRİŞ

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

Bitümlükömürün ı slak oksidasyonu yoluyla elde edilen suda çözünür bir humat olan oksihumatı n [2] in vitro bir çalışması , sağlıklı klı insan gönüllülerden ve HIV'den elde edilen fitohaemaglutinin A (PHA) ile uyarılan mononükleer lenfositlerin (MNL) çoğalmasını 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. Çe yandan Oxihumate de neden oldu

forbol-12-miristat-13-asetat (PMA) ile uyarılan insan nötrofillerinin kompleman reseptörü3 (CR3) ekspresyonunda ve ayrıca PMA ile uyarılan insan nötrofillerinin hücre içi adezyon molekülü1'i (ICAM) ifade eden bir bebek hamster böbrek hücre hattı na yapılmış ması nda artış [4]. Bu faktörler muhtemelen anti inflamatuvar özelliklerine katkı da bulunabilir.

Oxihumate, yukarı da belirtilen çalışmaları için Enerkom (Pty) Ltd tarafından sağlanmış tir. Oxihumate, o zamandan beri durdurulan pahalı bir ı slak oksidasyon iş lemiyle üretildi. Bir linyit kömürükaynağı ndan çıkarılan humatı n anti-enflamatuvar özellikleri, van Rensburg ve diğerleri tarafından test edilmiştir . [5]. Bu çalışmada, 60 mg/kg kahverengi kömür türevi ürünün oral yoldan uygulanmasını n, ancak oksihumatı n değil, bilinen bir anti-inflamatuvar kortikosteroide (yani prednisilon) benzer şekilde, ancak sistemik belirtiler göstermeden sı çanlarda kutanöz aş ır duyarlı lık reaksiyonunu inhibe ettiği bulunmuş tur. toksisite. Bu ürünün etki mekanizmasını n hala araştırılması gerekmektedir.

Yukarı da belirtilen kaynaktan elde edilen linyit kömürünün etkilerini belirlemek için in vitro çalışmaları yapılmış tir.

¹ Pretoria Üniversitesi, Pretoria, Güney Afrika

² Yazı ş maları 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 venipunktür 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 süspansiyon 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 açıklanan benzer bir şekilde kuruldu. 40 µg/ml nihai konsantrasyonda potasyum humat, uyarıcı olarak PHA ile birlikte hücre süspansiyonlarına 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 insan inflamasyon kitini (BD Biosciences, San Jose, CA, ABD) kullanarak BD FACSArray™ akış sitometresi ile TNF-α.

Alternatif Yol Yoluyla Tamamlayıcı Olmayan Faaliyet

Platts-Mills ve Ishizaka [8] tarafından açıklanan 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 oyuuklarına 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 adımlarından 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 plakasına 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 antikoru (Sigma Diagnostics, St Louis, MO, ABD) ile duyarlı hale getirildi. 37°C'de 20 dakika artı 4°C'de 20 dakika inkübasyonundan 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 laştırıcı İmmünoSE süspansiyonunun 50 ul'si eklendi. 37°C'de 60 dakikalık ikinci bir inkübasyon adımlarından her bir oyuğa 100 ul fosfat tamponlu salin (PBS) ilave edildi. Plaka daha sonra 10 dakika 500 x g'de santrifüjlendi ve PBS ile yıkandı.

Hücre hemolizi önceki bölümde açıklanmış gibi belirlendi.

Kırmızı Kan Hüresi Stabilite Testi

Tahlil, 96 oyuklu bir mikro titre plakası nda gerçekleştirildi. Kırmızı kan hücrelerine 40 ul PBS içinde yıkamaya İmmünoSE'nin 1x10⁸/ml süspansiyonu tüm oyuklara, ardından 50 ul PBS ilave edildi. Daha sonra deney kuyucuklarına çeşitli konsantrasyonlarda 10 µl potasyum humat hacmi ve kontrol kuyucuklarına 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 kırmızı kan hücreleri hemoliz gerçekleşti. İnkübasyondan sonra plaka, üç kez PBS ile yıkandı.

Her kuyucuğa 200 mikrolitre distile su eklendi. Plaka daha sonra oda sıcaklığında 60 dakika inkübe edildi, ardından her kuyudan 50 ul yeni bir mikro titre plakası na aktarıldı ve optik yoğunluk bir spektrofotometrik plaka okuyucu ile 405 nm dalga boyunda ölçüldü.

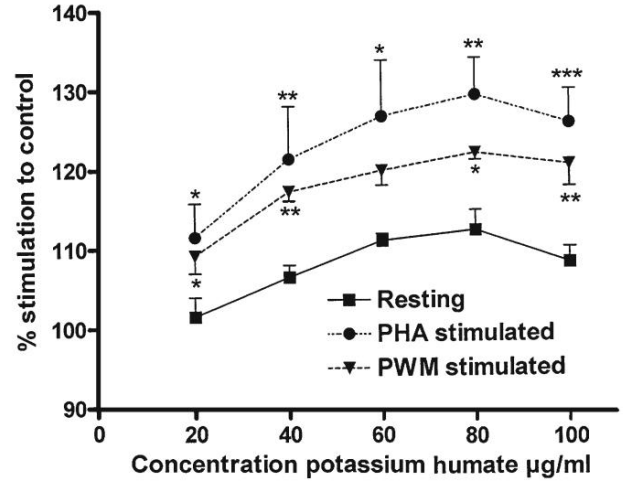
SONUÇLAR

MNL Proliferasyon Testi

Potasyum humat, 80 µg/ml'de maksimum stimülasyonla, konsantrasyona bağlı olarak Şekil 1'de PHA ve PWM ile uyarılan ancak istirahat olmayan MNL'nin çoğalmasını 20 µg/ml ve daha yüksekten önemli ölçüde artırdı (Şekil 1).

Sitokin Testi

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



Şekil 1. Farklı konsantrasyonlarda potasyum humatının istirahat ve uyarılan İmmünoSE lenfosit proliferasyonu üzerindeki in vitro etkisi. Veriler ortalama±SEM olarak ifade edildi. İstatistiksel anlamlılık, ANOVA kullanılarak hesaplandı, ardından kontrolle kıyasla ikili karşılaştırmalar için Bonferroni testi yapıldı. *P<0.05, **P<0.001, ***P<0.0001.

dinlenme MNL. PHA ile uyarılan MNL tarafından TNF-α, IL-1β, IL-6 ve IL-10 salınımında bir azalma kaydedildi.

Bununla birlikte, bu ürünün dinlenme veya PHA ile uyarılan MNL tarafından IL-12p70'in salınımında hiçbir etkisi olmadığını gösterilmemiştir.

Anti-tamamlayıcı Etkinlik

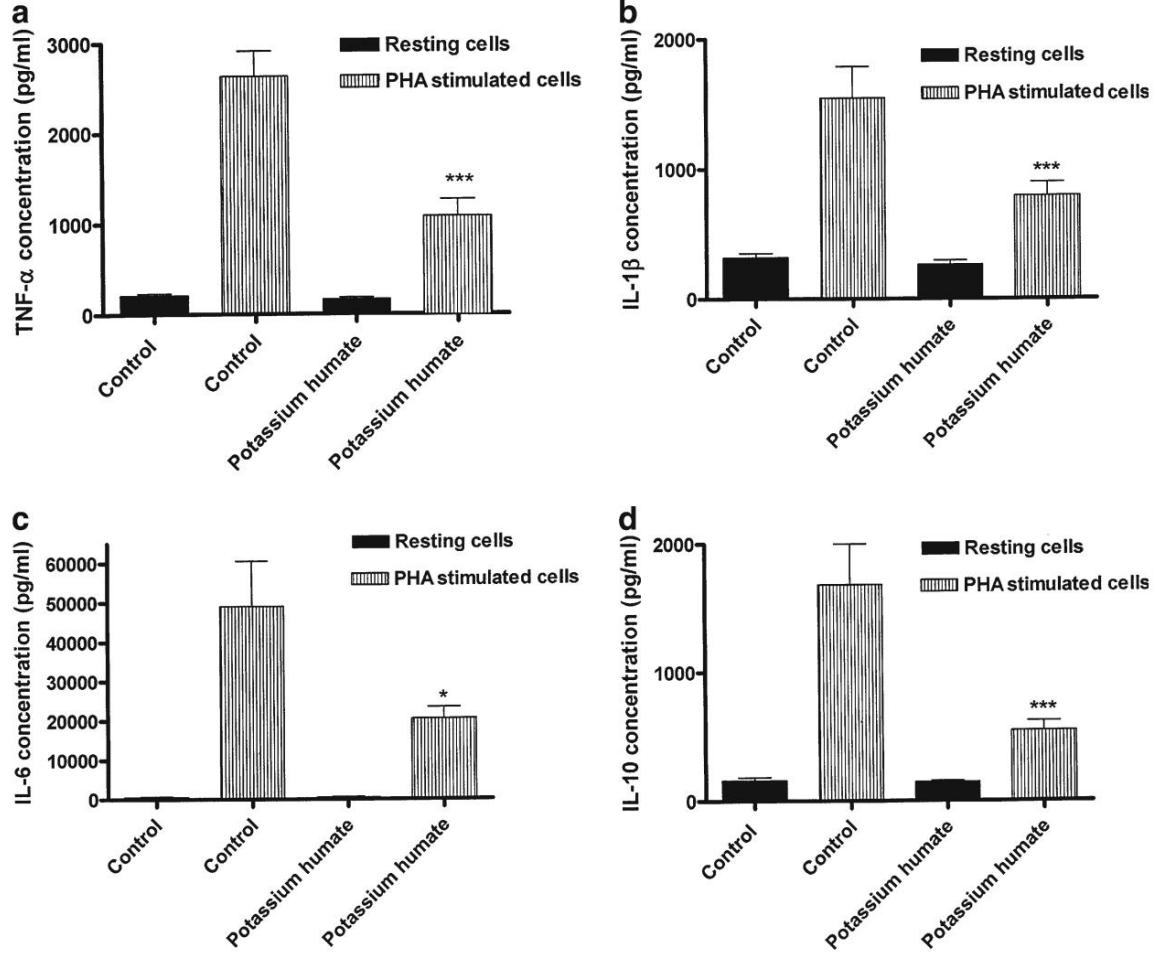
Potasyum humat, hem alternatif hem de klasik yollarla indüklenen hemolizi 10 µg/ml ve daha yüksekten doza bağlı olarak Şekil 3 ve 4'de inhibe etti.

Kırmızı Kan Hüresi Stabilite Testi

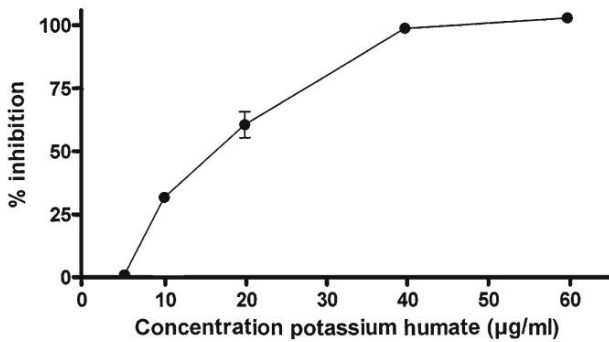
100 µg/ml ve daha yüksek bir konsantrasyonda potasyum humatın, kırmızı kan hücreleri oluşuracak bir konsantrasyonda 5 dakika boyunca LPC'ye maruz kalan kırmızı kan hücrelerinin hemolizi üzerinde hiçbir etkisi olmadığını gösterilmemiştir.

TARTIŞMA

Bu, linyit kömüründen ekstrakte edilen doğal olarak oluşan bir humatın dinlenme ve PHA ve PWM ile uyarılan insan lenfositlerinin in vitro çoğalması üzerindeki uyarıcı etkisini belgeleyen ilk çalışmadır. Bu sonuçlar, Jooné ve diğerleri [3] tarafından elde edilen sonuçlarla ilişkilidir. Ancak bu çalışmada oksihumat kullanılmamıştır. Ne yazık ki hümanik asitin karmaşık yapısından dolayı



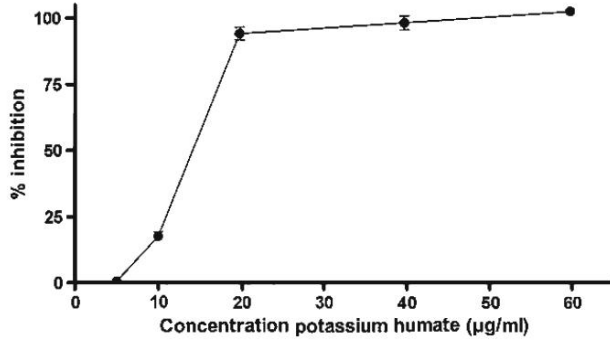
Şekil 2. Potasyum humatını 40 µg/ml'de TNF-α (a), IL-1β (b), IL-6 (c) ve IL-10 (d) salınımını ve sonrasında PHA ile uyarılmış lenfositler üzerindeki etkisi 36 saat inkübasyon. Veriler, ortalama ± SEM olarak ifade edilir. İstatistiksel anlamlılık, ANOVA kullanılarak hesaplandı, ardından kontrolle karşılaştırmalar 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 hücre proliferasyonuna, öncelikle, yanıt veren T hücrenin kendi büyümesini 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 korursa da, aynı zamanda inflamasyonun önemli bir aracıdır [10]. Enflamasyon, tamamlayıcıyı ne aşırı aktivasyonundan kaynaklanabilir ve genellikle hem humoral hem de hücreli efektör sistemleri içeren karmaşık, işlevsel ve ağır ile karakterize edilir. Enflamasyonda tamamlayıcı 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 iskemik/reperfüzyon hasarı gibi hastalık kapsamlı bir ş ekilde araştırılması ş tır [11].

Artrit durumunda, hem klasik hem de alternatif yolların kompleman aktivasyonu, tip II kollajen gibi eklem bileş enlerine karşı oto-antikörlerin oluş umu ile iliş kilendirilmiştir tir [12]. Miyokard enfarktüsünde, kompleman aktivasyon ürünlerinin nötrofil infiltrasyonundan sorumlu olduğu, oysa bu enflamatuar hücreler tarafından salınan enzimlerin vazodilatasyona ve vasküler geçirgenlikte bir artış a neden olduğu kaydedilmiştir tir. Ayrıca ilaç ma sistemini etkileyebilir ve çevredeki hücrelerde apoptozu indükleyebilir [13]. Bir murin pulmoner alerji modelinde tamamlama cı nı n oynadığı önemli rol, Drouin ve arkadaş ları tarafından incelenmiştir tir. [14]. C3 eksikliği olan fareleri kullanarak, bu farelerin bir alerjiye karşı laş tıkları nda, vahş i tip farelere kı yasla pulmoner alerji geliş iminde bir azalma gösterdiğini gösterdi.

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

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

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

İlginc bir ş ekilde C5a'nın TNF α üreten dendritik hücrelerin olgunlaş masındaki rolü Soruri ve diğerleri tarafından tarif edilmiştir tir. [21], kompleman aktivasyonunun inhibisyonunun muhtemelen inflammatuar sitokinlerin salınması nın inhibisyonuna yol açabileceğini belirtmektedir. Ayrıca C5a, monositlerden ve makrofajlardan IL-1, TNF- α ve IL-6'nın salgılanmasını indükleyerek, anafilak toksinleri ve proinflammatuar sitokinler arasındaki iliş kiyi vurgular [10].

Potasyum humatı, 10 μ g/ml ve üzeri doza bağlı bir ş ekilde hem alternatif hem de klasik kompleman yollarını inhibe etti. Koyun kı rmızı kan hücresi zarı stabilitesi deneyi, ürün hücre zarı stabilitesi üzerinde hiçbir etkisinin olmadığını göstermiştir tir. Bu nedenle, potasyum humatı n hücre zarı stabilitesini etkilemeden kompleman yolunu spesifik olarak inhibe ettiğ i sonucuna varılabilir. Potasyum humatı n bu yollar üzerindeki etkileri, tamamlama cı sistemin belirli bileş enlerinin etkisizleş mesine yol açabilen bağlanma özelliklerinden kaynaklanabilir.

Potasyum humatı n sı çanlarda temas aş ırı duyarlı lığı [5] ve insanlarda alerjik rinit [22] ve diz osteoartriti [23] tedavisinde etkili olduğu gösterilmiştir tir. Bu çalış manın sonuçları , kompleman aktivasyonunun inhibisyonunun ve enflamatuarla iliş kili sitokinlerin salınması nın, potasyum humatı n inflamasyonu inhibe ettiğ i mekanizmada rol oynayabileceğini göstermektedir.

Bu çalış ma mada, potasyum humatı n PHA ile uyarılan MNL tarafından TNF- α , IL-1 β ve IL-6 üretimini inhibe ettiğini gösterdik. Humatların çeş itli moleküllere bağlanma özellikleri nedeniyle [24], potasyum humatı n interlökinlerin BD™ sitometrik bead dizisi kitinin antikörleri na bağlanması nı engellemiş olabileceğ i ileri sürülebilir.

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

Potasyum humatı n proinflammatuar sitokin konsantrasyonları nda bir azalmaya neden olması na rağmen, yine de lenfosit proliferasyonunda bir artış meydana geldi. Benzer büyüme uyarıcı etkiler Jooné ve diğerleri tarafından rapor edilmiştir tir. [3] oksihumat durumunda. Büyüme çalış maları na ek olarak, [3] bunun IL-2 sekresyonundaki artış la iliş kili olduğunu bulmuş lardı r. Her iki ürün de lenfosit proliferasyonunu stimüle ettiğ inden, her iki ürünün de IL-2 yolunu benzer ş ekilde etkileme olasılığı nın var olduğunu yalnızca varsayılabilir. Ancak bunun onaylanması gerekiyor.

Ne yazık ki, pratik nedenlerle, potasyum humatı n 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 kaynaklanı yor olabilir. Katkı da bulunan baş ka bir olası faktör, kompleman reseptörü'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. Öe 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 ı klı ğı düzenleyerek ve enflamatuar moleküllerin aktivitesini/üretimini azaltarak etkili immün modüle edici özelliklere sahip olabileceğini göstermektedir. Bununla birlikte, potasyum humatın bağı ş ı klı k sistemini modüle ettiği mekanizmaya iliş kin 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, ş irket için danı ş man olarak görev yapmaktadır.

REFERANSLAR

- Schepetkin, I., A. Khlebnikov ve BS Kwon. 2002. Humus maddesinden tü bbi ilaçlar: mumyaya odaklanı n. 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 tanı mlanması . Yakı t 76:149–154. doi:10.1016/S0016-2361(96)00194-9.
- Joone, GK, J. Dekker ve CEJ van Rensburg. 2003. Oksihumatın immün sistemi uyarıcı özelliklerinin araş tırılması .Z. doğa bilimci 58:263–267.
- Joonék, 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 ı rı 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 hı zlı 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 klofazimin 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. İ çinde: Enflamasyon. Temel İ lkeler ve Klinik Bağlantı lar, Gallin, JL ve R. Snyderman eds. 3.Lippincott Williams & Wilkins, Phila delphia, s. 281–315.
- Kirschfink, M. 1997. Enflamasyonda kompleman sisteminin kontrol edilmesi. İ mmünofarmakoloji 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 etkilidir. 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. İ mmünofarmakol. 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 efektor 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 faktörünü'nün 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 hastalı ğı olan hastalarda anakinraya 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 hastalı ğı nı n antitümör nekroz faktörükimerik antikor (cA2) ile tedavisi. Gastroenteroloji 109:129–135. doi:10.1016/ 0016-5085(95)90277-5.
- Soruri, A., J. Riggert, T. Schlott, Z. Kiafard, 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.