

**ВПЛИВ ХІМІЧНОЇ СПОЛУКИ 17 β -ЕСТРАДІОЛУ
НА КЛІТИННУ ЛАНКУ ІМУНІТЕТУ В УМОВАХ IN VITRO**

Козар В.В., Єрмоєнко Р.Ф., Должикова О.В., Яременко Ф.Г.

Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна ДУ «Інститут проблем
ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського НАМН України», Харків, Україна
kozarval@gmail.com

Вступ. Статеві гормони є важливими модуляторами імунної системи, регулюючи її активність через аутокринні/паракринні механізми. Естрогени проявляють свої ефекти на імунну систему як безпосередньо (наприклад, через рецептори до естрогенів в тимусі, на імунокомпетентних клітинах тощо), так і опосередковано, наприклад, через активацію нейроендокринних шляхів, впливаючи на реалізацію імунної відповіді. Виявлено, що естрадіол стимулює антигенспецифічну імунну відповідь, зокрема шляхом інгібування CD8+T-лімфоцитів і активації CD4+T-клітин, які регулюють, у свою чергу, В-клітинну функцію і обумовлюють репертуар антитіл і цитокінів.

Показано, що естрогени за певних умов можуть ініціювати як про-, так і протизапальні ефекти. Так, були представлені дані щодо здатності естрогенів пригнічувати секрецію прозапальних цитокінів, які продукують Th1 типу (IL-12, ФНПа, ІФН γ), і стимулювати продукцію протизапальних цитокінів, які секретують Th2 та Th3 типу (IL-10, IL-4, TGF β). Були продемонстровані результати стосовно позитивної регуляції естрогенами синтезу широкого діапазону прозапальних молекул, в тому числі цитокінів, С-реактивного білка (СРБ), хемокінів. Показано, що молекулярний механізм стимуляції прозапального стану естрогенів обумовлений модифікацією гормонами сигнальних білків STAT-1 і NF- κ B тощо.

До цього часу є аргументи за і проти застосування гормонозамісної терапії (ГЗТ) в період менопаузи у різних категорій жінок, про що свідчить ряд когортних та рандомізованих досліджень. Також залишається дискусійним вплив ГЗТ на стан імунної системи.

Мета дослідження. Дослідити вплив сполуки 17 β -естрадіолу на клітинну ланку імунітету в умовах in vitro.

Матеріали та методи. Синтез досліджуваної хімічної сполуки 17 β -естрадіолу та її аналітичну атестацію (ТШХ, ІЧ- та УФ-спектри) проводили в атестованій лабораторії: синтезу гормоноподібних сполук та аналітичних та фізико-хімічних досліджень ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського НАМН України», м. Харків, Україна. Синтез хімічної сполуки 17 β -естрадіолу та очищення розчинників здійснювали із застосуванням традиційних методів органічної хімії. Індивідуальність сполуки контролювали методом тонкошарової хроматографії (ТШХ) на пластинках "Silufol" (Чехія).

Імунотропні властивості 17 β -естрадіолу оцінювали в умовах in vitro. В якості об'єкта дослідження була використана гепаринізована донорська кров жінок віком 35–47 років (n=8). За допомогою методу флоатації в градієнті фікол – триомбразт із густиною 1,077 г/см³ виділяли лімфоцити. Концентрацію клітин доводили до 4 x 10⁹/л. В подальшому для проведення реакції використовували пул лімфоцитів.

Для дослідження субпопуляційного складу лімфоцитів застосовували моноклональні антитіла (ТОВ НПЛ «Гранум», м. Харків) проти наступних антигенів лімфоцитів (кластерів диференціювання лімфоцитів – CD): CD 3 для виявлення зрілих Т-лімфоцитів, CD 4 – Т-лімфоцитів із хелперною активністю, CD 8 – Т-лімфоцитів із цитотоксичною активністю (Т-кілери); CD 16 – натуральних кілерних лімфоцитів (NK); CD 22 – зрілих В-лімфоцитів.

17 β -Естрадіол та його похідне ПЕ0607 використовували в концентрації, яка відповідає добовій дозі для людини, а саме 0,6 мг/добу. В якості контролю у проби додавали аналогічну кількість 0,9% розчину натрію хлориду.

Отримані результати. Встановлено, що сполука 17 β -естрадіол вірогідно знижує майже в 1,5 разів кількість лімфоцитів із кластерами диференціювання CD3, CD22, в 1,8 разів CD16 ($p \leq 0,05$) та підвищує в 1,3 рази число Т лімфоцитів із маркерами CD4 ($p \leq 0,05$) у порівнянні із контролем. Кількість CD 8 Т-лімфоцитів вірогідно не змінилася, хоча мала тенденцію до зниження. Імунорегуляторний індекс, який визначають як співвідношення CD4/CD8, у пробах 17 β -естрадіолом був вірогідно підвищений у порівнянні з контролем (в 1,44 рази, $p \leq 0,05$).

Отже, в результаті дослідження показано, що 17 β -естрадіол має супресивний вплив на загальну кількість лімфоцитів (CD3), натуральні кілерні клітини NK (CD 16) та зрілі В-лімфоцити (CD 22) і стимулюючий на Т-хелперну популяцію лімфоцитів (CD 4) та імунорегуляторний індекс у порівнянні з контролем.

Загальновідомо, що для менопаузи характерним є підвищення прозапального статусу, зниження цитостатичної активності NK, функціональної спроможності CD4 Т-лімфоцитів і активація аутореактивних В-лімфоцитів, що сприяє розвитку інфекційних, онкологічних, аутоімунних, нейродегенеративних захворювань, ЦД 2 типу та атеросклерозу у жінок. У жінок після менопаузи в сироватці крові спостерігали зменшення загальної кількості лімфоцитів (CD3), в основному за рахунок Т-хелперів (CD4), значне зниження співвідношення CD4+/CD8, підвищення активності натуральних кілерів (CD 16) та кількості і активності В-лімфоцитів в основному за рахунок аутореактивних клонів. У жінок з хірургічною менопаузою реєстрували більш суттєве зниження кількості CD4 Т-лімфоцитів та збільшення числа цитотоксичних лімфоцитів субпопуляції CD 8 і натуральних кілерів.

Численні експериментальні і клінічні дослідження показали, що гормонозамісна терапія (ГЗТ) може частково відновлювати функціональну спроможність імунної системи. Раніше вважали, що екзогенні естрогени здатні погіршувати перебіг аутоімунних захворювань та збільшувати ризик тромбозів. Проте, наступні дослідження продемонстрували, що ГЗТ в постменопаузі позитивно впливає на перебіг аутоімунних захворювань, зокрема знижуючи рівень аутоантитіл шляхом супресії аутореактивних клонів В-лімфоцитів. Також відомо, що ГЗТ здатна чинити інгібуючий вплив на продукцію цитокінів Th1 типу, а саме зменшення концентрації IL-2 і IFN- γ в сироватці крові пацієнтів, зниження цитотоксичності NK клітин та не впливати на рівень IL-4, одного з маркерів активності Th2 типу. Проте, імунореабілітація за умов застосування ГЗТ не є достатньою, підтвердженням чому є результати епідеміологічних досліджень, які встановили, що ГЗТ уповільнює, проте не спиняє розвиток імунопатологічних станів, пов'язаних із віком, як то остеопороз, атеросклероз, онкологічні та аутоімунні захворювання.

Висновки. Таким чином, результати нашого експерименту підтверджують дані літератури щодо дуальності впливу 17 β -естрадіолу на імунокомпетентні клітини. Можливо, ГЗТ повинна поєднуватися із імунотропною терапією для відновлення балансу компонентів і нормалізації функціональної спроможності імунної системи з метою зменшення ризику розвитку імунопатологічних станів в період менопаузи.