

**А.М. Войтович^{1,2}, к.б.н., А.И. Котеленец¹, к.м.н.,
В.В. Шевляков¹, д.м.н., проф.,
В.Ю. Афонин^{1,2}, к.б.н., Л.А. Наджарян¹,
Е.С. Лобанок³, к.б.н., И.Б. Василевич³**

ВЛИЯНИЕ ЭПИБРАССИНОЛИДА НА ПОКАЗАТЕЛИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

Республиканский научно-практический центр
гигиены МЗ Беларуси, г. Минск¹

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, г. Минск²

Институт биофизики и клеточной инженерии НАН
Беларуси, г. Минск³

Механизмы действия стероидов в регуляции процессов онтогенеза и дифференцировки у растений, насекомых и позвоночных обнаруживают глубокое эволюционное сходство. Так, брассиностероиды, регулирующие рост и морфогенез растений, структурно очень близки экидистероидам насекомых. Брассиностероиды являются также одним из основных регуляторов апоптоза в клетках растений. Реализация сигналов стероидов у растений происходит через рецепторы BRI1 [1-4], чьи трансмембранные лиганды структурно близки лигандам трансмембранных рецепторов, кодируемых у дрозофил геном Toll. В онтогенезе дрозофил рецептор Toll участвует в определении дорзо-вентрального градиента [5] и формировании раннего иммунного статуса, прежде всего против бактерий и грибов. Toll-подобные рецепторы семейства TLR у человека и животных также участвуют в реализации противомикробного иммунитета, основными компонентами которого являются фагоциты: нейтрофилы, макрофаги и дендритические клетки [6].

В связи с этим изучение действия брассиностероидов на иммунокомпетентные клетки животных не только представляет значительный научный интерес, но имеет практическое значение, так как препараты на их основе предложены для применения в качестве регуляторов роста растений.

Объект и методы исследования

Эпибрассинолид (ЭБ) синтезирован и предоставлен лабораторией химии стероидов ГНУ "Институт биорганической химии НАН Беларуси".

В работе проведены эксперименты *in vivo* и *ex vivo*. В остром опыте и для изучения сенсibilизирующей способности использованы взрослые самцы мышей СВА, массой 20 ± 2 г. В подостром и хроническом экспериментах — нелинейные самцы белых крыс массой 160 ± 20 г. В подостром эксперименте использованы также морские свинки массой 390 ± 50 г.

В остром эксперименте эпибрассинолид растворяли в забуференном физиологическом растворе (ЗФР) с добавлением твина (Sigma), вводили мышам внутривентрально в дозе 500 мг/кг. В подостром эксперименте препарат вводили крысам внутривентрально с помощью иглы-зонда, суточные дозы — 0,0002 и 0,2 мг/кг. В хроническом эксперименте использован спиртовой раствор эпибрассинолида, который крысам вводили внутривентрально из расчета конечной концентрации этанола не более 0,1% в дозовом диапазоне 0,000002–0,0002 мг/кг. Морским свинкам раствор эпибрассинолида в ЗФР с добавлением твина вводили интраназально в суточных дозах, соответствующих объемным концентрациям 0,008; 0,08 и 0,8 мг/м³. В эксперименте *ex vivo* клеточную суспен-

зию разводили ЗФР до 10^7 кл./мл, спиртовой раствор эпибрассинолида (5 мг/мл) вносили из расчета 0,1% этанола в инкубационной среде.

Тимус взвешивали и вымывали из него тимоциты при помощи ЗФР с добавлением эмбриональной бычьей сыворотки (5–10 %). После фильтрования и центрифугирования 7 мин (1500 об./мин) к осадку добавляли ЗФР и делали мазки, которые после высыхания фиксировали 96% этанолом, окраску проводили красителем Гимза (Merc) [5]. Проницаемость клеточных мембран оценивали с использованием витального красителя трипанового синего.

Накопление порфириновых пигментов в тимоцитах определяли после инкубации клеток в течение 2 и 4 ч в ЗФР при 37°C в присутствии 0,8 мМ σ -аминолевулиновой кислоты (АЛК, Sigma) спектрофлуориметрически при длинах волн возбуждения λ 405 нм и регистрации 560–720 нм [8]. Флуоресцирующим стандартом служил родамин-В. Состояние липидного бислоя и анулярных липидов (связанных с интегральными белками) мембран тимоцитов оценивали с использованием флуоресцентного зонда пирена [9]. Пирен вносили в клеточную суспензию в концентрации $3 \cdot 10^{-6}$ М, измерения проводили при λ возб. 335 нм и 280 нм, λ рег. — 393 нм и 470 нм. Для люминесцентных измерений использован спектрофлуориметр Solar-222 (Беларусь).

В эксперименте по воспроизведению сенсibilизации использовали смесь, состоящую из 100 мкг эпибрассинолида в физиологическом растворе и полного адьюванта Фрейнда (ПАФ) при соотношении 1:1. В объеме 60 мкл ее вводили внутрикожно животным в основание хвоста. В контроле использовали смесь физиологического раствора и ПАФ в эквивалентном объеме. На 6 сут после введения эпибрассинолида для определения гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) внутрикожно вводили разрешающую дозу препарата (100 мкг на животное) в апоневроз задней лапы. Результаты внутрикожного теста опухания лапы (ВТОЛ) учитывали через 24 ч [10]. Проведен также анализ реакции специфического лейкоцитоза (РСЛЛ) при стимуляции лейкоцитарных клеток крови 0,03%-ным раствором эпибрассинолида в ЗФР.

На основании общепринятых методик [11-13] оценивали функциональное состояние неспецифического гуморального иммунитета по уровню циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) и активности лизоцима, определяли интегральный показатель антимикробной резистентности — бактерицидную активность сыворотки крови (БАСК), общую гемолитическую активность комплемента в сыворотке крови, а также функциональную способность фагоцитов в НСТ-тесте по спонтанному и зимозан-стимулированному показателям. Измерения проводили на спектрофотометре Multiscan EX (LabSystems, Финляндия).

Результаты и их обсуждение

Реакция организма на введение эписбассинолида хорошо видна при сравнении соотношения массы тимуса к массе тела животного (табл. 1).

Во все сроки исследований этот индекс ниже значений у контрольных животных, которым эписбассинолид не вводили. Снижение относительного коэффициента массы тимуса (ОКМ) происходило на фоне увеличения числа тимоцитов с повреждением мембран (рис. 1).

Количество измененных клеток достоверно выше через 36 ч после

введения эписбассинолида по сравнению с предыдущим сроком (рис. 1). Через 48 ч наблюдалось наибольшее количество клеток с признаками повреждения ядра. При этом следует учитывать роль физиологических процессов, так как наибольшее число клеток с изменениями ядра наблюдалось также через 36 ч после введения животным физраствора или физраствора с твином без эписбассинолида. Можно предположить, что процесс клеточной гибели во всех сериях экспериментов был наиболее выражен в первые часы после воздействия, то есть до 24ч.

Острый эксперимент на мышах был проведен с использованием заведомо высокой дозы препарата. Поэтому представляет интерес сравнение полученных результатов с исследованиями, проведенными на крысах при суточных дозах эписбассинолида — 0,0002 и 0,2 мг/кг (табл. 2). При меньшей дозе эписбассинолида через 2 мес от начала эксперимента у животных отмечено увеличение массы тимуса относительно контроля. Усиление клеточной пролиферации в данном случае подтверждается наличием метафаз, как правило, не регистрируемых на мазках. Увеличения гибели тимоцитов в этот период не выявлено. Однако рост клеточности тимуса нельзя од-

нозначно объяснить иммуностимулирующей, так как в тимусе в полтора раза увеличилось количество клеток с цитоплазмой, выраженно окрашенной в розовый цвет и неровными краями, что свидетельствует о повреждении мембраны.

В ряде случаев ускорение темпов клеточной пролиферации сопровождается апоптозом [14]. Похожее изменение мы наблюдали при увеличении на три порядка дозы препарата. Масса тимуса при этом была на треть ниже, чем у животных предыдущей серии, хотя и не отличалась от значений контрольной группы. Наиболее выраженным был рост показателей клеточной гибели: имело место не только увеличение числа апоптотических тел, а и значимое увеличение числа клеток с признаками некроза. В отличие от контроля, на препаратах от животных, получивших эписбассинолид, наблюдается увеличение числа плазмцитоподобных клеток, особенно при дозе 0,2 мг/кг (увеличение в 10 раз). Учитывая небольшую долю таких клеток среди всех просчитанных, а также их морфологию, можно предположить, что это плазмодные дендритические клетки.

Эписбассинолид водонерастворим, поэтому вероятный механизм его воздействия связан с высоким сродством к липопротеинам клеточной мембраны и ее отдельным компонентам, в том числе трансмембранным и цитоплазматическим лигандам рецепторов [6]. Влияние препарата на состояние липидного бислоя мембран тимоцитов оценивали с использованием гидрофобного флуоресцентного зонда пирена. Известно, что пирен, являясь неполярным флуоресцентным зондом, диффундирует в углеводородной области мембраны и, возможно, в области

Таблица 1

Влияние эписбассинолида на относительные коэффициенты массы тимуса мышей при внутрибрюшинном введении

Характер опыта	24 ч	36 ч	48 ч
Физраствор	0,85±0,18	1,20±0,16	0,96±0,21
Твин	1,23±0,11	1,16±0,06	1,17±0,12
Твин + ЭБ	0,91±0,13	0,63±0,19	0,76±0,11
Контроль	1,15±0,13		

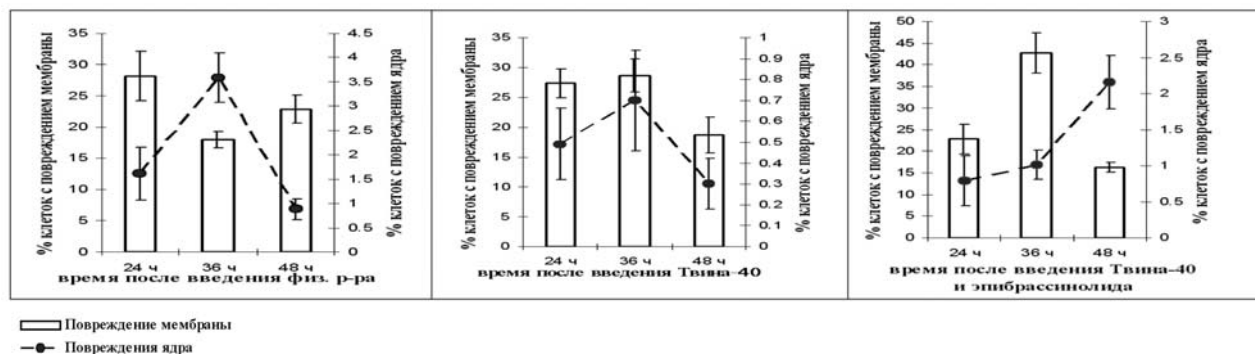


Рисунок 1. Гибель клеток тимуса мышей в разные сроки после введения эписбассинолида

Таблица 2

Гибель клеток тимуса крыс в разные сроки после введения эпибрассинолида ($M \pm m$)

Вариант	Число животных	Число клеток					Коэффициент массы тимуса, мг/г
		всего	с признаками повреждения мембран, %	некротических, %	апоптотических тел, %	плазмодитоподобные клетки, %	
Твин (контроль)	10	5934	44,06 $\pm$ 0,16	0,09 $\pm$ 0,04	0,51 $\pm$ 0,13	0,01 $\pm$ 0,01	1,07 $\pm$ 0,09
0,0002 мг/кг	9	5284	65,04 $\pm$ 4,62	0,03 $\pm$ 0,02	0,64 $\pm$ 0,30	0,03 $\pm$ 0,02	1,36 $\pm$ 0,07*
0,2 мг/кг	10	5463	48,46 $\pm$ 4,08	0,33 $\pm$ 0,17	1,40 $\pm$ 0,26	0,12 $\pm$ 0,06	0,97 $\pm$ 0,06

Примечание: * — $P < 0,05$ по отношению к контролю.

глицериновых остатков. В экспериментах *ex vivo* изменений вязкости липидного бислоя и прибрежковых липидов мембран тимоцитов при внесении эпибрассинолида в инкубационную среду не выявлено. Эти результаты отличаются от реакции клеток эритроидного ряда, в которых наблюдалось увеличение осмотической резистентности на фоне изменения стероидного обмена [15], что свидетельствовало о преобладании процессов метаболической активации. Поэтому процессы клеточной гибели в тимусе сопровождались изменениями показателей стероидного обмена, как было отмечено и другими авторами [16, 17].

Известно, что процессы клеточной пролиферации и дифференцировки, с одной стороны, и активность метаболизма, с другой, регулируются в значительной степени через одни и те же сигнальные системы [14]. Это позволяет исследовать конкурентное воздействие на сигнальные системы клеток изучаемого вещества. Представляет инте-

рес выявить внутриклеточные изменения в первые часы после воздействия эпибрассинолида на тимоциты *ex vivo*. Такое исследование было проведено нами в условиях индуцируемого АЛК накопления эндогенных порфиринов в тимоцитах. Так как АЛК-синтаза катализирует первую скорость-лимитирующую реакцию образования порфиринов и гема, добавление к суспензии клеток экзогенной АЛК позволяет обойти регуляторную стадию процесса гемообразования и привести к накоплению протопорфирина. Как видно из рис. 2, эпибрассинолид ингибирует в тимоцитах АЛК-индуцируемое накопление порфириновых пигментов.

Так, через 2 ч после добавления к клеткам препарата синтез порфиринов в тимоцитах снижается в 2, а в отдельных случаях более чем в 4 раза. Через 4 ч инкубации клеток с эпибрассинолидом накопление протопорфирина также было ниже в 1,2 раза. В контрольных экспериментах по исследованию влияния этанола в

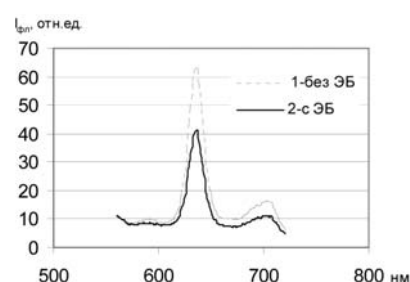


Рисунок 2. Влияние эпибрассинолида на АЛК-индуцируемое накопление эндогенных порфиринов в тимоцитах крыс (время инкубации 2 ч)

дозе, используемой для приготовления раствора эпибрассинолида, на индуцируемый АЛК синтез порфиринов в тимоцитах *ex vivo* установлено отсутствие его вклада в общий эффект эпибрассинолида в течение первых 2 ч, позднее, через 4 ч, наблюдалось ингибирование процесса порфиринообразования.

Изменение пролиферативной активности тимоцитов крыс сопровождалось нарушениями показателей иммунитета, которые носили слож-

Таблица 3

Неспецифическая иммунологическая резистентность организма крыс при хроническом воздействии эпибрассинолида ($M \pm m$)

Показатели	Контроль	Эпибрассинолид, мг/кг		
		0,000002	0,00002	0,0002
БАСК, %	93,31 $\pm$ 1,06	94,86 $\pm$ 1,22	88,83 $\pm$ 2,53	95,20 $\pm$ 1,16
Активность лизоцима, %	68,73 $\pm$ 0,58	64,94 $\pm$ 3,26	67,04 $\pm$ 1,71	68,64 $\pm$ 2,46
Активность комплемента, усл. ед.	49,10 $\pm$ 10,00	27,33 $\pm$ 7,96	22,18 $\pm$ 5,50	26,70 $\pm$ 7,11
ЦИК, усл. ед.	67,63 $\pm$ 2,14	70,50 $\pm$ 6,28	76,00 $\pm$ 3,07*	83,75 $\pm$ 3,60*

Примечание: в этой и табл.4 * — $P < 0,05$ по отношению к контролю.

ный, дозозависимый характер (табл. 3). В хроническом эксперименте наибольшие изменения отмечены в активности комплемента сыворотки крови, которая снижалась во всем диапазоне исследованных доз. Одновременно происходило нарастание относительного содержания ЦИК. Можно предположить, что эпибрассинолид стимулирует иммунокомпетентные клетки, что хорошо согласуется с известной ролью рецепторов семейства TLR в формировании антибактериальной защиты организма [6]. Однако, учитывая длительные сроки воздействия препарата на организм, остается неясной динамика развития этого процесса.

Частично ответить на этот вопрос можно, учитывая результаты подострого эксперимента на морских свинках, получавших эпибрассинолид интраназально в течение 2 мес (табл. 4). Обращает на себя внимание, что ряд иммунологических показателей при наименьшей дозе отклоняется в противоположную сторону по сравнению с двумя более высокими. Так, количество ЦИК при дозе 0,008 мг/м³ снижается по сравнению с контролем, а затем с увеличением дозы происходил рост этого показателя. Окислительный метаболизм макрофагов при наименьшей дозе резко возрастает как в спонтанном, так и зимозан-стимулированном НСТ-тесте. Величина фагоцитарного резерва также возрастает при наименьшей дозе. Далее наблюдается дозозависимое снижение этих показателей. На этом фоне резко выделяется показатель бактерицидной активности сыворотки крови, который возрастает с увеличением дозы вещества.

Суммируя результаты экспериментов, можно констатировать, что длительное воздействие эпибрассинолида на организм животных приводит к развитию типичной аутоиммунной реакции, в которой присутствуют основные компоненты этого процесса. Как правило, активность макрофагов, сопровождающая процессы апоптоза, не приводит к подобному эффекту. Однако присутствие в тимусе клеток, морфологически похожих на плазмодные дендритические клетки, наряду с отмеченными выше изменениями, свидетельствует о напряжении неспецифической реактивности организма [18, 19]. Увеличение фагоцитарной активности гранулоцитов при дозе 0,08 мг/м³ и нарастание БАСК позволяет предположить, что формирование иммунного ответа обусловлено стимуляцией именно системы антимикробной защиты, большую роль в регуляции которой играют рецепторы семейства TLR.

Все отмеченные выше измене-

ния наблюдаются при пероральном и внутривентральном введении эпибрассинолида. В условиях производства и применения препарата на его основе наиболее вероятен непосредственный контакт с кожными покровами. Поэтому большое значение имеет оценка сенсibilизирующих свойств. Результаты этих исследований представлены в табл. 5.

Реакция животных на провокационную внутрикожную пробу с эпибрассинолидом по абсолютному и относительному показателям ВТОЛ была несколько выше, чем в контроле, но различия не были статистически значимыми. Специфический лейколизис при стимуляции гранулоцитов крови подопытных животных препаратом *in vitro* по частоте и выраженности также превышал контроль, не выходя за пределы физиологической нормы спонтанного лейколизиса (10%). Поскольку у трети подопытных животных отмечены положительные кожные тест-реакции, можно предполо-

Таблица 5

Показатели алергизации мышей (M±m)

Показатели	Контроль (n=10)	Опыт (n=10)
ВТОЛ		
- x 10 ⁻² мм	9,42±1,86	10,8±1,86
- баллы	0,25±0,18	0,58±0,19
- Н	3/12	6/12
РСЛЛ		
- %	3,81±1,69	6,32±3,79
- Н	1/10	2/10

Примечание: Н — отношение количества животных со сверхнормативными показателями к общему количеству животных в опыте.

Таблица 4

Иммунологические показатели морских свинок после ингаляционного воздействия эпибрассинолида (M±m)

Показатели	Контроль	Эпибрассинолид, мг/м ³		
		0,008	0,08	0,8
ЦИК, усл. ед.	60,4±7,0	54,8±5,4	77,1±10,2	78,9±2,7 *
Активность комплемента, усл. ед.	6,27±2,13	5,00±1,26	4,81±0,44	7,22±0,79
Активность лизоцима, %	61,9±1,0	60,5±2,2	66,2±1,7 *	66,5±2,5
БАСК, %	34,3±4,1	47,1±6,3	61,0±7,5 *	66,2±7,2 *
НСТ-тест, %:				
- спонтанный	17,1±2,5	33,6±6,5 *	14,0±3,0	11,5±3,3
- зимозан-стимулированный.	48,1±4,8	77,7±11,7*	43,3±7,3	26,2±2,7 *
- индекс стимуляции	1,26±0,03	1,33±0,05	1,26±0,05	1,14±0,04 *
Величина фагоцитарного резерва, %	31,0±3,6	42,7±7,4	29,3±5,6	14,7±4,6 *

жить, что препарат способен вызывать слабый гипериммунный ответ клеточноопосредованного типа.

Таким образом, в клетках тимуса эпибрасинолид стимулирует процессы пролиферации и клеточной гибели, ингибируя первую фазу ме-

таболической активации клеток. В условиях длительного поступления эпибрасинолид способен приводить к напряжению неспецифической реактивности организма и нарушению иммунорегуляторных процессов. При внутрикожном введе-

нии мышам в стандартной дозе препарат не вызывает развития гиперчувствительности замедленного типа и является практически алергобезопасным.

ЛИТЕРАТУРА

1. Clouse S.D. Brassinosteroid signal transduction: clarifying the pathway from ligand perception to gene expression // *Mol. Cell.* — 2002. — Vol. 10, N5. — P. 973-982.
2. Nam K.H., Li J. BRI1/BAK1, a receptor kinase pair mediating brassinosteroid signaling // *Cell.* — 2002. — Vol. 10, N2. — P. 203-212.
3. Wang Z.Y., Seto H., Fujioka S. et al. BRI1 is a critical component of a plasma-membrane receptor for plant steroids // *Nature.* — 2001. — Vol. 410, N 6826. — P. 380-383.
4. Kuriyama H., Fukuda H. Developmental programmed cell death in plants // *Curr. Opin. Plant Biol.* — 2002. — Vol. 5, N6. — P. 568-573.
5. Koyama T., Iwami M., Sakurai S. Ecdysteroid control of cell cycle and cellular commitment in insect wing imaginal discs // *Mol. Cell Endocrinol.* — 2004. — Vol. 213, N2. — P. 155-166.
6. Akira Sh. Toll-like receptor signaling // *The J. Biol. Chem.* — 2003. — Vol. 278, N40. — P. 38105-38108.
7. *Cell Growth and Apoptosis. A pract. approach.* / Ed. by Studzinski G.P. — Oxford univ. press, 1995. — 262 p.
8. Лобанок Е.С. Эндогенные порфирины в животных клетках: механизмы образования и фотодинамическая активность / Биофизика живых систем: от молекулы к организму (под ред. И.Д. Волотовского). — Минск: Наука, 2002. — С. 161-173.
9. Добрецов Г.Е. Флуоресцентные зонды в исследовании клеток, мембран и липопротеинов. — М.: Наука, 1998. — 276 с.
10. Методические указания № 10-53-97 "Требования к постановке экспериментальных исследований по изучению аллергенных свойств и обоснованию гигиенических регламентов химических аллергенов в воздухе рабочей зоны". — Минск, 1997.
11. Методические рекомендации по иммунологическому обследованию лиц, профессионально работающих с источниками ионизирующих излучений: Метод. рекомендации / В.М. Шубик, С.А. Кальницкий, В.Г. Сиразанов, В.И. Усольцев. — Л., 1981. — 15 с.
12. Колориметрические методы исследования в иммунологии: Метод. рекомендации / Н.А. Кузовкова, Т.Е. Злотник, С.В. Жаврид. — Минск, 1992. — 12 с.
13. Методы определения естественной (неспецифической) резистентности организма: Уч. пособие ВМА им. С.М. Кирова / П.И. Ремизов, Г.А. Башмаков. — Л., 1976. — 64 с.
14. Nebert D.W., Roe A.L., Dieter M.Z., Solis W.A., Yang Y., Dalton T.P. Role of the aromatic hydrocarbon receptor and [Ah] gene battery in the oxidative stress response, cell cycle control, and apoptosis. // *Bio-chem. Pharmacol.* — 2000. — Vol. 59, N1. — P. 65-85.
15. Котеленец А.И., Наджарян Л.А., Войтович А.М., и др. Изменение показателей метаболизма у крыс в условиях длительного воздействия эпибрасинолида // *Здравоохранение.* — 2005. — №6. — С. 44-47.
16. D'Elia M., Patenaude J., Hamelin C., Garrel D.R., Bernier J. Corticosterone binding globulin regulation and thymus changes after thermal injury in mice // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* — 2005. — Vol. 288, N5. — P. 852-860.
17. Hoffman-Goetz L., Duerrstein L. The effect of chronic and acute exercise on thymocyte apoptosis and ne-crosis in ovariectomized mice given dietary genistein // *J. Sports Med. Phys. Fitness.* — 2004. — Vol. 44, N3. — P. 281-287.
18. Okada T., Lian Z.X., Naiki M., Ansari A.A., Ikehara S., Gershwin M.E. Murine thymic plasmacytoid dendritic cells // *Eur. J. Immunol.* — 2003. — Vol. 33, N4. — P. 1012-1019.
19. Farkas L., Kvale E.O., Johansen F.E., Jahnsen F.L., Lund-Johansen F. Plasmacytoid dendritic cells activate allergen-specific TH2 memory cells: modulation by CpG oligodeoxynucleotides // *J. Allergy Clin. Immunol.* — 2004. — Vol. 114, N2. — P. 436-443.

А.М. Войтович, А.И. Котеленец, В.В. Шевляков,
В.Ю. Афонин, Л.А. Наджарян, Е.С. Лобанок,
И.Б. Василевич

ВПЛИВ ЕПИБРАССИНОЛІДУ НА ПОКАЗНИКИ ІМУННОЇ СИСТЕМИ

Показано, що в клітинах тимусу епібрасинолід стимулює процеси проліферації і клітинної загибелі, інгібуючи першу фазу метаболічної активації клітин. В умовах тривалого надходження епібрасинолід порушує імунорегуляторні процеси. При внутрішньошкірному введенні епібрасиноліду мишам СВА в стандартній дозі він не викликає розвитку гіперчутливості уповільненого типу і є практично алергобезпечним. Виразність і спрямованість імунологічних змін залежить від дози епібрасиноліду, шляхів надходження, тривалості впливу.

А.М. Voitovich, A.I. Kotelenets, V.V. Shevlyakov,
V.Yu. Afonin, L.A. Nadjarian, E.S. Lobanok, I.B. Vasilevich

EPIBRASSINOLIDE EFFECT ON IMMUNE SYSTEM PARAMETERS

Epibrassinolide was shown to stimulate processes of proliferation and cell death in thymus cells inhibiting the first phase of cell metabolic activation. Epibrassinolide is able to strain non-specific organism reactivity and to disturb immunoregulatory processes under its prolonged administration. Being injected intracutaneously to CBA mice at a standard dose, it does not cause considerable delayed-type hypersensitivity and it is practically nonallergic. Thus, expression and direction of immunological changes depend on the epibrassinolide dose, ways of administration and the period of exposure.