

**ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ФИТОПРЕПАРАТОВ  
НА МЕХАНИЗМЫ АНТИВИРУСНОЙ ЗАЩИТЫ**

*МЕЛЬНИКОВ О.Ф., БРЕДУН А.Ю., РЫЛЬСКАЯ О.Г.,  
ПЕЛЕШЕНКО Н.А., ШМАТКО В.И.*

ГУ «Институт отоларингологии им.проф. А.И. Колосийченко НАМН Украины»

Различные фармакологические средства, применяемые при воспалительных заболеваниях помимо влияния на инфекции (микробы, вирусы, грибы) и механизмы воспаления, могут существенно изменять состояние локального и системного иммунитета, что, в свою очередь, существенно изменяет как течение заболевания, так и формирование последующего иммунного ответа (Г.Н. Дранник и соавт., 1994; О.Ф. Мельников и соавт., 2006; И.И. Сахарчук, 2007; Leneva I., Nay A., 2002). В связи с увеличением в структуре инфекционно-воспалительных заболеваний удельного веса заболеваний вирусной этиологии все чаще при иммунофармакологическом тестировании фармпрепаратов оценивается их действие на механизмы антивирусного иммунитета. Установлено, что активация функции естественных цитолитических клеток (ЕЦК), так и активность Т-цитолитических клеток в значительной степени связана с системами интерферона и других цитокинов, что определяет назначение препаратов с подобным влиянием при вирусных инфекциях (Ф.И. Ершов и соавт., 2004; А.С. Симбирцев и соавт., 2004; В.З. Кривицкая и соавт., 2005; Г.Н. Дранник, 2006)

В связи с широким применением фитопрепаратов в клинической практике, представлялось целесообразным исследовать действие некоторых из них на активность факторов врожденного иммунитета, возможность усиления продукции различных интерферонов клетками лимфоидного ряда *in vitro*. Исследовали действие препаратов Имупрет и Синупрет (Бионорика), Эхинацея композитум (Neel).

**МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Исследования *in vitro* проведены на клетках небных и глоточной миндалин 22 детей в возрасте от 7 до 14 лет, которым по показаниям была проведена тонзиллэктомия или аденотомия. Получение клеточного материала из ткани миндалин проведено в соответствии с рекомендациями О.Ф. Мельникова (1981) и И.П. Кайдашева (2003). Культивирование клеток проводили в питательной среде RPMI-1640 с добавками (L-глутамин, эмбриональная телячья сыворотка 5% (Serva), гентамицин 40 мкг/мл) в течение 24 часов с различными концентрациями препарата: 1, 2, 3. Контролем служили образцы культивируемых клеток миндалин без препарата, где определяли исходный уровень активности и через 24

часа культивирования. Разведение препарата «1» соответствовало добавлению к клеткам 0,1 мл вводно-солевого экстракта, содержащего 1 измельченную таблетку препаратов Имупрет и Синупрет в 5 мл раствора Хэнкса и стерилизованного пропусканием через фильтр типа Millipore (Чехия). Разведение «2» соответствовало 0,2 мл, а «3» – 0,3 мл указанного раствора. При тестировании препарата Эхинацеи «1» соответствовало 0,01 мл цельного препарата из ампулы, «2» – 0,05 и «3» – 0,1 мл. Через 18 часов культивирования определяли клеточную цитолитическую активность клеток в отношении эритроцитов цыплят (ЭЦ), по спектрофотометрическому методу (анализатор Stat-Fax 2100, США), описанному О.Ф. Мельниковым, Т.А. Заяц (1999).

Методом розеткообразования с использованием моноклональных антител (Д.К. Новиков, 2000) и реактивов лаб. иммунологии Витебского университета (Беларусь) микроскопически определяли число клеток с фенотипом CD56 (естественные цитолитические клетки, ЕЦК).

В надосадочной жидкости после суточного культивирования клеток определяли содержание  $\alpha$  и  $\gamma$  интерферона иммуноферментным методом с помощью набора реактивов ООО «Протеиновый контур (Спб, РФ) и указанного выше иммуноферментного анализатора. Материалы статистически обработаны с применением непараметрического критерия «U» (Е.В. Гублер, 1978).

**РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

При исследовании влияния препаратов на экспрессию клеток с антигеном CD 56 в культуре клеток небных и глоточной миндалин больных детей отмечено, что исходный уровень как клеток, полученных из небных миндалин (хронический тонзиллит) так и из глоточной гипертрофия) существенно не отличались между собой по исходному уровню содержания клеток с фенотипом CD 56. Фитопрепараты Имупрет и Синупрет в разведении «2» увеличивали (рис.1) число данной группы клеток, относящихся к естественным цитотоксическим клеткам (Л.В. Ковальчук, 2003), культивирование клеток с препаратом Эхинацеи не оказывало существенного влияния на уровень экспрессии изучаемого антигена, при этом уровень исходных показателей клеток небной и глоточной миндалин мало отличались между собой.

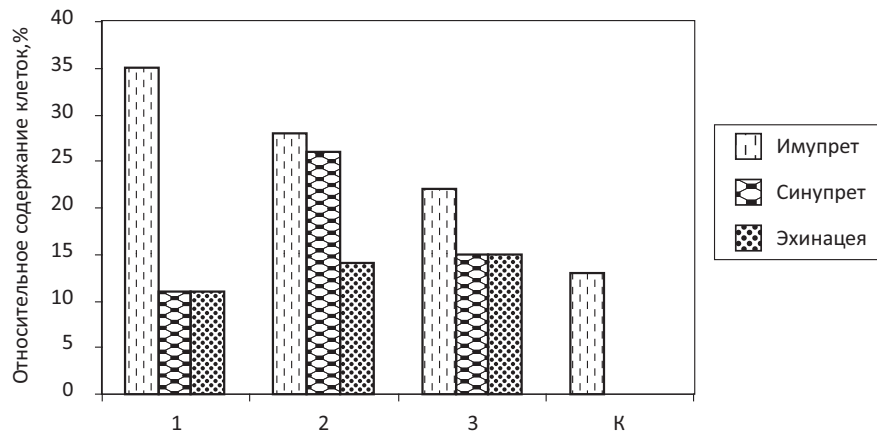


Рис. 1. Влияние фитопрепаратов на уровень экспрессии антигена CD 56 в культуре клеток небных миндалин.

Обозначения: 1,2,3 разведения фитопрепаратов; К – число клеток с CD56 без препарата. Достоверные различия : для Имупрета P1,2-K<0,05; для Синупрета – P2-K<0,05; для Эхинацеи –P1,2,3-K > 0,5.

При исследовании цитолитической активности клеток миндалин было установлено, что фитопрепараты при 18-часовой инкубации достоверно увеличивали деструктивную активность ЕЦК миндалин по сравнению с контролем, при этом при меньших концентрациях препарата в культуре отмечен более высокий деструктивный

эффект в отношении ядросодержащих клеток-мишеней (табл. 1), что может расцениваться как стимулирующее влияние на активность тканевых ЕЦК. Стимулирующее влияние препарата Эхинацеи имело отчетливый вектор изменений в сторону увеличения активности ЕЦК, однако эти изменения носили недостоверный характер.

Таблица 1

**Влияние различных концентраций препаратов на активность ЕЦК миндалин in vitro (% деструкции мишеней)**

| Группы              | Число проб | Разведения препаратов |                |               |
|---------------------|------------|-----------------------|----------------|---------------|
|                     |            | 1                     | 2              | 3             |
| Имупрет             | 12         | 33,6* ( 25-41)        | 15,8 (13-20)   | 14,2 ( 10-17) |
| Синупрет            | 12         | 15,5 (0-29)           | 24,5* ( 10-44) | 10,2 ( 0-24)  |
| Эхинацея композитум | 12         | 12,5 ( 4-16)          | 14,5 ( 10-20)  | 10,5 ( 8-14)  |
| Без препарата       | 12         | 8,5 (6 – 16)          |                |               |

Примечание: \* p<0,05 по отношению к группе «без препарата».

Определение уровня спонтанной продукции интерферонов в культуре клеток миндалин позволило выявить достоверное повышение уровня α-интерферона в культурах с Имуп-

ретом и Синупретом (таблица 2), а повышение уровня γ-интерферона наблюдалось при культивировании со всеми препаратами (таблица 3).

Таблица 2

**Влияние различных концентраций препаратов на спонтанную продукцию α-интерферона клетками миндалин in vitro (пг/мл)**

| Группы              | Число проб | Разведения препаратов |               |             |
|---------------------|------------|-----------------------|---------------|-------------|
|                     |            | 1                     | 2             | 3           |
| Имупрет             | 18         | 10,6 ( 5-16)          | 13,8* (13-20) | 6,6 (0-12)  |
| Синупрет            | 17         | 5,5 (1-8)             | 5,8 (2-12)    | 10,8*(6-20) |
| Эхинацея композитум | 18         | 7,2 ( 4-9)            | 8,5(4-12)     | 9,2(3-14)   |
| Без препарата       | 18         | 5,5 (1 – 9)           |               |             |

Примечание: \* p<0,05 по отношению к группе «без препарата».

**Влияние различных концентраций препаратов на спонтанную продукцию  $\gamma$ -интерферона клетками миндалин in vitro ( пг/мл)**

| Группы              | Число проб | Разведения препаратов |               |               |
|---------------------|------------|-----------------------|---------------|---------------|
|                     |            | 1                     | 2             | 3             |
| Имупрет             | 12         | 6,6 (3-9)             | 17,8* (13-22) | 7,9 (0-16)    |
| Синупрет            | 12         | 14,5 (4-22)           | 25,5* (10-40) | 20,2* (10-31) |
| Эхинацея композитум | 12         | 12,2(10-14)           | 16,5 (10-24)  | 18,5* (12-31) |
| Без препарата       | 12         | 9,5 (5 – 16)          |               |               |

Примечание: \*  $p < 0,05$  по отношению к группе «без препарата».

Кроме того в отношении продукции  $\gamma$ -интерферона было выявлено, что в культурах с низким исходным уровнем  $\gamma$ -интерферона практически всегда наблюдалась стимуляция

продукции этого цитокина, тогда как в культурах с высоким уровнем исходной спонтанной продукции стимуляции не наблюдалось (рис. 2).

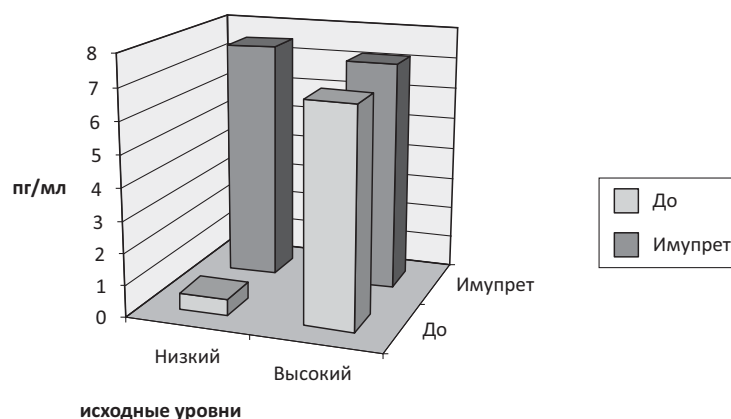


Рис.2. Влияние Имупрета на продукцию  $\gamma$ -интерферона клетками небных миндалин больных ХТ в зависимости от исходной продукции цитокина.

Полученные результаты позволяют говорить об активирующем влиянии фитопрепаратов на тканевые ЕЦК, функциональная активность которых в отношении многих типов клеток-мишеней при хроническом тонзиллите и аденоидите снижена (О.Ф. Мельников, 1981; Э.В. Потапов, 2004). При этом активирующим началом деструктивной активности ЕЦК могут быть интерфероны, как ранние, так и поздние (Ф.И. Ершов и соавт., 2004). Проведенные исследования свидетельствуют о широком спектре активирующих влияний Имупрета и Синупрета на механизмы противовирусного иммунитета, прежде всего за счет усиления продукции интерферонов и стимуляции деструктивной активности ЕЦК.

### ВЫВОДЫ

1. В культурах in vitro с клетками миндалин и периферической крови больных хроническим тонзиллитом показано, что контакт последних с препаратами Имупрет и Синупрет приводит к повышению числа клеток с экспрессией антигена CD56.

2. Синупрет и Имупрет оказывают стимулирующее влияние на активность тканевых естественных цитолитических клеток в условиях эксперимента in vitro.
3. Спонтанная продукция  $\alpha$ -интерферона клетками миндалин in vitro стимулируется препаратами Имупрет и Синупрет, а  $\gamma$ -интерферона всеми исследованными препаратами – Имупретом, Синупретом и Эхинацеей композитум.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Гублер Е.В. Математические методы анализа и распознавания патологических процессов – Л.: Медицина. – 1978. – 294 с.
2. Дранник Г.Н., Гриневич Ю.А., Дизик Г.М. Иммунотропные препараты. – Киев.: Здоров'я. – 1994. – 285 с.
3. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология. – Киев: Полиграф Плюс. – 2006. – 510 с.

4. Ершов Ф.И., Норовлянский А.Н., Мезенцева М.В. Ранние цитокиновые реакции при вирусных инфекциях // Цитокины и воспаление. – 2004. – №.1. – т.3. – С.3-6.
5. Кривицкая В.З., Сомнина А.А., Сухолвецкая В.Ф. Иммунопатологический аллергический Th-2 тип противовирусного гуморального иммунитета у детей с респираторно-синцитиальной вирусной инфекцией // Цитокины и воспаление. – 2004. – т.3. – № 3. – С. 34-37.
6. Ковальчук Л.В. Антигенные маркеры иммунной системы человека, CD'система. – М.: 2003. – 75 с.
7. Мельников О.Ф. Иммунологические аспекты генеза хронического тонзиллита и регуляции функциональной активности небных миндалин // Дисс. докт.мед. наук.: 14.00.16. – Киев. Институт физиологии АН УССР. – 1981. – 294 с.
8. Мельников О.Ф., Заяц Т.А. Сравнительная оценка радиоизотопного и спектрофотометрического методов регистрации цитолиза // Лаб. диагностика. – 1999. – № 2. – С. 32-34.
9. Мельников О.Ф., Заболотный Д.И., Дидиченко Ю.А. Иммуномодулирующие свойства фитопрепарата Тонзилгон Н// Імунологія та алергологія. – 2006. – № 3. – С. 37-39.
10. Новиков Д.К., Новиков П.Д. Метод определения Т и В лимфоцитов диагностиками на основе моноклональных антител // Иммунология. – 2000. – № 2. – С.31-33.
11. Сахарчук И.И. Вирусные заболевания. – Киев.: Книга-Плюс. – 2007. – 231 с.
12. Симбирцев А.С. Цитокины: классификация и биологические функции // Цитокины и воспаление. – 2004. – т.3. – № 2. – С. 16-22.
13. Потапов Е. В. Клініко- експериментальне обґрунтування локального застосування тіотріазоліну у лікуванні дітей, хворих на хронічний аденоїди: Автореф. дис. канд. мед. наук/ 14.01.19. – Інститут отоларингології АМН України. – Київ. – 2003. – 29 с.
14. Leneva I., Hay A. The mechanism of action arbidol against influenza virus// 12th теуктюЩтпккуыы ща Virology. – 2002. – Paris. – Abstr.1077.

## РЕЗЮМЕ

### ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ФИТОПРЕПАРАТОВ НА МЕХАНИЗМЫ АНТИВИРУСНОЙ ЗАЩИТЫ

Мельников О.Ф., Бредун А.Ю., Рыльская О.Г., Пелешенко Н.А., Шматко В.И.

Исследовано in vitro влияние препаратов Синупрет, Имупрет и Эхинацея композитум на экспрессию на клетках миндалин антигена CD56 и активность ЕЦК, а также спонтанную продукцию ими интерферонов.

При культивировании in vitro клеток миндалин с раствором препаратов Имупрет и Синупрет в различных концентрациях выявлялся стимулирующий эффект в отношении функциональной активности тканевых ЕЦК. Все исследованные препараты оказывали стимулирующее влияние на выработку  $\alpha$  и  $\gamma$ -интерферонов в культуре in vitro.

## СОСТОЯНИЕ КЛЕТОЧНОГО И ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ НЕАЛКОГОЛЬНЫМ СТЕАТОГЕПАТИТОМ, ПРОТЕКАЮЩИМ НА ФОНЕ АЛЛЕРГОДЕРМАТОЗОВ

КУЗНЕЦОВА Л.В., ЕЛИЗАРОВА Т.А.

Национальная медицинская академия последипломного образования имени П.Л.Шупика

По данным ВОЗ рост хронических заболеваний печени как на Украине, так и в других странах СНГ и во всем мире, вызывает большое беспокойство не только в медицинском окружении, но и среди общества в целом, ибо имеет огромное социальное значение, так как увеличивается инвалидизация и смертность населения. За результатами клиничко - епидемиологических исследований неалкогольный стеатогепатит (НАСГ) занимает лидирующее место. В 60% случаев НАСГ протекает на фоне самых разнообразных сопутствующих заболеваний, среди них 25% алергопатологии и лидирующее место за-

нимает атопический дерматит и крапивница - по разнообразным данным эта цифра колеблется от 17 до 30% случаев. Алергическая патология является одной из самых актуальных проблем современной медицины. В создавшейся ситуации для врачей и пациентов весьма важной является проблема изучения показателей клеточного и гуморального иммунитета НАСГ с целью выбора наиболее эффективных и в то же время безопасных методов лечения [1, 2, 10, 12].

Задачей настоящего исследования явилось изучение состояния клеточного и гуморального иммунитета больных НАСГ на фоне атопическо-