

АНТИТОКСИЧНА ДІЯ ІМУНОФЛАЗИДУ ПРИ ГРИПІ

Л.М. Сокуренько

ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб
ім. Л.В. Громашевського АМН України» (Київ)

Національний медичний університет ім.О.О. Богомольця

Вступ

Проблемою охорони здоров'я та всього суспільства є ГРВІ та грип зокрема [1, 2]. Основними симптомами при грипі, окрім катаральних явищ, є симптоми токсичного ураження, як лихоманка тощо [3]. Саме це, а також високі показники захворюваності на цю патологію та час втрати працездатності змушують постійно шукати нові шляхи запобігання або зменшення токсичного впливу на внутрішні органи, і перш за все на печінку та нирки. Токсичні симптоми часто розвиваються на ранній стадії. Вірусні антигени і ранні антитіла до них (IgM) звичайно з'являються в кровоплинні та тканинах ще до того, як розвинуться симптоми. Утворення імунних комплексів і активація комплементу можуть послужити поштовхом для ряду фізіологічних ефектів, що ведуть до розвитку токсичних симптомів [4].

Цим загальним механізмом можна пояснити схожість багатьох симптомів при захворюваннях, що характеризуються вельми різним розподілом вірусу в організмі, наприклад при віспі і важкому грипі.

Серед широкого арсеналу лікарських засобів для лікування та профілактики ГРВІ та грипу зокрема, найчастіше перевага надається засобам природного походження, одним з таких препаратів є «Імунофлазид», який поряд із противірусною дією має виражену антиоксидантну та імуномодулюючу активність [5, 6, 7]. Специфічність його дії зумовлена широким спектром флавоноїдів, що відрізняються ступенем глюкозування та наявністю різних радикалів в ароматичній частині, має Р-вітамінну активність, зумовлює ангіопротекторні, протигіпоксичні ефекти, справляє вплив на дозрівання колагенових волокон, а також має детоксикаційну дію.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота проводилась в рамках планової експериментальної тема-

тики: «Молекулярні основи конструювання профілактики та лікування антивірусних препаратів» (№ держреєстрації 0111UA002013).

Метою даного дослідження було виявлення морфологічних змін органів детоксикації при дії препарату "Імунофлазид" при інфікуванні вірусом грипу.

Матеріали і методи дослідження

Для визначення антигрипозної активності препарату "Імунофлазид" *in vivo* використовували модель грипозної пневмонії у мишей.

Для цієї мети був використаний штаб вірусу грипу A/FM/1/47 (H1N1), адаптований до легенів білих мишей, інфекційний титр – 4,0-5,5 lg LD₅₀ 100 % летальність мишей спостерігалася впродовж 5 діб.

Дослідження по визначенню антигрипозної активності *in vivo* проводили за профілактичною та лікувальною схемами, Нейнбретним мишам *per os* вводили 0,2 мл розчину препарату "Імунофлазид" за 24 години до інтраназального зараження вірусом грипу, адаптованого до легеневої тканини мишей, у дозі 10 LD₅₀ (профілактична схема) і через 24 години після зараження вірусом грипу (лікувальна схема). В дослідженні використовували розведення 1:10; 1:50; 1:100; 1:200; 1:500 імунофлазиду.

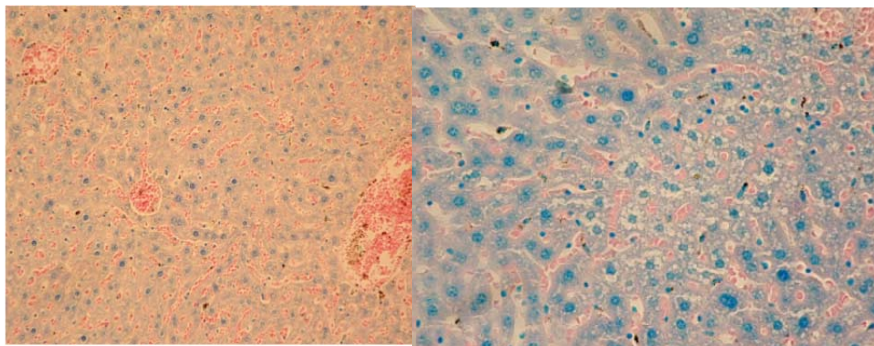
У ході експериментального дослідження тварин утримували в стандартних умовах виварію (температура повітря складала – 17-22°C; відносна вологість не перевищувала рівень 50-60%, норма штучного освітлення підтримувалася на рівні 60 лк).

Матеріалами досліджень слугували гістологічні зрізи фіксованих препаратів нирок та печінки. Препарати фіксували в розчині 12% формаліну на фосфатному буфері (pH=7,0-7,2). Зневоднення проводили за традиційною схемою використання батареї спиртів зростаючої концентрації від 30° до абсолютного. Парафіново-целюїдинові блоки різали, за допомогою мікротома. Забарвлювали зрізи залежно від потреб дослідження (гематоксиліном і еозином, азур II-еозином). Аналіз структурно-функціональних порушень проводили за допомогою аналізатора зображень: мікроскопа Olympus BX51 з цифровою камерою C-4040zoom та персонального комп'ютера.

Отримані результати та їх обговорення

Морфологічні зміни в печінці і нирках при дослідженні групи мишей, заражених вірусом грипу супроводжувалися судинними порушеннями у вигляді набряку, повнокрів'я і розширення капілярів і венул, іноді геморагії.

В центральних венах часточок печінки виявлено помірно виражене повнокрів'я з переходом останнього на синусоїдні капіляри і легким розширенням останніх. У прилеглих до центральних відділах гепатоцитів ядра округлої форми, містили еухроматин. Виявлено балонну дистрофію і зростання кількості багатоядерних клітин печінки, скупчення глікогену і глікогенову вакуолізацію ядер гепатоцитів (рис. 1Б).



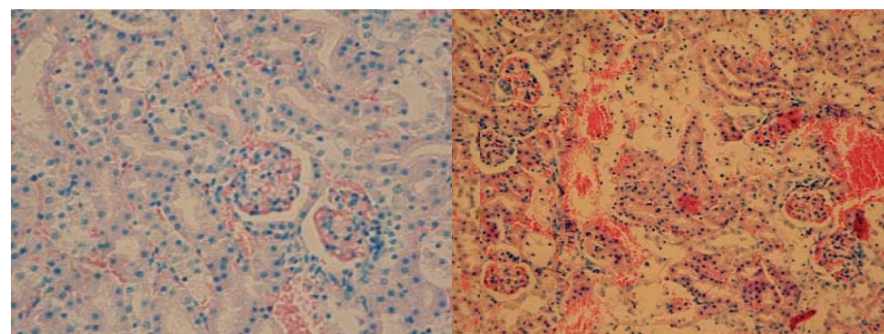
А. Гепатоцити з просвітленими ядрами і цитоплазмою

Б. Гепатоцити з дистрофічними змінами.

Рис. 1. Печінка мишей при грипі за умов дії імунофлазиду (А) та без нього (Б). Мікрофотографія. Забарвлення Азур II-еозином. Об. 40. Ок.20.

У печінці в літературі описано виражену дистрофію гепатоцитів, ацидофільну дегенерацію їх, загибель окремих клітин, набухання і десквамацію ендотелію капілярів, проліферацію зірчастих ендотеліоцитів, помірну внутрі- і міжчасточкову інфільтрацію лімфоцитами та гістіоцитами [8]. Спостерігаються помірні дистрофічні зміни гепатоцитів, розширення синусоїдів, просторів Діссе.

При морфологічному дослідженні за вірусу грипу у нирках дистрофічні і деструктивні зміни канальцевих і клубочкових структур виявлялися на тлі вираженого інтерстиційного набряку, застійних судинних проявів (рис. 2Б). У нирках за даними літератури постійно виявлялися цитоплазматичні фуксинофільні включення в нефротелії. Найбільш виражені зміни виявлено в звивистих, прямих канальцях і петлях нефрону. Вони полягали в дистрофічних змінах цитоплазми і лізисі ядер. У просвіті канальців накопичувалися десквамовані клітини, еритроцити, білковий преципітат. У клубочках виявлялися виражені циркуляторні розлади, в капсулі ниркового клубочка – одиничні еритроцити, білкові маси [9].



А. Відновлення кровонаповнення судин гемомікроциркуляторного русла. Б. Повнокрів'я, дистрофічні зміни клітин епітелію звивистих канальців.

Рис. 2. Нирка мишей при грипі за умов дії імунофлазиду (А) та без нього (Б). Мікрофотографія. Забарвлення Азур II-еозином. (Об. 40. та Об. 20. Ок.20.).

Аналіз препаратів дозволив визначити різний ступінь змін, виявлених в печінці залежно від доз препарату "Імунофлазид" при лікувальній і профілактичній його дії.

Зміни в печінці після профілактичного застосування імунофлазида при розведенні 1:100, 1:200 були незначними (вогнища вакуолізованих клітин). Із зменшенням дози 1:500, 1:1000 вогнища дистрофії ставали поширенішими і збільшувалися в розмірах. При дозах 1:50, 1:1000 в печінці мишей, разом з ділянками вакуольної дистрофії по периферії часточок, спостерігали ділянки некрозів.

Терапевтичне застосування імунофлазида впливає на нормалізацію кровонаповнення гемомікроциркуляторного русла з переходом останнього на синусоїдні капіляри і легким розширенням останніх. У прилеглих до центральних відділів гепатоцитах ядра округлої форми, містили еухроматин. Виявлено балонну дистрофію і збільшення кількості багатоядерних клітин печінки, скупчення глікогену і глікогенову вакуолізацію ядер гепатоцитів (рис.1А).

Лікування грипу препаратом "Імунофлазид" знижує виразність змін у канальцях і петлях нефрону, і зменшує дистрофічні зміни цитоплазми і лізис ядер, отже більшість клітин зберігає нормальну будову. У просвіті канальців спостерігаються зрідка десквамовані клітини, еритроцити. У клубочках зникають циркуляторні розлади, капсули ниркового клубочка вільні. Набряк інтерстицію та порушення кровонаповнення судин гемомікроциркуляторного русла суттєво зменшуються.

За профілактичної дії імунофлазиду та грипі при морфологічному дослідженні у нирках відбувається нормалізація кровонаповнення гемомікроциркуляторного русла. Ступень зменшення дистрофічних і деструктивних змін каналців і клубочків, як і при лікувальній дії імунофлазиду залежить від концентрації: при розведенні 1:100, 1:200 були незначними. За доз 1:50, 1:100, 1:500, 1:1000 деструктивні зміни епітелію нирок більш розповсюджено (рис.2А).

Висновки

1. За профілактичного введення імунофлазиду токсичний ефект грипу практично не розвивався, а за лікувального знижувався.
2. Імунофлазид має ангіопротекторні та гепатопротекторні властивості, а також позитивно впливає на стан епітелію нирок.
3. В подальших дослідженнях буде проведено аналіз морфологічних змін органів мишей при експериментальному грипі під впливом інших лікарських засобів.

Література

1. Ершов Ф.И. Грипп и другие ОРВИ / Ф.И. Ершов // Антивирусные препараты. Справочник / Ф.И. Ершов. – М., 2006. – С. 226-247.
2. Грипп и другие респираторные вирусные инфекции / под ред. О.И. Киселева, И.Г. Мариничева, А.А. Сомининой. – СПб., 2003. – 245 с.
3. Киселев О.И. Геном пандемического вируса гриппа А/Н1N 2009 / О.И. Киселев. – СПб; М.: Дмитрейд График Групп, 2011. – 164 с.
4. Иммунный ответ при вирусных инфекциях / Т.В. Сологуб, М.Ю. Ледванов, В.П. Малый [та ін.] // Успехи современного естествознания. – 2009. – № 12 – С. 29-33.
5. Романцов М.Г. Противовирусные препараты для лечения ОРВИ и гриппа у детей (клинический обзор) / М.Г. Романцов, Ф.И. Ершов, А.Л. Коваленко // Фундаментальные исследования. – 2010. – № 9 – С. 76-87.
6. McCullers J.A. The clinical need for new antiviral drugs directed against influenza virus / J.A. McCullers // Journal of Infectious Diseases. – 2006. – Vol. 193 (6). – P.751-753.
7. Computational 3D structures of drug-targeting proteins in the 2009-H1N1 influenza A virus / Q.S. Du, S.Q. Wang, R.B. Huang, K.C. Chou // Chem. Phys. Lett. – 2010. – Vol.485. – P. 191-195.
8. Войно-Ясенецкий М.В. Биология и патология инфекционных процессов / М.В. Войно-Ясенецкий. – Л.: Медицина, 1981. – 208 с.
9. Валькович Т.И. Морфологические изменения почек у детей при респираторных вирусных и микоплазменной инфекциях: автореф дис. ... док. мед. наук: спец 14.00.05 «Внутренние болезни» / Т.И. Валькович. – Л., 1978. – 28 с.

Резюме

Сокуренько Л.М. Антитоксична дія імунофлазиду при грипі.

В роботі ході експериментального дослідження на мишах, яким моделювали зараження вірусом грипу вивчено морфологічні особливості змін печінки та нирок при профілактичної та лікувальної дії імунофлазиду. Виявлено ангіопротекторні та гепатопротекторні імунофлазиду, який також позитивний вплив на стан епітелію нирок. Найбільший ефект досліджуваного препарату відмічено в дозі 1:50;1:100.

Ключові слова: грип, печінка, нирки, імунофлазид.

Резюме

Сокуренько Л.М. Антитоксическое действие иммунофлазида при гриппе.

В работе при экспериментальном исследовании на мышьях, которым моделировали заражение вирусом гриппа, изучены морфологические особенности изменений в печени и почках при профилактическом и лечебном действиях иммунофлазида. Выявлено ангиопротекторные и гепатопротекторные иммунофлазида, а также положительное влияние на эпителий почек. Наибольший эффект исследуемого препарата отмечен в дозе 1:50; 1:100.

Ключевые слова: грипп, печень, почки, иммунофлазид.

Summary

Sokurenko L.M. Morphological aspects of antiviral efficiency of imunoflazidum.

In article there are experimental research on mowse, the infection of influenza was designed that a virus studied the morphological features of changes on rens and hepar specimens are studied at prophylactic and treatment imunoflazidum action. The protective action on vessels, rens and hepar of imunoflazidum are induced. The most effect of the investigated preparation is marked in a dose 1: 50; 1: 100.

Key words: influenza, rens, hepar, imunoflazidum.

Рецензент: д.мед.н., проф. В.О. Терьошин