

*О.Ф. МЕЛЬНИКОВ, М.Д. ТИМЧЕНКО, Л.Д. КРИВОХАТСКАЯ,  
Э.А. МУРЗИНА*

## **ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ПРЕПАРАТА «СЕПТОЛЕТЕ ПЛЮС» НА ФАКТОРЫ ПРОТИВОВИРУСНОГО ИММУНИТЕТА IN VITRO**

*ГУ «Институт отоларингологии им. проф. А.И. Коломийченко АМН Украины»  
(дир. – чл.-кор. АМНУ Д.И. Заболотный)*

В настоящее время в связи с повышением уровня заболеваемости инфекциями, обусловленными вирусами, и особенно гриппом, наблюдается увеличение числа исследований, направленных на изучение антивирусных свойств у фармпрепаратов, которые используются как противовоспалительные средств [3, 11]. Одним из эффективных препаратов местного применения с антибактериальным характером действия, который широко используется в оториноларингологии, является «Септолете плюс», состоящий из цетилпиридиния хлорида (антибактериальный компонент) и анестетика (бензокаин). Ранее на основании данных определения иммуноглобулинов, лактоферрина и цитокинов в ротоглоточном секрете больных острым фарингитом было показано, что «Септолете плюс» не обладает депрессорным действием на состояние местного иммунитета [6]. Известно, что одним из основных антивирусных механизмов является продукция ранних интерферонов –  $\alpha$  и  $\beta$  и более позднего  $\gamma$ -интерферона [4]. Эти интерфероны на первых этапах вирусного заражения могут блокировать вирусную информационную РНК в инфицированной клетке и препятствовать репродукции вирусов. Далее интерфероны способны активировать естественные цитотоксические клетки (ЕЦК) и цитотоксические Т-лимфоциты [5]. По мнению авторов, механизм антивирусной защиты складывается, по крайней мере, из таких последовательных механизмов:

- внутриклеточной ингибиции ранними интерферонами репродукции вирусов;

- удаления с помощью ЕЦК и Т-лимфоцитов инфицированных клеток;

- приобретения здоровыми клетками, которые находятся возле очага заражения, резистентности к инфицированию за счет ранних интерферонов;

- привлечение в очаг заражения макрофагов и лейкоцитов и активации их функциональной активности.

С учетом изложенного, в условиях *in vitro* может быть исследована способность препарата усиливать образование интерферонов, а также опосредованно влиять на активность ЕЦК. В настоящем сообщении представлены данные об изучении *in vitro* антивирусных свойств препарата, апробированных по способности усиливать продукцию интерферонов и деструктивные свойства тканевых и кровяных ЕЦК.

### ***Материал и методы***

Исследования *in vitro* проведены на клетках небных миндалин и периферической крови у 12 больных хроническим тонзиллитом в возрасте от 7 до 19 лет, которым по показаниям была проведена тонзиллэктомия. Получение клеточного материала из ткани миндалин и крови осуществлялось в соответствии с рекомендациями О.Ф. Мельникова [9] и И.П. Кайдашева [7]. Культивирование клеток проводилось в питательной среде RPMI-1640 с добавками (L-глутамин, 5% эмбриональная телячья сыворотка, гентамицин – 40 мкг/мл) в течение 18 ч для определения уровня цитолиза и 24 ч для определения интерферонопродукции с различными концентрациями препарата: 1 и

2. Контролем служили образцы культивируемых клеток крови и миндалин без препарата, в которых изучался исходный уровень активности и через 24 ч культивирования. Разведение препарата «Септолете плюс» «1» соответствовало добавлению к клеткам 0,1 мл вводно-солевого экстракта, содержащего 1 измельченную таблетку препарата в 5 мл раствора Хэнкса и стерилизованного пропусканием через фильтр типа Millipore. Разведение «2» соответствовало 0,01 мл исходной концентрации. После 18-часового культивирования в опытных и контрольных образцах определялась цитолитическая активность клеток в отношении эритроцитов цыплят по спектрофотометрическому методу (анализатор Stat-fax 2100, США), описанному О.Ф. Мельниковым, Т.А. Заяц [10]. В надосадочной жидкости после суточного культивирования клеток определялось содержание  $\alpha$ - и  $\gamma$ -интерферонов иммуноферментным методом с помощью набора реактивов ООО «Протеиновый контур» (Спб, РФ) и иммуноферментного анализатора Stat-Fax-2100 (США). Кроме того, для проверки предположения о возможной способности препарата потенцировать интерферо-

нообразование в отдельные пробы с указанными его концентрациями добавлялся индуктор интерферогенеза – ридостин по 0,1 мл. Все пробы выполнялись в дублирующем исполнении. Материалы статистически обработаны с применением метода углового преобразования ( $\phi$ ) по Фишеру [1].

### **Результаты и их обсуждение**

Было установлено, что препарат «Септолете плюс» достоверно усиливал образование ранних ( $\alpha$ ) интерферонов в культуре как клеток миндалин, так и клеток крови и обладал потенцирующим действием при добавлении ридостина (табл. 1). На продукцию позднего, иммунного интерферона ( $\gamma$ ) как клетками небных миндалин, так и клетками крови препарат влияния не оказывал (рисунок). Это обстоятельство определяет исключительную целесообразность применения «Септолете плюс» на ранних этапах инфекционного вирусного процесса, т.к. при его рассасывании в ротовой полости препарат контактирует с поверхностью небных миндалин или диффузными лимфоидными фолликулами и может активировать в них продукцию  $\alpha$ -интерферона.

Таблица 1

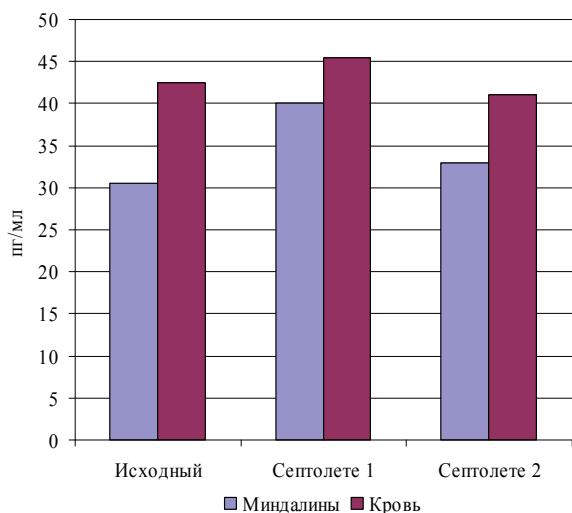
Продукция  $\alpha$ -интерферона клетками небных миндалин и крови *in vitro* под действием «Септолете плюс»

Группы	Концентрация $\alpha$ -интерферона, пг/мл ( $M \pm m$ )	
	клетки небных миндалин	клетки периферической крови
Исходный уровень	8,4 $\pm$ 0,9	8,2 $\pm$ 1,5
Септолете плюс	15,3 $\pm$ 1,8* (<0,01)	17,0 $\pm$ 2,9* (<0,05)
Септолете плюс + ридостин	22,1 $\pm$ 3,3 (<0,07)	25,0 $\pm$ 4,3 (>0,05) в сравнении с препаратом

Таблица 2

Цитолитическая активность клеток небных миндалин и крови у больных хроническим тонзиллитом при культивировании с различными концентрациями препарата «Септолете плюс»

Группы	Активность деструкции мишеней - % эритроцитолита ( $M \pm m$ )	
	клетки небных миндалин	клетки периферической крови
Исходная взвесь клеток	20,1 $\pm$ 6,0	28,6 $\pm$ 10,1
+ Септолете-1	24,7 $\pm$ 4,5	34,6 $\pm$ 10,3
+ Септолете-2	26,0 $\pm$ 7,3	36,0 $\pm$ 11,3



Влияние препарата «Септолете плюс» в различных концентрациях на продукцию  $\gamma$ -интерферона клетками нёбных миндалин и периферической крови *in vitro*.

Что касается влияния препарата на цитолитическую активность клеток крови и нёбных миндалин, то достоверного усиления этой активности выявлено не было (табл. 2), хотя вектор отклонений при добавлении различных концентраций препарата был одинаковым – в сторону усиления деструктивной способности клеток (от 30 до 89% от исходной величины) в присутствии «Септолете плюс» в 9 из 12 наблюдений.

Известно, что активация функции естественных цитолитических клеток (ЕЦК)

связана с влиянием системы интерферона, а также других цитокинов [13] и до известной степени определяет противовирусный потенциал препарата [2, 5, 8]. Исходя из того, что препарат способен активировать синтез ранних интерферонов, играющих важную роль на начальных этапах инфекционного процесса [12], можно считать целесообразным применение препарата «Септолете плюс» в начальных стадиях вирусной инфекции.

### Выводы

1. Раствор препарата «Септолете плюс» в условиях культивирования с клетками нёбных миндалин или периферической крови активирует синтез  $\alpha$ -интерферона.

2. Препарат «Септолете плюс» способен усиливать действие индуктора  $\alpha$ -интерферона – ридостина в условиях *in vitro*.

3. Не выявлено существенных изменений в продукции позднего интерферона ( $\gamma$ ) в культуре клеток крови и миндалин под действием препарата «Септолете плюс».

4. Препарат Септолете плюс не угнетал активности естественных цитотоксических клеток крови и миндалин *in vitro* и имел вектор изменений в сторону стимуляции деструктивной активности мононуклеаров.

5. Препарат «Септолете плюс» может применяться при массовых вирусных заболеваниях верхних дыхательных путей.

1. Гублер Е.В. Математические методы анализа и распознавания патологических процессов. – Л.: Медицина, 1978. – 294 с.
2. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология. – Киев: Полиграф-Плюс, 2006. – 481 с.
3. Еропкин М.Ю., Коновалов Н.И., Григорьева В.А., Байбус Д.М., Гудкова Т.М. Действие препарата «Инфлюцид» *in vitro* против пандемического штамма 2009 г. А (H1N1) «Свиного» («мексиканского») гриппа // Традиционная медицина. – 2009. – №3(18). – С. 8-12.

4. Ершов Ф.И. Система интерферонов в норме и патологии. – М.: Медицина, 1996. – 240 с.
5. 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.
6. Заболотный Д.И., Пшеничкина В.Д., Вольская О.Г., Мельников О.Ф. Клинико-иммунологическая характеристика больных хроническим фарингитом в стадии обострения при лечении препаратом «Септолете плюс» // Журн. вушних, носових і горлових хвороб. - 2007. - №6. - С. 2-8.

7. Кайдашев І.П. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині. – Полтава: Полімет, 2003. – 319 с.
8. Кривицкая В.З., Сомнина А.А., Сухолвецкая В.Ф. Иммунопатологический аллергический Th-2 тип противовирусного гуморального иммунитета у детей с респираторно-синцициальной вирусной инфекцией // Цитокины и воспаление. – 2004. – Т.3, №3. – С. 34-37.
9. Мельников О.Ф. Иммунологические аспекты генеза хронического тонзиллита и регуляции функциональной активности небных миндалин // Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Киев: Институт физиологии АН УССР, 1981. – 294 с.
10. Мельников О.Ф., Заяц Т.А. Сравнительная оценка радиоизотопного и спектрофотометрического методов регистрации цитолиза // Лаб. диагностика. – 1999. – № 2. – С. 32-34.
11. Мельников О.Ф., Тимченко С.В., Фараон И.В., Бредун А.Ю. Исследование противовоспалительных свойств тонзилотрена в эксперименте // Журн. вушних, носових і горлових хвороб. – 2008. – № 6. – С. 37-40.
12. Никулин Б.А. Оценка и коррекция иммунного статуса. – 2008. – М.: ГЭОТА. – 375 с.
13. Симбирцев А.С. Цитокины: классификация и биологические функции // Цитокины и воспаление. – 2004. – Т.3, № 2. – С. 16-22.

Поступила в редакцию 17.02.2010.

© О.Ф. Мельников, М.Д. Тимченко, Л.Д. Кривохатская, Э.А. Мурзина, 2010

**ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ  
ВПЛИВУ ПРЕПАРАТА «СЕПТОЛЕТЕ  
ПЛЮС» НА ФАКТОРИ ПРОТИВІРУСНОГО  
ІМУНІТЕТУ**

*Мельников О.Ф., Тимченко М.Д.,  
Кривохатська Л.Д., Мурзіна Е.А. (Київ)*

*Резюме*

В умовах експерименту *in vitro* досліджувався вплив препарату «Септолете плюс» на продукцію  $\alpha$  та  $\gamma$ -інтерферона клітинами піднебінних мигдаликів і мононуклеарів периферичної крові у хворих на хронічний тонзиліт в присутності індуктора інтерферону та без нього, а також на цитолітичну активність по відношенню до ксеногенних еритроцитів. Виявлено, що препарат «Септолете плюс» активує продукцію раннього інтерферона і виступає в ролі кофактора при використанні індуктора інтерферогенезу – рідостина. Препарат помірно стимулює цитолітичну активність природних цитотоксичних клітин мигдаликів та периферичної крові.

**EXPERIMENTAL INVESTIGATION OF  
“SEPTOLETE PLUS” INFLUENCE ON THE  
FACTORS OF ANTIVIRAL IMMUNITY**

*Melnikov O.F., Timchenko M.D., Crivochatska L.D.,  
Murzina E.A. (Kiev)*

*Summary*

The influence of a preparation “Septolete Plus” on production of interferon by cells of palatine tonsils and mononuclears of peripheral blood in the patients with chronic tonsillitis at presence of interferon inducator and without it, and also on cytologic activity in relation to xenogenic erythrocytes were investigated in experiment. It is revealed that the preparation “Septolete Plus” activate production of early interferon and acts in a cofactor role at use of inducator of interferon genesis – ridostin. The preparation “Septolete Plus” moderately stimulates cytologic activity of natural cytotoxic tonsil cells and peripheral blood.