

О.Ф. МЕЛЬНИКОВ

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ИНФЛЮЦИДА НА МЕХАНИЗМЫ АНТИВИРУСНОГО ИММУНИТЕТА IN VITRO

*ГУ «Институт отоларингологии им. проф. А.И. Коломийченко НАМН Украины»
(дир. – академик НАМН Украины, проф. Д.И. Заболотный)*

В последние годы эффективность использования многих аллопатических и гомеопатических препаратов при заболеваниях инфекционно-воспалительного характера связывается с их влиянием на факторы иммунитета [2, 10]. В условиях эксперимента нами было показано, что клиническую эффективность гомеопатического препарата «Тонзиллотрен» (фирма DHU, Германия) при заболеваниях верхних дыхательных путей можно объяснить его воздействием преимущественно на реакции клеточного типа как врожденные, так и приобретенные. Наряду с этим, о действии другого средства компании DHU – «Инфлюцида» на механизмы антиинфекционного иммунитета известно недостаточно. Установлено, что активация функции естественных цитолитических клеток (ЕЦК) в значительной степени связана с действием системы интерферона и других цитокинов [11], что определяет назначение препаратов с подобным свойством при вирусных инфекциях. Как активность естественных цитотоксических клеток, так и активность специфических цитотоксических Т-лимфоцитов в значительной степени зависит от состояния системы интерферонов и противовирусной резистентности [2, 3, 6]. В связи с этим представлялось целесообразным исследовать влияние препарата «Инфлюцид» на цитолитическую активность клеток небных миндалин у больных хроническим тонзиллитом и возможность продукции ими различных видов интерферона, что может способствовать углублению представлений о механизмах действия препарата, расширению возможностей его применения на различных этапах вирусной инфекции.

Материал и методы

Исследования *in vitro* проведены на клетках небных миндалин и периферической крови у 12 лиц в возрасте от 7 до 19 лет, больных хроническим тонзиллитом, у которых по показаниям была выполнена тонзиллэктомия. Получение клеточного материала из ткани миндалин и крови осуществлялось в соответствии с рекомендациями О.Ф. Мельникова [5] и И.П. Кайдашева [8]. Клетки культивировались в питательной среде RPMI-1640 с добавками (L-глутамин, эмбриональная телячья сыворотка 5%, гентамицин 40 мкг/мл) в течение 24 ч при различных концентрациях препарата: 1, 2, 3. Контролем служили образцы культивируемых клеток крови и миндалин без препарата, где определялся исходный уровень активности и через 24 ч культивирования. Разведение препарата «Инфлюцид» «1» соответствовало добавлению к клеткам 0,1 мл водно-солевого экстракта, содержащего 2 измельченных таблетки препарата в 5 мл раствора Хэнкса и стерилизованного пропусканием через фильтр типа Millipore. Разведение «2» соответствовало 0,2 мл, а «3» – 0,3 мл указанного раствора. Через сутки в опытных и контрольных образцах исследовалась цитолитическая активность клеток в отношении эритроцитов цыплят по спектрофотометрическому методу (анализатор Stat-fax 2100, США), описанному О.Ф. Мельниковым, Т.А. Заяц (1999). В надосадочной жидкости после суточного культивирования клеток определялось содержание α и γ -интерферона иммуноферментным методом с помощью набора реактивов ООО «Протеиновый контур» (Спб, РФ) и иммуно-

ферментного анализатора Stat-Fax-2100 (США).

Материалы статистически обработаны с применением метода углового преобразования (φ) по Фишеру [1].

Результаты исследований

При исследовании цитолитической активности клеток миндалин было установлено, что препарат при 24-часовой инкубации достоверно увеличивал их деструктив-

ную активность по сравнению с контролем, при этом меньшие концентрации препарата в культуре вызвали более высокий деструктивный эффект (табл.), что может расцениваться как стимулирующее влияние инфлюцида на активность естественных цитотоксических клеток. Подобная закономерность выявлена и при изучении действия препарата на цитолитическую активность клеток периферической крови (рис. 1).

Влияние инфлюцида на активность тканевых ЕЦК миндалин in vitro (% деструкции клеток-мишеней)

Контроль (n =12) (7,5±1,3 – исходный показатель)	Активность тканевых ЕЦК миндалин (M±m)		
	разведения препарата «Инфлюцид»		
	1	2	3
	33,6±6,2* %	15,8±2,1* %	14,0±2,5* %

* - достоверно по отношению к исходному уровню (p < 0,05).

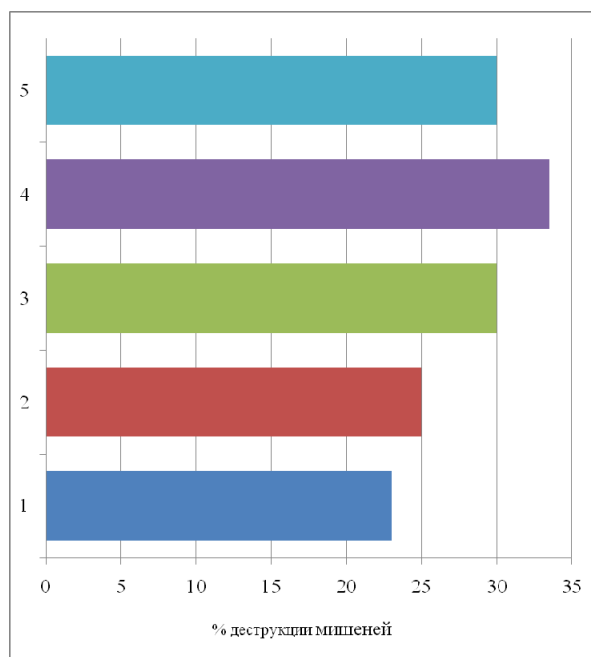


Рис. 1. Влияние инфлюцида на активность естественных цитотоксических клеток крови у больных хроническим тонзиллитом.

Обозначения: 1 – исходная активность до инкубации (контроль 1); 2 – цитолитическая активность после 24-часовой инкубации без препарата (контроль 2); 3 – препарат в первом разведении, 4 – во втором (p < 0,05 по сравнению с контролем 1), 5 – в третьем разведении (p < 0,05 по сравнению с контролем 1).

Определение уровня интерферонов в надосадочной жидкости позволило выявить достоверное повышение содержания α-интерферона в культурах с высокими концентрациями препарата, а повышение уровня γ-интерферона наблюдалось при всех применяемых разведениях инфлюцида (рис. 2).

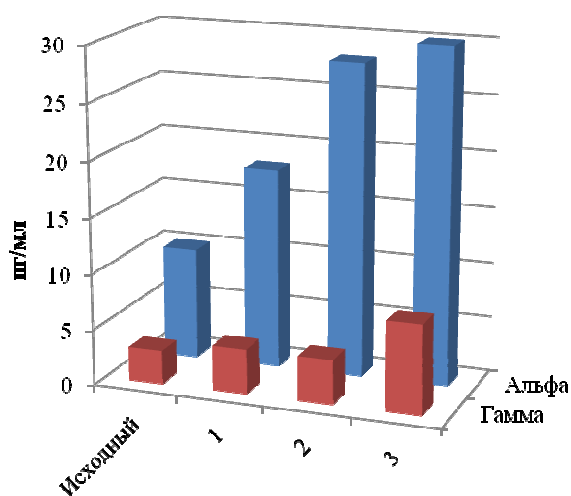


Рис. 2 Влияние инфлюцида в различных концентрациях на продукцию интерферонов α- и γ-клетками небных миндалин в культуре in vitro.

Полученные результаты позволяют говорить об активирующем воздействии инфлюцида на тканевые ЕЦК, функциональная активность которых в отношении многих типов клеток-мишеней при хроническом тонзиллите снижена [8]. При этом активирующим началом деструктивной активности ЕЦК небных миндалин могут быть интерфероны как ранние, так и поздние [3]. Проведенные исследования свидетельствуют об активирующем влиянии инфлюцида на механизмы противовирусного иммунитета, прежде всего за счет усиления продукции интерферонов и стимуляции деструктивной активности ЕЦК. Если учесть данные М.Ю. Еропкина и соавторов [4] о том, что инфлюцид способствует повышению резистентности клеток к заражению вирусом гриппа А, в том числе и так назы-

ваемого «свиного» А (H₁N₁), то можно утверждать, что препарат обладает комплексным действием на стимуляцию механизмов противовирусного иммунитета.

Выводы

1. В культурах *in vitro* с клетками небных миндалин и периферической крови у больных хроническим тонзиллитом показано, что контакт этих клеток с препаратом «Инфлюцид» приводит к повышению уровня деструктивной активности клеток миндалин и крови в отношении метаболически малоактивных клеток мишеней.

2. Инфлюцид оказывает положительное влияние на выработку как ранних, так и поздних интерферонов, в частности на продукцию α- и γ-интерферонов в условиях эксперимента *in vitro*.

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. – 510 с.
3. Ершов Ф.И., Норовлянский А.Н., Мезенцева М.В. Ранние цитокиновые реакции при вирусных инфекциях // Цитокины и воспаление. – 2004. – Т.3, №1. – С. 3-6.
4. 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) «Синога» («мексиканского») гриппа // Традиционная медицина. – 2009. – №3 (18). – С. 8-12.
5. Кайдашев І.П. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині. – Полтава: Полімет, 2003. – 319 с.
6. 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.
7. Мельников О.Ф. Иммунологические аспекты генеза хронического тонзиллита и регуляции функциональной активности небных миндалин: Автореф. дис. ... д-ра 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» // Имунологія та алергологія. – 2006. – № 3. – С. 37-39.
10. Симбирцев А.С. Цитокины: классификация и биологические функции // Цитокины и воспаление. – 2004. – Т.3, №2. – С. 16-22.

Поступила в редакцию 09.11.2010.

© О.Ф. Мельников, 2011

**ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ІНФЛЮЦИДУ
НА МЕХАНІЗМИ АНТИВІРУСНОГО
ІМУНІТЕТУ IN VITRO**

Мельников О.Ф. (Київ)

Резюме

Досліджено вплив препарату «Інфлюцид» на природну цитолітичну активність клітин піднебінних мигдаликів і крові у хворих на хронічний тонзиліт і продукування ними інтерферонів. При короткочасному (24 години) контакті (in vitro) з клітинами мигдаликів розчину інфлюциду в різних концентраціях виявлявся його стимулюючий ефект на функціональну (деструктивну) активність тканинних і кров'яних ПЦК. Інфлюцид позитивно впливав на продукцію ранніх та пізніх інтерферонів у культурі in vitro.

**INVESTIGATION OF INFLUCID INFLUENCE
ON THE MECHANISM OF ANTI-VIRUS
IMMUNITY IN VITRO**

Melnikov O.F. (Kyiv)

Summary

The influence of a preparation of Influcid on natural cytolytic activity of palatine tonsils cells and blood of patients with chronic tonsillitis and a producing of interferones by it were investigated. At short-term (24 hours) contact to tonsils cells a solution of Influcid in different concentration its stimulating effect on functional (destructive) activity tissue and blood NCC were observed. Influcid positively influenced production early and late interferones in culture in vitro.