

ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА КОМПЛЕКСНОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СРЕДСТВА «ГИПЕЛИВ»

Е.А. Убеева

аспирант, Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова (г. Улан-Удэ)
E-mail: ubeeva.ip@mail.ru

В.Б. Хобракова

д.б.н., доцент, Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова; зав. лабораторией экспериментальной биологии, Институт общей и экспериментальной биологии Сибирского отделения РАН (г. Улан-Удэ)

С.М. Николаев

д.м.н., профессор, Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова; гл. науч. сотрудник, Институт общей и экспериментальной биологии Сибирского отделения РАН (г. Улан-Удэ)

И.П. Убеева

д.м.н., профессор, Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова (г. Улан-Удэ)

В.Е. Хитрихеев

д.м.н., профессор, Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова (г. Улан-Удэ)

Актуальность создания гепатопротективных средств обусловлена широким распространением повреждений печени вирусной этиологии, увеличением частоты токсических медикаментозных и алкогольных повреждений печени, отсутствием достаточно эффективных средств лечения.

Цель работы. Определение иммуномодулирующих свойств комплексного растительного средства с условным названием «Гипелив», состоящего из *Hypocistis erectum* L.; *Hedysarum alpinum* L.; *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.; *Calendula officinalis* L.; *Scutellaria baicalensis* Georgi. при экспериментальном иммунодефиците, вызванном цитостатиком азатиоприном, на основе оценки показателей клеточного, гуморального и макрофагального звеньев иммунного ответа.

Материал и методы. Эксперименты проведены на мышах-самцах F₁ (СВАхС57В1/6). Иммунодепрессия вызывалась цитостатиком азатиоприном, который вводили контрольной группе животных в дозе 50 мг/кг перорально 1 раз в сутки в течение 5 дней. Комплексное средство «Гипелив» вводили опытной группе мышей на фоне азатиоприна в дозе 100 мг/кг перорально 1 раз в сутки в течение 14 дней. Состояние клеточного звена иммунного ответа оценивали в реакции гиперчувствительности замедленного типа согласно стандартной методике, макрофагальное звено иммунного ответа определяли в реакции фагоцитоза перитонеальных макрофагов, оценку гуморального иммунитета осуществляли по количеству антителообразующих клеток.

Результаты. Установлено, что комплексное растительное средство «Гипелив» в дозе 100 мг/кг способно ослаблять супрессивное действие азатиоприна на клеточно-опосредованную иммунную реакцию, антителогенез и фагоцитоз макрофагов.

Ключевые слова: иммуномодулирующие свойства, комплексное растительное лекарственное средство, клеточный и гуморальный иммунитет.

Для цитирования: Убеева Е.А., Хобракова В.Б., Николаев С.М., Убеева И.П., Хитрихеев В.Е. Иммуномодулирующие свойства комплексного растительного средства «Гипелив». Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2020;23(12):42–45. <https://doi.org/10.29296/25877313-2020-12-07>

В патогенезе широко распространенных заболеваний печени вирусной, аутоиммунной природы имеют значение иммунопатологические процессы [1, 2]. В создании и разработке гепатопротективных средств внимание исследователей привлекают лекарственные средства растительного происхождения, обладающие эффективностью, широким спектром фармакотерапевтического воздействия, низкой токсичностью, возможностью потенцировать эффект, благодаря сочетанию различных биологически активных веществ, особенно в комплексных фитосредствах [3, 4]. Существенный интерес представляет возможность вы-

явления иммуномодулирующих свойств у комплексных экстрактов, обладающих гепатопротективными свойствами.

Ц е л ь р а б о т ы – определение иммуномодулирующих свойств комплексного растительного средства на основе показателей клеточного, гуморального и макрофагального звеньев иммунного ответа.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперименты проведены на мышах-самцах F₁ (СВАхС57В1/6) массой 18–20 г, полученных из питомника РАМН «Столбовая».

Все работы выполняли согласно принципам гуманного отношения к животным в соответствии с «Правилами лабораторной практики» (GLP) и согласно Приказу МЗ РФ № 199К от 01.04.2016 г. «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики». Экспериментальную работу осуществляли в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу МЗ СССР №755 от 12.08.77 г.), «Правилами, принятыми в Европейской конвенции по защите позвоночных животных» (Страсбург, 1986).

Действие исследуемого средства на показатели клеточного, гуморального и макрофагального звеньев иммунитета изучено на животных, находящихся в состоянии иммунодепрессии, вызванной цитостатиком азатиоприном, который вводили контрольной группе животных в дозе 50 мг/кг перорально 1 раз в сутки в течение 5 дней [5].

Комплексное растительное средство «Гипелив» вводили опытной группе мышей на фоне азатиоприна в дозе 100 мг/кг перорально 1 раз в сутки в течение 14 дней. Интактная и контрольная группы животных получали воду, очищенную по аналогичной схеме. Исследования проводили на 20-й день эксперимента.

Действие испытуемого средства на состояние клеточного звена иммунного ответа оценивали в реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) согласно стандартной методике [6]. Мышей сенсibilизировали внутрибрюшинным введением 0,1%-ной взвеси эритроцитов барана (ЭБ) в физиологическом растворе. На 4-е сутки под подошвенный апоневроз задней лапки вводили разрешающую дозу антигена – 50 мкл 50%-ной взвеси ЭБ. В контрлатеральную лапку инъецировали физиологический раствор в том же объеме. Оценку реакции ГЗТ проводили спустя 24 ч по разнице масс опытной и контрольной лап. Индекс реакции ГЗТ (I_p) рассчитывали по формуле:

$$I_p = \frac{M_{оп} - M_k}{M_k} \times 100\%,$$

где $M_{оп}$ – масса опытной лапы; M_k – масса контрольной лапы.

Состояние гуморального иммунитета оценивали по количеству антителообразующих клеток (АОК), определяемых методом локального гемолиза по A.J. Cunningham (1965). Мышей иммунизировали внутрибрюшинно ЭБ в дозе 2×10^8 клеток на мыш. Реакцию ставили на 5-е сутки после иммунизации [7].

Состояние макрофагального звена иммунного ответа оценивали в реакции фагоцитоза перитонеальных макрофагов в отношении частиц коллоидной туши. Оптическую плотность лизата клеток перитонеального экссудата, отражающую количество туши, поглощенной перитонеальными макрофагами, определяли на спектрофотометре «СЕСИЛ-2011» при длине волны 620 нм [2].

Полученные результаты обработаны статистическим методом с помощью *t*-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При исследовании влияния комплексного растительного средства «Гипелив» в дозе 100 мг/кг на процессы антителообразования установлено, что данное средство восстанавливает показатели гуморального иммунного ответа в условиях азатиоприновой иммуносупрессии. Введение азатиоприна приводило к снижению как абсолютного числа АОК, так и числа АОК на 10^6 спленоцитов на 37 и 40% соответственно по сравнению с теми же показателями в интактной группе. При введении исследуемого средства на фоне иммуносупрессии наблюдали достоверное увеличение количества АОК как в абсолютных значениях, так и при расчете на 10^6 спленоцитов в 1,5 раза по сравнению с данными в контрольной группе (табл. 1).

Таблица 1. Влияние экстракта сухого «Гипелив» на антителообразование

Группа животных	Абсолютное число АОК на селезенку	Число АОК на 10^6 спленоцитов
Интактная, $n=10$	46199±2203	272±22
Контрольная (азатиоприн), $n=10$	29328±2368*	163±10*
Опытная (азатиоприн + «Гипелив»), $n=10$	44066±3508**	251±7**

Примечание: различия достоверны по сравнению с данными: * – в интактной группе, ** – в контрольной группе при $p \leq 0,05$; n – число животных в группе.

Таблица 2. Влияние экстракта сухого «Гипелив» на выраженность реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ)

Группа животных	ИР ГЗТ, %
Интактная, n=10	37,4±2,56
Контрольная (азатиоприн), n=10	23,3±1,84*
Опытная (азатиоприн + «Гипелив»), n=10	31,5±2,23**

Примечание: см. табл. 1.

Таблица 3. Влияние экстракта сухого «Гипелив» на фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов

Группа животных	Фагоцитарный индекс, у.е. опт. пл.
Интактная, n=10	0,680±0,043
Контрольная (азатиоприн), n=10	0,332±0,026*
Опытная (азатиоприн + «Гипелив»), n=10	0,705±0,054**

Примечание: см. табл. 1.

При исследовании влияния комплексного растительного средства «Гипелив» на клеточно-опосредованную реакцию ГЗТ установлено, что испытуемое средство восстанавливает индекс данной реакции (ИР ГЗТ) в условиях азатиоприновой иммуносупрессии. Введение азатиоприна приводило к снижению ИР ГЗТ на 38% по сравнению с тем же показателем в интактной группе. При введении испытуемого средства на фоне иммунодепрессии наблюдали увеличение ИР ГЗТ в 1,4 раза по сравнению с контролем (табл. 2).

При исследовании влияния комплексного растительного средства «Гипелив» на фагоцитар-

ную активность перитонеальных макрофагов на фоне азатиоприна установлено, что данное средство восстанавливает фагоцитарный индекс. Введение азатиоприна приводило к снижению фагоцитарного индекса на 51% по сравнению с тем же показателем в интактной группе. При введении исследуемого средства животным с иммунодефицитом наблюдали увеличение фагоцитарного индекса в 2,1 раза по сравнению с данными в контрольной группе (табл. 3).

ВЫВОДЫ

Исследование иммуномодулирующих свойств экстракта сухого «Гипелив» выявило его эффективность по отношению к реакциям клеточного, гуморального и макрофагального звеньев иммунного ответа при экспериментальном иммунодефиците, вызванном цитостатиком азатиоприном. Комплексное растительное средство «Гипелив» в дозе 100 мг/кг способно ослаблять супрессивное действие азатиоприна на клеточно-опосредованную иммунную реакцию, антителогенез и фагоцитоз макрофагов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Юцук Н.Д. Инфекционные болезни: национальное руководство. Под ред. Н.Д. Юцука, Ю.Я. Венгерова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. 1056 с.
2. Sherlock S., Dooley J. Diseases of the Liver and Biliary System. 13th edition. London: Blackwell, 2018. 813 p.
3. Лесиовская Е.Е. Доказательная фитотерапия. М.: Медицина, 2014. Ч. 1. 214 с., ч. 2. 684 с.
4. Николаев С.М. Фитофармакотерапия и фитофармакопрофилактика заболеваний. Улан-Удэ, 2012. 286 с.
5. Лазарева Д.Н., Алехин Е.К. Стимуляторы иммунитета. М., 1985. 256 с.
6. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. Под ред. А.Н. Миронова, Н.Д. Буятыяна. М.: Гриф и К, 2012. 944 с.
7. Cunningham A.J. A method of increased sensitivity for detecting single antibodyforming cells. Nature. 1965; 207(5001): 1106–1107.

Поступила 27 августа 2020 г.

IMMUNOMODULATING PROPERTIES OF THE COMPLEX PLANT SUPPLEMENT «GIPELIV»

© Authors, 2020

E.A. Ubeeve

Post-graduate Student, Banzarov Buryat State University (Ulan-Ude)

E-mail: ubeeva.ip@mail.ru

V.B. Khobrakova

Dr.Sc. (Biol.), Associate Professor, Banzarov Buryat State University; Head of the Laboratory of Experimental Pharmacology, Institutes of General and Experimental Biology at the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Ulan-Ude)

S.M. Nikolaev

Dr.Sc. (Med.), Professor, Banzarov Buryat State University; Principal Researcher of the Laboratory of Experimental Pharmacology, Institutes of General and Experimental Biology at the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Ulan-Ude)

I.P. Ubeeva

Dr.Sc. (Med.), Professor, Banzarov Buryat State University (Ulan-Ude)

V.E. Khitrikheev

Dr.Sc. (Med.), Professor, Banzarov Buryat State University (Ulan-Ude)

A necessity in finding new hepatoprotective drugs and supplements is dictated by the growing demand: increasingly widespread liver pathologies tending to chronic forms being caused by viruses, toxic agents including some medication.

The aim of the work was to determine immunomodulating properties of the complex plant supplement consisting of *Hypocoum erectus* L., *Hedysarum dauricum*, *Glycyrrhiza uralensis* Fisch., *Calendula officinalis* and *Scutellaria baicalensis*. The effect of the studied plant supplement was measured by assessment of cellular, humoral and macrophageal components of immune response in the mouse model of azathioprine induced immunodeficiency. The experiment was carried out on male F1 line mice (CBAx57Bl/6). Immunosuppressive agent azathioprine was administered to the control group of animals 50 mg/kg orally once daily during 5 days. The experimental group received same doses of azathioprine and the plant supplement 100 mg/kg once daily for 14 days.

The state of the cellular component of the immune response was evaluated by following the standard method of the delayed-type hypersensitivity reaction (DTH) assessment, while the macrophage component was studied in the reaction of phagocytosis of peritoneal macrophages, and the assessment of humoral immunity was measured by the number of antibody-forming cells.

Key words: immunomodulating properties, complex plant supplement, cellular immunity, humoral immunity, macrophages.

For citation: Ubeeva E.A., Khobrakova V.B., Nikolaev S.M., Ubeeva I.P., Khitrikheev V.E. Immunomodulating properties of the complex plant supplement «Gipeliv». Enhance functional activity of antigen-presenting cells. Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2020;23(12):42-45. <https://doi.org/10.29296/25877313-2020-12-07>

REFERENCES

1. Jushhuk N.D. Infekcionnye bolezni: nacional'noe rukovodstvo. Pod red. N.D. Jushhuka, Ju.Ja. Vengerova. M.: GJeOTAR-Media, 2010. 1056 s.
2. Sherlock S., Dooley J. Diseases of the Liver and Biliary System. 13th edition. London: Blackwell, 2018. 813 p.
3. Lesiovskaja E.E. Dokazatel'naja fitoterapija. M.: Medicina, 2014. Ch. 1. 214 s., ch. 2. 684 s.
4. Nikolaev S.M. Fitofarmakoterapija i fitofarmakoprofilaktika zabolevanij. Ulan-Udje, 2012. 286 s.
5. Lazareva D.N., Alehin E.K. Stimuljatory immuniteta. M., 1985. 256 s.
6. Rukovodstvo po provedeniju doklinicheskikh issledovanij lekarstvennyh sredstv. Chast' pervaja. pod red. A.N. Mironova, N.D. Bunjatjana. M.: Grif i K, 2012. 944 s.
7. Cunningham A.J. A method of increased sensitivity for detecting single antibodyforming cells. Nature. 1965; 207(5001): 1106-1107.



Лекарственные препараты, разработанные ВИЛАР

Аллизарин (таблетки, мазь), рег. №№ 85/507/2; 85/507/10; 85/507/16 – противовирусное средство, получаемое из травы копеечника альпийского (*Hedysarum alpinum* L.) или копеечника желтеющего (*Hedysarum flavescens* Rerel et Schmalh). По сравнению с ацикловиром обладает более широким спектром действия.

Амифурин (таблетки, спиртовой раствор), рег. №№ 83/914/9; 70/151/47; 70/151/48 – фотосенсибилизирующее средство, получаемое из плодов амми большой (*Ammi majus* L.).

Анмарин (линимент, гель, лосьон (раствор)), рег. №№ 90/248/1; 95/178/5; 90/248/4 – антифунгальное, противогрибковое средство, получаемое из плодов амми большой (*Ammi majus* L.).

Тел. контакта: 8(495)388-55-09; 8(495)388-61-09; 8(495)712-10-45

Факс: 8(495)712-09-18;

e-mail: vilarnii.ru; www.vilarnii.ru