



## Влияние очищенного комплекса детоксикомы (ОКД) на иммунный ответ к эритроцитам барана с типом ацетилирования

Расулов У.М., Рузалиев К.Н., Ганиев С.М.

Ферганский медицинский институт общественного здоровья

### Актуальность работы

В последнее время большое внимание исследователей уделяется иммуностропным препаратам растительного происхождения, которые, благодаря наличию в них комплекса биологически активных веществ (БАВ), мягко воздействуют на организм, не кумулируются, не вызывают привыкания, имеют значительную разницу между терапевтической и токсической дозами, могут применяться у лиц с сочетанными патологиями и оказывают устойчивый терапевтический эффект [1; 5; 6; 8; 13]. Известно также, что БАВ растений оказывают противовоспалительное, бактерицидное, противоаллергическое, противоопухолевое действие и являются также антиоксидантами, которым отводится главная регулирующая роль при иммунологических и цитогенетических нарушениях [10; 11; 12;]. Поэтому поиск новых иммунокорректирующих средств растительного происхождения в настоящее время остается актуальной задачей иммунофармакологии [7; 9].

Иммуномодуляторы растительного происхождения (препараты эхинацеи, иммуномакс, алпизарин, мебавин, кагоцел, панавир) действуют на макрофаги, Т- и В-лимфоциты, НК-клетки, являются индукторами интерферонов [3; 9].

**Целью нашей работы:** явилось изучение иммуногенеза у животных с различным типом ацетилирования и пути их коррекции растительным препаратом ОКД при первичном иммунном ответе.

### Материалы и методы исследования.

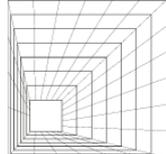
Тип ацетилирования установили по активности фермента N – ацетилтрансферазы по методу Л.Н.Буловской. Для проведения эксперимента сульфадемизин вводили экспериментальным животным внутрибрюшинно 50 мг/кг. Спустя 5 часов забирали кровь из хвостовой вены. Об активности N – ацетилтрансферазы судили по отношению свидетельствовали о медленном ацетилировании, а более 50% - о быстром.

После забоя у животных извлекали селезёнки, брыжеечные лимфатические узлы, тимус, бедренная кость. Вилочковая железа (тимус), лимфатические узлы и селезёнку очищали от жировой ткани и гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе в среде 199, после этого суспензии клеток пропускали через трёхслойный капроновый фильтр.

Бедренную кость мышей очищали от мышц, срезали эпифизы и с помощью шприца с тонкой иглой средой 199 вымывали костный мозг из костного канала. Во всех клеточных суспензиях органов иммунной системы подсчитывали число ядродержащих клеток (ЯСК) в камере Горяева и делали перерасчет на весь орган. Такими методами определяли общее количество клеток в центральных (тимус, костный мозг) и периферических (лимфатические узлы, селезёнка) органах иммунитета.

В опытах использовали белых беспородных мышей массой 20-22 г, которых иммунизировали оптимальной дозой ЭБ –  $2 \times 10^8$ /мл. На 5-е сутки после иммунизации определяли число АОК. ОКД разводили дистиллированной водой и вводили однократно внутрибрюшинно в дозе 0,5 мл вместе с ЭБ.

### Полученные результаты и их обсуждения.



Установлено, что на 5-е сутки после иммунизации в селезёнке лабораторных животных контрольной группы медленных ацетиляторов образуются  $6320,0 \pm 265$  АОК (табл.1). При введении ОКД в дозе 0,4 мл/кг число АОК достоверно увеличивается 2,2 раза и составляет  $13600,0 \pm 358$ . Аналогичные результаты получено при подсчете ядродержащих клеток селезёнки и АОК на  $10^6$  клеток селезёнки (в 1,3 и 1,7 раза соответственно).

Таблица 1

Влияние ОКД на первичный иммунный ответ к эритроцитам барана с типом ацетилирования (M±m)

Группа (n=7)	Доза преп.м л/кг	Число ЯСКС $\times 10^6$ /мл	ИС	Количество АОК на			
				селезёнку	ИС	$10^6$ клеток селезёнки	ИС
Контроль МА	-	$224,0 \pm 11,7$		$6320,0 \pm 265$		$28,2 \pm 1,8$	
МА + ОКД	0,4	$287,0 \pm 19,6^a$	+1,3	$13600,0 \pm 358^a$	+2,2	$47,4 \pm 3,2$	+1,7
МА+ иммуномо дулин	0,01	$230,0 \pm 17,2$	1,0	$11520,0 \pm 1041^a$	+1,8	$50,1 \pm 7,1$	+1,8
Контроль БА	-	$240,0 \pm 19,1$		$8800,0 \pm 1079$		$36,7 \pm 6,6$	
БА + ОКД	0,4	$395,0 \pm 10,6^b$	+1,6	$26240,0 \pm 776^b$	+3,0	$66,4 \pm 3,6^b$	+1,8
БА+иммуномод улин	0,01	$197,0 \pm 6,0^b$	-1,2	$12080,0 \pm 265$	+1,4	$61,3 \pm 2,2^b$	+1,7

Примечание: АОК-антителообразующие клетки, ЯСКС-ядросодержащие клетки селезёнки, МА-медленные ацетиляторы, БА-быстрые ацетиляторы, ИС-индекс соотношения к контролю МА и БА, <sup>a</sup>-достоверно к контролю МА, <sup>b</sup>- достоверно к контролю БА, (n=7) - количество животных в группе

При проведение эксперимента нами установлено, что у животных контрольный группы быстрых ацетиляторов в селезёнке образуется  $8800,0 \pm 1079$  АОК. Введение очищенного комплекса детоксиомы число АОК достоверно увеличивается в 3,0 раза. Число ядродержащих клеток селезёнки достоверно усиливается в 1,6 раза и АОК на  $10^6$  клеток селезёнки в 1,8 раза. Введение иммуномодулина у мышей с МА в 1,8 раза и у животных с БА 1,4 раза усиливает образование АОК в селезёнке.

Полученные результаты показывает что, иммуностимулирующей активностью ОКД тесно связано у животных с типом ацетилирования.

В следующей серии опыта после определения тип ацетилирования лабораторных животных иммунизировали оптимальной дозой ЭБ –  $2 \times 10^8$ /мл. На 5-е сутки после иммунизации определяли ядродержащие клетки тимуса и брыжеечных лимфатических узлов. ОКД и иммуномодулин разводили дистиллированной водой и вводили однократно внутрибрюшинно в дозе 0,5 мл вместе с ЭБ.

Установлено что, у мышей МА контрольной группы ядродержащие клетки тимуса (ЯСКТ) составляет  $49,0 \pm 1,3 \times 10^6$ /мл. Введение очищенного комплекса детоксиомы в дозе 0,4 мл/кг этот показатель достоверно увеличивается 2,0 раза ( $100,0 \pm 1,6 \times 10^6$ /мл – ЯСКТ). Иммуномодулин в дозе 0,01 мл/кг повышает ЯСКТ в 1,3 раза.

Из полученных данных видно, что в контрольной группе медленных ацетиляторов ядродержащие клетки брыжеечных лимфатических узлов (ЯСКБЛУ) составляет  $46,5 \pm 3,1 \times 10^6$ /мл. Внутрибрюшинное введение очищенного детоксиомы достоверно повышает ЯСКБЛУ в 2,1 раза. Введение иммуномодулина ЯСКБЛУ увеличивается в 1,3 раза.

Таблица 2

Влияние ОКД на клеточность органов иммунной системы при первичным иммунным ответе к эритроцитам барана с типом ацетилирования (M±m)

Группа	Ядродержащие клетки $10^6$ /мл
--------	--------------------------------



(n=7)	Доза преп.м л/кг	Тимус	ИС	р	Брыжеечные лимфатические узлы	ИС	р
Контроль МА	-	49,0±1,3			46,5±3,1		
МА + ОКД	0,4	100,0±1,6 <sup>a</sup>	+2,0	<0,001	98,0±5,1 <sup>a</sup>	+2,1	<0,001
МА + иммуномодулин	0,01	74,5±2,9 <sup>a</sup>	+1,3	<0,01	62,5±3,4 <sup>a</sup>	+1,3	<0,01
Контроль БА	-	82,0±2,9			65,0±3,5		
БА + ОКД	0,4	165,0±1,8 <sup>b</sup>	+2,0	<0,001	155,5±2,9 <sup>b</sup>	+2,4	<0,001
БА + иммуномодулин	0,01	107,5±3,5 <sup>b</sup>	+1,3	<0,001	77,0±2,0 <sup>b</sup>	+1,2	<0,02

Примечание: МА-медленные ацетиляторы, БА-быстрые ацетиляторы, ИС-индекс соотношения к контролю МА и БА, <sup>a</sup>-достоверно к контролю МА, <sup>b</sup>- достоверно к контролю БА, (n=7) -количество животных в группе

Нами установлено, что у животных БА контрольной группы ядродержащие клетки тимуса составляет  $82,0 \pm 2,9 \times 10^6$ /мл. Однократное внутрибрюшинное введение очищенного комплекса детоксиомы в дозе 0,4 мл/кг данный показатель достоверно увеличивается 2,0 раза ( $165,0 \pm 1,8 \times 10^6$ /мл – ЯСКТ). Иммуномодулин также увеличивает ЯСКТ в 1,3 раза.

В контрольной группе БА количество ядродержащие клетки брыжеечных лимфатических узлов составляет  $65,0 \pm 3,5 \times 10^6$ /мл. Внутрибрюшинная инъекция ОКД достоверно увеличивает ЯСКБЛУ в 2,4 раза.

Установлено, что в контрольной группе МА ядродержащие клетки тимуса в 1,7 раза и ЯСКБЛУ в 1,4 раза меньше чем в контрольной группе БА. В группе медленных ацетиляторов однократное введение очищенного комплекса детоксиомы ЯСКТ также меньше в 1,7 раза и ЯСКБЛУ в 1,6 раза чем в контрольной группе БА.

Полученные данные указывают, что иммуностимулирующий эффект очищенного комплекса детоксиомы зависит от типа ацетилирования.

В следующей серии эксперимента определяли ядродержащие клетки костного мозга (ЯСККМ).

Установлено, что в контрольной группе медленных ацетиляторов ядродержащие клетки костного мозга составляет  $76,0 \pm 3,0 \times 10^6$ /мл. Однократное введение животным медленных ацетиляторов ОКД в дозе 0,4 мл/кг достоверно увеличивает количество ЯСККМ в 1,5 раза. Введение иммуномодулина животным МА количество ЯСККМ в 1,3 раза повышается.

Таблица 3

Влияние ОКД на клеточность костного мозга при первичным иммунным ответе к эритроцитам барана с типом ацетилирования (M±m)

Группа (n=7)	Доза преп.мл/кг	Ядродержащие клетки $10^6$ /мл		
		Костный мозг	ИС	р
Контроль МА	-	76,0±3,0		
МА + ОКД	0,4	115,0±3,0 <sup>a</sup>	+1,5	<0,001
МА + иммуномодулин	0,01	97,0±3,0 <sup>a</sup>	+1,3	<0,001
Контроль БА	-	103,0±3,0		
БА + ОКД	0,4	186,0±2,0 <sup>b</sup>	+1,8	<0,001
БА +иммуномодулин	0,01	148,0±4,0 <sup>b</sup>	+1,4	<0,001

Примечание: МА-медленные ацетиляторы, БА-быстрые ацетиляторы, ИС-индекс соотношения к контролю МА и БА, <sup>a</sup>-достоверно к контролю МА, <sup>b</sup>- достоверно к контролю БА, (n=7) -количество животных в группе



В группе быстрых ацетиляторов ядродержащие клетки костного мозга составляет  $103,0 \pm 3,0 \times 10^6$ /мл. Инъекция животным с БА содержание ЯСККМ достоверно увеличивается в 1,8 раза. Иммуномодулин также увеличивает содержание ЯСККМ в 1,4 раза.

Установлено что, в контрольной группе БА ядродержащие клетки костного мозга в 1,4 раза больше чем в контрольной группе МА. В группе быстрых ацетиляторов однократное введение очищенного комплекса детоксиомы ЯСККМ больше в 1,6 раза. Аналогичные результаты получены при введение иммуномодулина.

Таким образом, однократное введение препаратов в зависимости от типа ацетилирования повышает число ядродержащих клеток костного мозга.

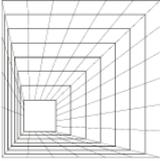
#### **Выводы:**

1. Полученные данные указывают, что иммуностимулирующий эффект очищенного комплекса детоксиомы зависит от типа ацетилирования.

2. Однократное введение препаратов в зависимости от типа ацетилирования повышает число ядродержащих клеток центральных и периферических органов иммунной системы.

#### **Литература:**

1. Беседнова Н.Н. Морские гидробионты-потенциальные источники лекарств/Н.Н.Беседнова//Здоровье. Медицинская экология. Наука. -2014. -Т.3. №57-С.4-10.
2. Буловская Л.Н., Борисенко Г.Н., Дробаченко О.А./Определение фенотипа N-ацетилтрансферазной активности. // Ленинград. 1990. № 10. –С. 28-31.
3. Винничук Ю.Д. Иммуномодуляторы в практике подготовки спортсменов: обоснование необходимости и принципы применения/Ю.Д.Винничук//Наука в олимпийском спорте. -2014. -№2. С.37-45.
4. Гланц С./Медико-биологическая статистика. // Перевод с англ.-М.; Практика, 1999. - 459 с.
5. Лазарева, Д.Н. Растения, стимулирующие иммунитет / Д.Н. Лазарева, В.В. Плечев, Т.В. Моругова, Л.И. Самигуллина. - Уфа, 2005. - 96 с.
6. Митрофанова, И.Ю. Методологические аспекты оптимизации выбора растительных объектов для создания новых лекарственных средств / И.Ю. Митрофанова, А.Б. Яницкая., Д.В. Бутенко // Бюлл. эксперим. биол. и медицины. - 2013. - Т. 155, М 5. - С. 599-601.
7. Сепиашвили Р.И. От иммунотерапии к персонализированной таргетной иммуномодулирующей терапии и иммунореабилитации/ Р.И. Сепиашвили // Аллергол. и иммунол. - 2015. - Т.16. №4. - С. 823.327.
8. Тозлиян. Е.В. Растительные иммуномодуляторы в комбинированной терапии респираторных заболеваний у детей / Е.В. Тозлиян // Практика педиатра. -2013.- №1,- С. 14-18.
9. Фещенко, Ю.И. Особенности современной иммуномодулирующей терапии / Ю.И. Фещенко. Е.М. Рекапова // Астма та алерпя. – с.2013. - N 1. -С. 6-12.
10. Хаитов, Р.М. Физиология иммунной системы / Р.М. Хаитов. - М: ВИНТИ РАН, 2005. - 428 с.
11. Belapurkar, P. Immunomodulatory effects of Triphala and its individual constituents: a review / P. Belapurkar, P. Goyal, P. Tiwari-Barua // Indian J. Pharm. Sci. - 2014. - Vo1.76,1496. - P. 467-475.



- 
12. 12.Inngjerdingen, K.T. Pectic polysaccharides isolated from Malian medicinal plants protect against *Streptococcus pneumoniae* in a mouse pneumococcal infection model / K.T. Inngjerdingen. R.K. Langerud. H. Rasmussen. T K. Olsen. I. Austarheim, I.E. Gronhaug, I.S. Aaberge. D. Diallo. 8.5. Paulsen, T.E. Michaelsen // *Scand. J. Immunol.* - 2013. - Vo1.77, No5. - P. 372-388\_
  13. 13.Kumar, S. A review on immunostimulatory plants/S. Kumar, P. Gupta. S. Sharma, D. Kumar II *J. of Chinese Integrative Medicine.* - 2011. - Vol. 9, Ng 2. -P. 117-128.
  14. 14.Jerne N.K., Nordin A.A. /Plaque formation in agar by single antibody-producing cells // *Science* .- 1963-Vol.-140.P.405-407.