



І.В. Ковальчук

Стан протівірусної резистентності у інтактних і вірусінфікованих тварин на фоні попереднього введення фітоадаптогенів

Одеський державний медичний університет

Ключові слова: фітоадаптогени, вірусне інфікування, протівірусна резистентність.

Ключевые слова: фитоадаптогены, вирусное инфицирование, антивирусная резистентность.

Key words: phytogetic adaptogenes, viral infection, antiviral resistance.

У дослідях на мишах лінії СВА, заражених сублетальною дозою патогенного штаму вірусу грипу А встановлено, що відвари підземної частини рослин-адаптогенів (аралія маньчжурська, елеутерокок колючий, левзея сафлоровидна, женьшень, родіола рожева) в дозі 0,5 г/кг, суттєво не впливаючи на гуморальні й клітинні фактори протівірусної резистентності інтактних тварин, в умовах їх вірусного інфікування посилюють та пролонгують вірусіндуковане інтерфероноутворення, збільшують функціональний резерв і сприяють передчасній активації К-клітин крові, знижуючи тим самим рівень летальності заражених тварин від вірусної інфекції.

В опытах на мышах линии СВА, зараженных сублетальной дозой патогенного штамма вируса гриппа А установлено, что отвары подземной части растений-адаптогенов (аралия маньчжурская, элеутерококк колючий, левзея сафлоровидная, женьшень, родиола розовая) в дозе 0,5 г/кг, существенно не влияя на гуморальные и клеточные факторы антивирусной резистентности интактных животных, в условиях вирусного инфицирования усиливают и пролонгируют вирусиндуцированное интерферонообразование, увеличивают функциональный резерв и способствуют более ранней активации К-клеток крови, уменьшая тем самым летальность зараженных животных от вирусной инфекции.

In experiments on line CBA mice, infected by sublethal dose of pathogenic strain of influenza type A, was established that decoction of adaptogenic plants roots (Aralia mandshurica, Eleutherococcus senticosus, Leuzea carthamoides, Panax ginseng, Rhodiola rosea) in dosage of 0,5 g/kg, without affecting considerably on humoral and cell factors on antiviral resistance of intact animals, under conditions of their viral infecting increase and prolong virus induced production of interferon, increase functional reserve and promote early activation of blood K-cells, decreasing by that the lethality of infected animals from viral infection.

Одним з імовірних ефективних і водночас безпечних шляхів корекції порушень протівірусного захисту при вірусних інфекціях могло б бути комплексне застосування рослин-адаптогенів (женьшень, елеутерокок, китайський лимонник, родіола рожева, аралія маньчжурська тощо), здатних підвищувати резистентність організму до дії екстремальних факторів, передусім шляхом активації природних неспецифічних механізмів захисту [1,4]. Проте молекулярні механізми й індивідуальні відмінності впливу окремих фітоадаптогенів на фактори протівірусної резистентності вивчено недостатньо, що, звичайно, обмежує їхнє профілактичне застосування в умовах поширення вірусної інфекції.

Мета роботи

Вивчення стану протівірусної резистентності організму у інтактних і вірусінфікованих тварин на фоні попереднього хронічного введення фітоадаптогенів.

Матеріали і методи дослідження

Досліди проводили на 336 мишах лінії СВА вагою 18–20 г. У роботі вивчалась протівірусна активність відварів, виготовлених з підземної частини аралії маньчжурської (*Aralia mandshurica*), елеутерококу колючого (*Eleutherococcus senticosus*), женьшеня (*Panax Ginseng L.*) родини Аралієвих (*Araliaceae*); родіоли рожевої (*Rhodiola rosea L.*) родини Товстянкових (*Crassulaceae*);

левзеї сафлоровидної (*Rhaponticum carthamoides*) родини Айстрових (*Asteraceae*). Сировина культивована й заготовлена на території України. Приготування відварів регламентовано Державною Фармакопеею України [3]. У попередній серії експериментів встановлено мінімальну дозу фітопрепаратів (0,5 г/кг (0,2 мл відвару на 1 тварину)), пероральне введення якої протягом 10 діб не змінювало морфо-функціонального стану стрес-компетентних органів і не впливало на інтегральні показники резистентності інтактних тварин. Протягом 10 діб експерименту фітопрепарати в зазначеній дозі вводили у шлунок тваринам через зонд о 10 годині ранку. Контрольні тварини отримували аналогічний об'єм дистильованої води. Стан клітинної ланки протівірусної резистентності організму оцінювали за функціональною активністю кілерних клітин крові (К-клітини). Оскільки цитотоксична функція К-клітин є антитілозалежною, для її оцінки у якості клітин-мішеней використовували еритроцити барана, оброблені антисироваткою різного розведення. Завись мононуклеарних клітин, виділених з периферійної крові, змішували в розчині Хенкса з клітинами-мішенями у співвідношенні 5:1, інкубували протягом 3,5 годин за температури 37°C, центрифугували при 400 g протягом 15 хвилин і в надосадовій рідині спектрофотометричним методом при $\lambda=414$ нм вивчали

оптичну густину отриманих супернатантів. Процент гемолізу вираховували за формулою:

$$(E_e - E_k) / E_{\max} * 100\%,$$

де E_e – оптична густина експерименту; E_k – оптична густина контролю (суміш ефекторних клітин з еритроцитами барана, не оброблених антисироваткою); E_{\max} – оптична густина за умов максимального гемолізу відповідної кількості еритроцитів.

Стан гуморальної ланки противірусного імунітету оцінювали за інтенсивністю вірусіндукованого інтерферонуутворення, яке моделювали шляхом інтраназального зараження тварин сублетальною дозою патогенного штаму вірусу грипу А 3,5 lg ЕІД₅₀ (0,2 мл). Відповідну дозу вірусу грипу А визначено серією попередніх дослідів з зараженням тварин різними дозами збудника інфекції з наступною реєстрацією загибелі інфікованих мишей протягом 14 діб. Рівень α -інтерферону в сироватці крові визначали через 2, 4 і 7 діб після інфікування шляхом титрування його противірусної активності загальноприйнятим методом [2,5]. Летальність оцінювали за відсотком загиблих тварин протягом 14 діб після їх зараження. Статистичну обробку результатів досліджень здійснювали методами варіаційної статистики за допомогою критерію Стюдента.

Результати та їх обговорення

Встановлено, що в сироватці крові інтактних тварин через 2 доби після зараження сублетальною дозою вірусу грипу А титр α -інтерферону становив 1:140, через 4 доби він зменшувався до 1:80, через 7 діб – до 1:40 (табл. 1).

Таблиця 1

Вплив фітоадаптогенів на титри α -інтерферону в сироватці крові й рівень летальності мишей лінії СВА (n=10–12), заражених сублетальною дозою вірусу грипу А (M \pm m)

Група тварин	Титри α -інтерферону після зараження через			Летальність (%)
	2 доби	4 доби	7 діб	
Інтактні	1:140	1:80	1:40	25
Контроль (H ₂ O)	1:145	1:80	1:45	25
Аралія	1:205	1:180	1:85	8,3
Елеутерокок	1:210	1:180	1:110	0
Левзея	1:190	1:185	1:100	8,3
Женьшень	1:235	1:230	1:120	0
Родіола	1:250	1:230	1:130	0

При цьому, ефекторна активність К-клітин крові інтактних тварин через 2 доби після інфікування зростала з 32,4 \pm 4,2% до 39,3 \pm 2,9% (P>0,05), через 4 доби – до 54,3 \pm 4,7% (P<0,05), через 7 діб дещо знизилась і склала 45,2 \pm 3,5% (P<0,05). Протягом двотижневого періоду спостережень від вірусної інфекції загинуло 3 з 12 заражених мишей, тобто летальність становила 25%. У тварин контрольної групи, які протягом 10 діб

перед зараженням отримували воду, досліджувані показники противірусної резистентності й летальність достовірно не відрізнялись від інтактної групи. Як і очікувалось, вірусіндуковане інтерферонуутворення, як фактор гуморального противірусного захисту, максимально активується вже на ранніх етапах після зараження інтактних тварин, тоді як патогенетичне значення клітинного фактору резистентності – К-клітин крові – зростає поступово. Цитопатогенна активність К-клітин крові інтактних мишей і мишей контрольної групи досягає максимальної активності лише через 4 доби після їх зараження, коли інтенсивність утворення α -інтерферону вже починає знижуватись.

Встановлено, що на фоні курсового введення фітозасобів протягом 10 діб у дозі 0,5 г/кг показники противірусної резистентності у неінфікованих тварин достовірно не змінювались. Винятком став лише женьшень, який у неінфікованих тварин підвищував активність К-клітин крові на 36,4% (P<0,05) (табл. 2).

Таблиця 2

Вплив фітоадаптогенів на цитопатогенну активність К-клітин крові мишей лінії СВА (n=10–12), заражених сублетальною дозою вірусу грипу А (в % гемолізу) (M \pm m)

Група тварин		Цитопатогенна активність К-клітин крові після зараження через		
		2 доби	4 доби	7 діб
Інтактні	32,4 \pm 4,2	39,3 \pm 2,9	54,3 \pm 4,7	45,2 \pm 3,5
Контроль (H ₂ O)	35,1 \pm 3,3	42,6 \pm 4	56,2 \pm 4,9	43,9 \pm 3
Аралія	40,5 \pm 3,4	73,6 \pm 5,9*	70,3 \pm 4,4*	62,9 \pm 5,5*
Елеутерокок	37,3 \pm 4,4	68,5 \pm 5,6*	74 \pm 5,1*	67,2 \pm 4,3*
Левзея	42,0 \pm 4,8	66,7 \pm 7,3*	70,3 \pm 6,6*	58,2 \pm 3,8*
Женьшень	47,9 \pm 4*	78,6 \pm 8,2*	75,3 \pm 4,1*	60,2 \pm 3,9*
Родіола	43,1 \pm 5,9	80,6 \pm 5*	78,3 \pm 4,8*	70,2 \pm 4,4*

Примітка: * – зміни достовірні, порівняно з показниками контрольної (H₂O) групи тварин (P<0,05).

Однак, досліджувані фітоадаптогени виявляли виразний захисний вплив в умовах вірусного інфікування мишей сублетальною дозою вірусу грипу А. Через 2 доби після зараження титри α -інтерферону в сироватці крові тварин, які отримували фітозасіб аралії, перевищували відповідний показник контрольної групи на 41,4%; при профілактичному застосуванні елеутерококу додаткове збільшення титрів α -інтерферону склало 44,8%; левзеї – 31%; женьшеню – 62,1% і родіоли рожевої – 72,4% (P<0,05). Через 4 доби після інфікування, коли титри α -інтерферону у тварин контрольної групи знижувались до показника 1:80; у тварин, що отримували аралію, цей показник майже не змінювався і залишався на рівні 1:180, при застосуванні елеутерококу він склав 1:180; левзеї – 1:185; женьшеню – 1:230 і родіоли рожевої – 1:230 (P < 0,05). Через 7 діб після зараження у тварин, які попередньо отримували фітоадаптогени, титри α -інтерферону більш ніж удвічі перевищували показники контрольної групи (рис. 1).

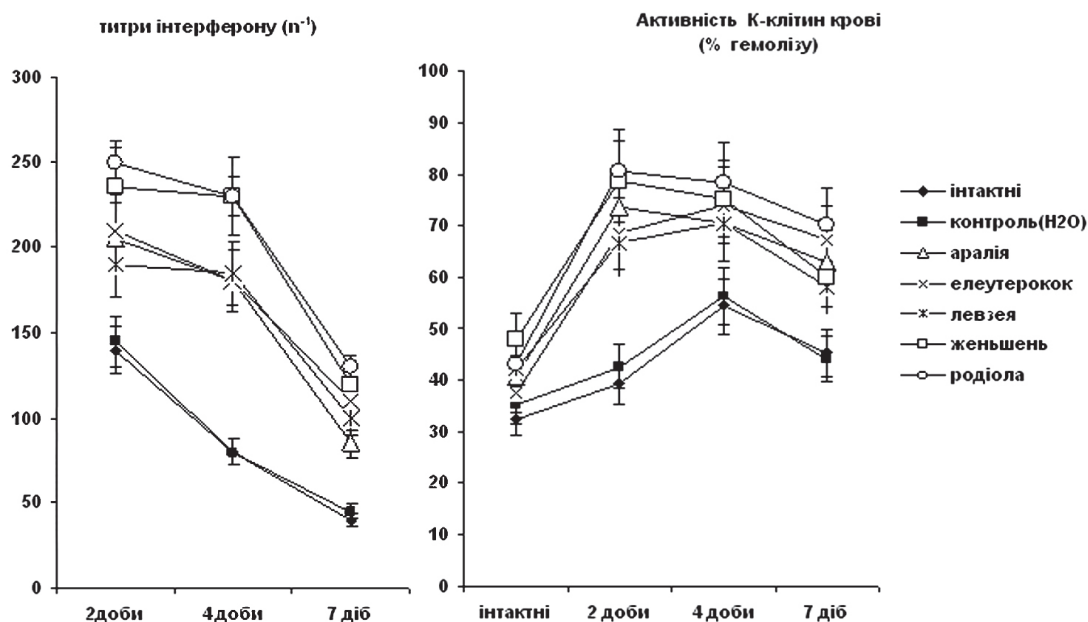


Рис. 1. Вплив фітоадаптогенів на динаміку зміни гуморальних і клітинних факторів протівірусного захисту у мишей лінії СВА (n=10–12), заражених сублетальною дозою вірусу грипу А.

Отже встановлено, що фітоадаптогени не впливають на рівень інтерферону у інтактних тварин, але значно посилюють і пролонгують його продукцію в умовах вірусного інфікування.

Позитивний вплив рослин-адаптогенів в умовах експериментальної вірусної інфекції зафіксовано й стосовно функціонального стану К-клітин крові. Під впливом адаптогенів цитопатогенна активність цих клітин в усі терміни спостережень суттєво перевищувала показники контрольної групи. При цьому, якщо максимальна активність К-клітин мишей контрольної групи фіксувалась лише через 4 доби після їх зараження, то під впливом фітопрепаратів суттєва активація кілерів відбувалась уже через 2 доби і тривала протягом усього терміну спостережень (7 днів). Зокрема якщо гемолітична активність К-клітин через 2 доби після інфікування мишей контрольної групи становила $42,6 \pm 4\%$, то у тварин, що отримували аралію, вона збільшувалась до

$73,6 \pm 5,9\%$; елеутерокок – до $68,5 \pm 5,6\%$; левзею – до $66,7 \pm 7,3\%$; женьшень – до $78,6 \pm 8,2\%$ і родіолу рожеву – до $80,6 \pm 5\%$ ($P < 0,05$). Отже, фітоадаптогени не лише посилюють і пролонгують функціональну активність К-клітин, але й сприяють їх передчасній активації вже на ранніх етапах після вірусного інфікування. Як результат, препарати аралії та левзеї знижували летальність від вірусної інфекції до $8,3\%$, а елеутерокок, женьшень і родіола – до 0% при показнику летальності – 25% у тварин контрольної групи.

Отже, досліджувані рослини-адаптогени в дозі $0,5$ г/кг, суттєво не впливаючи на гуморальні й клітинні фактори протівірусної резистентності інтактних тварин, в умовах їх вірусного інфікування посилюють і пролонгують вірусіндуковане інтерфероноутворення, збільшують функціональний резерв і сприяють передчасній активації К-клітин крові, знижуючи рівень летальності заражених тварин від вірусної інфекції.

Література

1. Барнаулов О.Д. Введение в фитотерапию / О.Д. Барнаулов. – СПб: Лань, 1999. – 160 с.
2. Гончаров А.Г. Основы клинической иммунологии и методологические подходы к оценке иммунного статуса: практикум / А.Г. Гончаров, И.С. Фрейдлин, В.С. Смирнов. – Калининград: Изд-во КГУ, 1997. – 73 с.
3. Державна фармакопея України. – 1-е вид. Доповнення I. – Х.: РІРЕГ, 2004. – 494 с.
4. Интерферониндуцирующее действие полисахаридных биополимеров из корня и культуры клеток женьшеня / Т.П. Смолина, Т.Г. Орлова, О.Н. Щегловитова, Н.Н. Беседнова // Антибиотики и химиотерапия. – 1998. – №11. – С. 21–23.
5. Чернушенко Е.Ф. Иммунологические методы исследования в клинике / Е.Ф. Чернушенко, Л.С. Косогорова. – К.: Здоров'я, 1978. – 159 с.
6. Brown R. Rhodiola rosea: A Phytomedicinal Overview / R. Brown, P. Gerbarg, Z. Ramazanov // American Botanical Council. – 2002. – Vol. 56. – P. 40–52.
7. The in vivo effect of Rhodiola rosea and Rhodiola quadrifida hydro-alcoholic extracts on chemokinetic activity of spleen lymphocytes in mice / E. Skopińska-Różewska, M. Bychawska, B. Białas-Chromiec, E. Sommer // Centr. Eur. J. Immunol. – 2009. – Vol. 34, №1. – P. 42–45.

Відомості про автора:

Ковальчук І.В., асистент каф. фармакогнозії ОДМУ.

Адреса для листування:

Ковальчук Ірина Вікторівна. 65114, м. Одеса, Люстдорфська дорога, 142/2, кв. 4.
Тел.: (0482) 44 95 52, (096) 105 13 45.