

АНТИВИРУСНЫЕ И ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА ПРЕПАРАТА ИЗ ПРОРОСШЕГО ЗЕРНА ПШЕНИЦЫ «ЖИЗНЬ»

А.П. Левицкий¹, И.Г. Маник², С.А. Демьяненко¹
1 ГУ "Институт стоматологии АМН Украины" 2 ЧП "И.Г. Маник" торговая марка «ЖИЗНЬ» - производитель и поставщик ростков пшеницы и сока из ростков пшеницы.

Ключевые слова: проростки пшеницы, вирус гриппа, иммунитет, фагоцитоз.

Проросшее зерно пшеницы обладает широким спектром биологического действия, проявляя лечебно-профилактические свойства при экспериментальной патологии (стресс, язва желудка, пародонтит) [4, 7, 8], а также в клинике [5, 10]. Основное количество биологически активных веществ проросшего зерна пшеницы, представленные, главным образом, полифенолами [9], сосредоточено в проростках.

Учитывая исключительную роль микробного фактора в этиологии и патогенезе подавляющего числа заболеваний, можно было предположить, что и полифенольные соединения проростков пшеницы оказывают свое лечебно-профилактическое действие путем влияния на микробный фактор.

Цель работы - изучить влияние препарата из проростков пшеницы на размножение вирусов и состояние антимикробного иммунитета.

Материалы и методы. При выполнении работы были использованы беспородные белые мыши 18-26 г; вирус гриппа A/PR/8/34 (H1N1), куриные эмбрионы, препарат из сока проростков пшеницы «ЖИЗНЬ» (Биотрит) с концентрацией экстрактивных веществ 4,2 %.

Вирусологические методы:

- Пассирование вируса гриппа на мышах. С этой целью животное под легким эфирным наркозом интраназально заражали 0,05 мл аллантоисной жидкостью, содержащей вирус. Через 8 часов мышь умерщвляли, стерильно извлекали легкие, растирали их в ступке со стеклом, добавляли физиологический раствор с антибиотиками из расчета 2 мл физиологического раствора на одно легкое. После центрифугирования при 2000 g в течение 10 минут 0,1 мл надосадочной жидкости вводили интраназально другому животному и т.д.

- Накопление вируса гриппа на куриных эмбрионах. Для этого использовали надосадочную жидкость, полученную из гомогената легких мышей после нескольких пассажей вируса. Заражали 11-дневные куриные эмбрионы в аллантоисную полость 0,2 мл разведенного в логарифмической прогрессии заражающего материала и инкубировали 48 часов при температуре 37°C. После этого стерильно отсасывали аллантоисную жидкость, в которой определяли титры вируса по данным реакции гемагглютинации (РГА) [1, 2]. Аллантоисная жидкость эмбрионов, титры РГА в которой были равны 1:128 и выше,

объединялись и стерильно разливались по 1 мл во флаконы с последующим хранением при -260С.

- Титрование инфекционности вируса гриппа на мышах при интраназальном методе заражения. В этом случае в каждой группе из 4-6 мышей интраназальное заражение осуществляли под легким эфирным наркозом, используя по 0,05 мл аллантоисной жидкости с содержанием вирусов кратным 10 (1 lg). Наблюдение за животными осуществляли в течение 15 дней, ведя учет гибели, начиная с 1 суток.

Иммунологические методы:

- Гемолитическую активность сыворотки и спленоцитов оценивали спектрофотометрическим методом по количеству связавшихся с антителами и лизированных в присутствии комплемента эритроцитов барана [3]. Число розеткообразующих клеток (РОК) определяли путем подсчета количества лимфоцитов с пятью и более прикрепившимися ксеногенными эритроцитами [14]. Количество антителообразующих клеток (АОК) в селезенке определяли путем подсчета числа зон локального гемолиза в жидкой среде, содержащей эритроциты барана, сенсibilизированные спленоциты и комплемент [11]. Тирты гемагглютининов и гемолизинов определяли методом последовательных двукратных разведений с помощью микротитратора Такачи [6]. При изучении гуморального ответа животных иммунизировали внутрибрюшинным введением многократно отмытых в физрастворе эритроцитов барана в дозе $5 \cdot 10^8$ клеток на одну мышь. Исследование проводили на пятые сутки после введения эритроцитов.

- Функциональную активность макрофагов оценивали по их способности изменять интенсивность фагоцитоза дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae* [12] и восстановления этими клетками нитросинего тетразоля (НСТ-тест) [13]. Расчет ЛД50 проводили методом Кербера в модификации Ашмарина [1, 2] по формуле:

$LD_{50} = -lgD_n - d(\sum l_i - 0,5)$, где D_n - доза, дающая максимальный эффект; l_i - отношение числа животных, погибших при заражении данной дозой, к общему числу зараженных этой дозой; i - номер дозы (минимальную дозу принимают за первую); d - логарифм кратности разведения.

Результаты и их обсуждение.

Антивирусную активность препарата из проростков пшеницы исследовали на мышах, которым *per os* вводили по 7,2 мг экстрактивных веществ из проростков на мышь в сутки в течение 15 дней до заражения и 15 дней после заражения. Заражение вирусом гриппа осуществляли под легким эфирным наркозом интраназально в дозе 0,05 мл вирусосодержащей жидкости с различными разведениями ($1 \cdot 10^{-1} \dots 1 \cdot 10^{-10}$). В каждой группе находилось по 6 животных. Гибель учитывали в течение 15 дней после заражения и рассчитывали ЛД50.

Предварительно вирус был трижды пропассирован на мышах и затем накапливался в аллантоисной жидкости 11-дневных куриных эмбрионов через 48 часов после их заражения предельными разведениями гомогенатов легких

(1:10-5 и 1:10-6), при этом гемагглютинирующая активность вирусного материала, полученного при заражении эмбрионов, равнялась 1:512. Анализ динамики гибели мышей, зараженных вирусом гриппа и получавших препарат из проростков пшеницы, представлены на рис. 1 в виде кумулятивных IgЛД50, свидетельствует о том, что гибель животных в контрольной группе началась на 3-й день, тогда как в опытной на 4-й день.

Начиная с 9-х суток после заражения гибель животных в опытной группе была достоверно ниже, чем в контрольной. С 11-го и в последующие дни различие в IgЛД50 между опытной и контрольной группами составило 1,5 ед. Снижение IgЛД50 свидетельствует о повышении патогенности возбудителя либо о снижении устойчивости организма к инфекции.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что введение препарата из проростков пшеницы повышает устойчивость животных к тяжелым формам гриппозной инфекции более, чем в 30 раз.

Динамика гибели животных дает веские основания полагать, что защитное действие препарата в первую очередь обусловлено его иммуностимулирующим и антибактериальными действиями, поскольку статистически значимые различия в гибели животных имели место в поздние сроки, тогда как для прямого антивирусного действия характерны различия в более ранние сроки. Результаты исследования иммуностимулирующих свойств препарата из проростков пшеницы представлены в табл. 1, из которой следует, что стимулирующий эффект препарата наиболее отчетливо проявляется на фоне сниженной активности путем введения субоптимальной дозы антигена (эритроцитов барана). При этом отмечается увеличение уровня всех изученных показателей в 2-2,5 раза.

При введении препарата из проростков пшеницы животным, получавшим оптимальную дозу антигена на фоне введения циклофосфана (50 мг/кг) также отмечена способность исследуемого препарата ослаблять иммунодепрессивные эффекты цитостатика.

Результаты исследований влияния препарата из проростков пшеницы на функциональную активность макрофагов представлены в табл. 2. Препарат вводили экспериментальным животным за сутки до взятия крови. Представленные в табл. 2 данные свидетельствуют о значительном возрастании функциональной активности макрофагов под влиянием исследуемого препарата. В клетках синхронно увеличивается фагоцитарная способность и суммарный уровень окислительно-восстановительных процессов. Возрастание интенсивности НСТ-теста дает основание предполагать, что препарат из пшеницы стимулирует бактерицидность фагоцитов.

Подводя итог проведенным исследованиям, можно заключить, что препарат из проростков пшеницы обладает антивирусным и иммуномодулирующими действиями, которые заключаются в способности стимулировать подавленные реакции гуморального иммунитета и активировать фагоцитоз. Это дает основание рекомендовать препарат из проростков пшеницы в качестве лечебно-профилактического средства при хронических заболеваниях, а также при угнетении иммунной системы, вызываемой введением антибиотиков и под действием различных токсикантов.

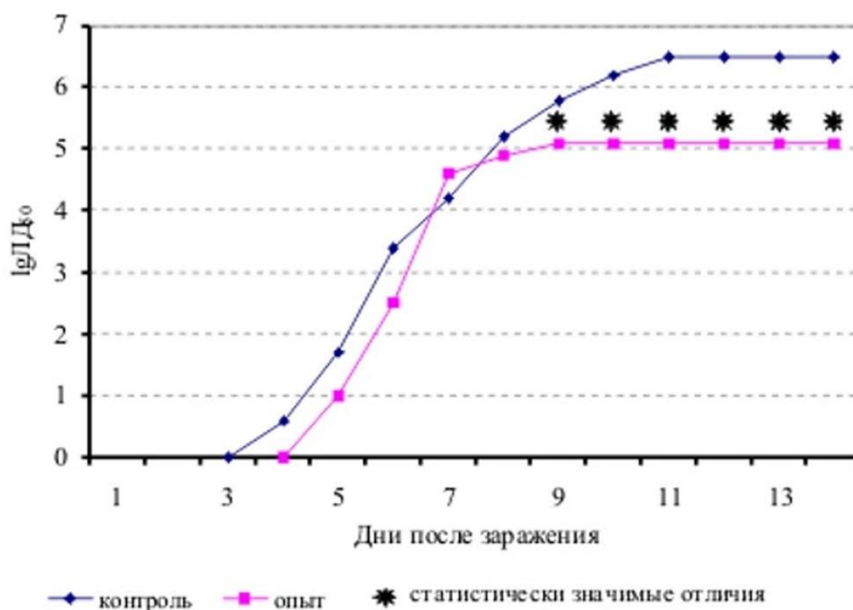


Рис. 1. Влияние препарата из проростков пшеницы на кумулятивный IgГД50 при моделировании у мышей экспериментального гриппа.

Таблица 1

Влияние препарата из проростков пшеницы на гуморальный иммунный ответ (n = 6-8; M ±m)

Вариант	Число РОК среди 10 ⁶ спленоцитов	Число АОК среди 10 ⁶ спленоцитов	Гемолитическая активность, Ч10 ⁶		Титры, log	
			спленоцитов	сыворотки	атлантичное	лизное
1. Исходные животные	10 ± 1	114 ± 5	3,0 ± 0,2	1,0 ± 0,1	0,37 ± 0,06	0,48 ± 0,06
Оптимальная доза антигена						
2. Контроль	84,3 ± 3	676 ± 26	26,5 ± 2,5	10,2 ± 0,8	9,60 ± 0,86	9,90 ± 0,90
3. Препарат	86,5 ± 5	752 ± 18*	31,2 ± 2,2*	10,4 ± 0,8	8,90 ± 0,82	9,30 ± 0,30
Субоптимальная доза антигена						
4. Контроль	25,2 ± 2	200 ± 26	5,2 ± 0,2	1,6 ± 0,2	1,50 ± 0,19	1,95 ± 0,16
5. Препарат	50 ± 4*	439 ± 40*	9,1 ± 0,5*	3,4 ± 0,3*	3,90 ± 0,33*	4,70 ± 0,39*
Оптимальная доза антигена+гидрофосфан						
6. Контроль	41 ± 6	343 ± 36	11,3 ± 0,5	5,5 ± 0,5	4,70 ± 0,60	5,40 ± 0,50
7. Препарат	58 ± 3*	480 ± 11*	15,4 ± 0,8*	6,4 ± 0,2*	6,10 ± 0,30*	6,90 ± 0,30*

Примечание: * - различия достоверны по сравнению с контролем данной группы; гемолитическая активность спленоцитов выражена числом эритроцитов барана, лизированных 10⁶ спленоцитов; гемолитическая активность сыворотки выражена числом эритроцитов барана, лизированных 25 мкл сыворотки.

Таблица 2

Влияние препарата из проростков пшеницы на функциональную активность макрофагов ($n = 8$; $M \pm m$)

№№ п/п	Группа	Интенсивность фагоцитоза	НСТ-тест (мкг дицирмизана на 10^6 макрофагов)
1	Контроль	$3,3 \pm 0,5$	$11,0 \pm 0,8$
2	Препарат из проростков	$9,0 \pm 1,1$ $p < 0,001$	$34,0 \pm 2,4$ $p < 0,001$