

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА «ИММУНАЛ» НА ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИММУНОСУПРЕССИИ

Дудкова Мария Дмитриевна

студент, Оренбургский медицинский государственный университет, РФ, г. Оренбург

Даньшин Никита Витальевич

студент, Оренбургский медицинский государственный университет, РФ, г. Оренбург

Сердюк Светлана Владимировна

научный руководитель, канд. мед. наук, доцент, Оренбургский медицинский государственный университет, РФ, г. Оренбург

Введение. Возникновение и развитие многих заболеваний сопровождается нарушением иммунной системы организма, поэтому активно продолжается поиск новых лекарственных и профилактических средств, особенно растительного происхождения, для восстановления функциональной активности иммунной системы. Перспективным сырьем для разработки таких препаратов является препарат Иммунал, относящийся к иммуностимуляторам растительного происхождения. В основе Иммунала лежит трава эхинацеи пурпурной, накапливающая, в соответствии с данными литературы, большой комплекс биологически активных веществ полифенольной природы, органические кислоты, витамины, микроэлементы антоцианы, флавоноиды, полифенолы, и другие биологически активные вещества. Известно, что фенольные соединения растений обладают иммунорегуляторным действием, механизм которого может заключаться в иммунокорригирующем действии в условиях цитостатической иммуносупрессии и в регуляции синтеза про- и противовоспалительных цитокинов[5, с.2]. Существенным достоинством таких препаратов является их слабая токсичность для человека и совокупное действие комплекса биологически активных веществ, оказывающих комплексное воздействие на организм в целом.

Цель и задачи исследования. Оценка влияния препарата Иммунал на гематологические показатели у мышей при экспериментальной иммуносупрессии.

Для достижения поставленной цели, были решены следующие задачи:

1. Создание модели экспериментальной иммунодепрессии.
2. Оценка влияния препарата Иммунал на гематологические показатели экспериментальных животных.

Материалы и методы. Объект исследования – препарат Иммунал. Эксперимент проводился на 60 беспородных мышках-самцах массой 20-30 г., полученных из питомника РАМН «Рапполово». Изучение иммуномодулирующей активности препарата Иммунал проводилось на модели иммуносупрессии, которая создавалась цитостатиком Метотрексат («Сандоз», Словения; лекарственная форма – раствор для инъекций).

Результаты. Животные были разделены на 4 группы по 15 особей: 1 – получавшие воду, контрольная; 2 – «Иммунал» 5 мл/кг; 3 – Метотрексат 10 мг/кг; 4 – Метотрексат и «Иммунал».

Метотрексат вводили однократно в первый день эксперимента, «Иммунал» мыши получали

трижды на протяжении следующих трёх дней: через 1 час, 24 часа и 48 часов после однократного введения Метотрексата.

Все мыши выводились из эксперимента на 4-е сутки под эфирным наркозом. Эксперименты проводили в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу Минздрава СССР №755 от 12.08.1977 г.), «Правилами Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей», «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств».

На первом этапе проводили оценку массы мышей путём прямого взвешивания, результат выражали в граммах, после чего у животных производили забор крови для определения следующих параметров:

1. Количественное определение содержания гемоглобина в крови проведено спектрофотометрически (ЕсоView УФ-1200, длина волны 540 нм)) гемиглобинцианидным способом - метод Drabkin («Гемоглобин Агат, ООО «Агат-Мед»).

Расчет концентрации гемоглобина в крови проводили по формуле:

$$C = \frac{E_0}{E_K} \times 120$$

где: С – концентрация гемоглобина в опытной пробе, г/л;

Е₀ – оптическая плотность опытной пробы, ед.опт.плотн.;

Е_к – оптическая плотность калибровочной пробы, ед.опт.плотн.;

120 – концентрация гемоглобина в калибровочном растворе, г/л

2. Количество лейкоцитов оценивалось с помощью микроскопии в камере Горяева после разведения исследуемой крови мышей в 20 раз 5% раствором уксусной кислоты с метиленовым синим. Подсчет лейкоцитов проводили в 100 больших квадратах, результат выражали в 10^9 /л крови.

3. Оценку лейкоформулы – подсчёт субпопуляций проводился методом микроскопирования в мазках крови, окрашенных по Романовскому – Гимзе.

4. Статистическая обработка результатов проводилась в программе Statistica 9.0, результаты выражали в виде среднего и ошибки среднего, различия определяли по t-критерию Стьюдента.

В результате проведенного исследования влияния препарата Иммунал на массу животных и гематологические показатели периферической крови мышей, установлено что применение препарата Иммунал и Метотрексат а в указанных дозировках не сопровождалось гибелью экспериментальных животных. Были получены следующие результаты, на основании которых были составлены графические модели:

Оценка массы животных: По отношению к контрольной группе, ведение препарата Иммунала не изменяло массу экспериментальных животных, введение Метотрексата достоверно снижало массу животных, применение препарата Иммунала на фоне введения Метотрексата достоверно приводило к восстановлению массы животных до уровня контрольной группы.

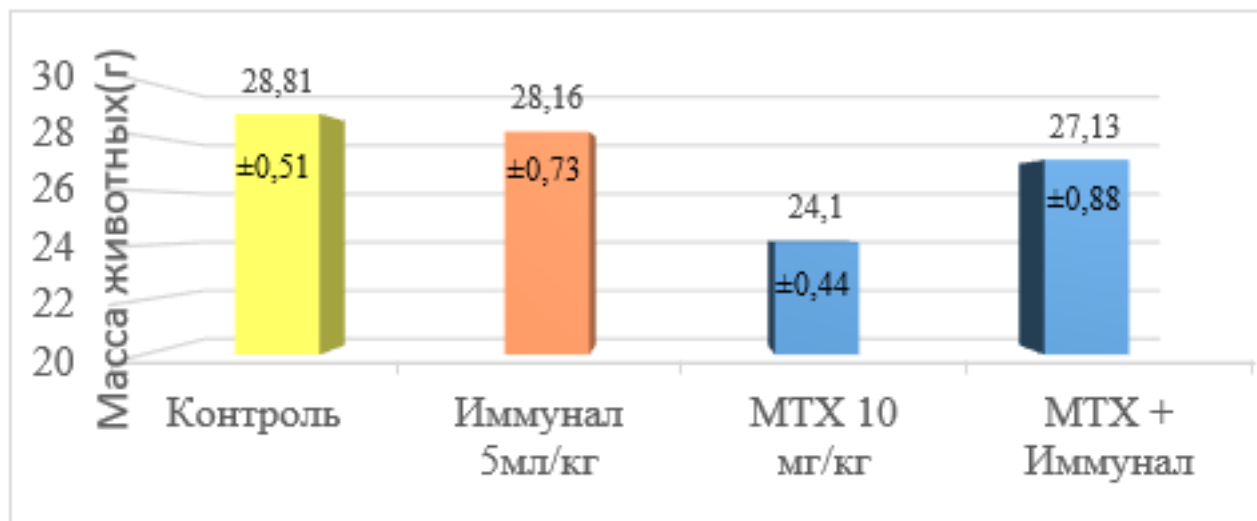


Рисунок 1. Оценка массы животных

Оценка гемоглобина: по сравнению с контрольной группой, введение препарата Иммунала не имело влияния на концентрацию гемоглобина в периферической крови, введение Метотрексата достоверно снижало этот параметр, применение Иммунала на фоне введения Метотрексата достоверно приводило к восстановлению концентрации гемоглобина в крови мышей до уровня контрольной группы.

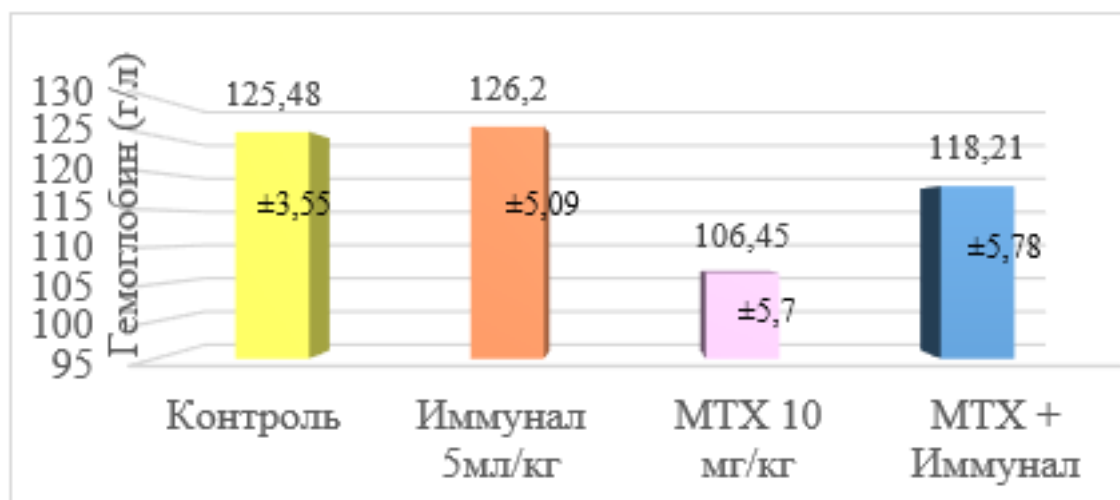


Рисунок 2. Оценка гемоглобина

Оценка количества лейкоцитов: применение Иммунала без Метотрексата и на фоне его введения не изменяло показатели количества лейкоцитов по сравнению с контрольной группой.

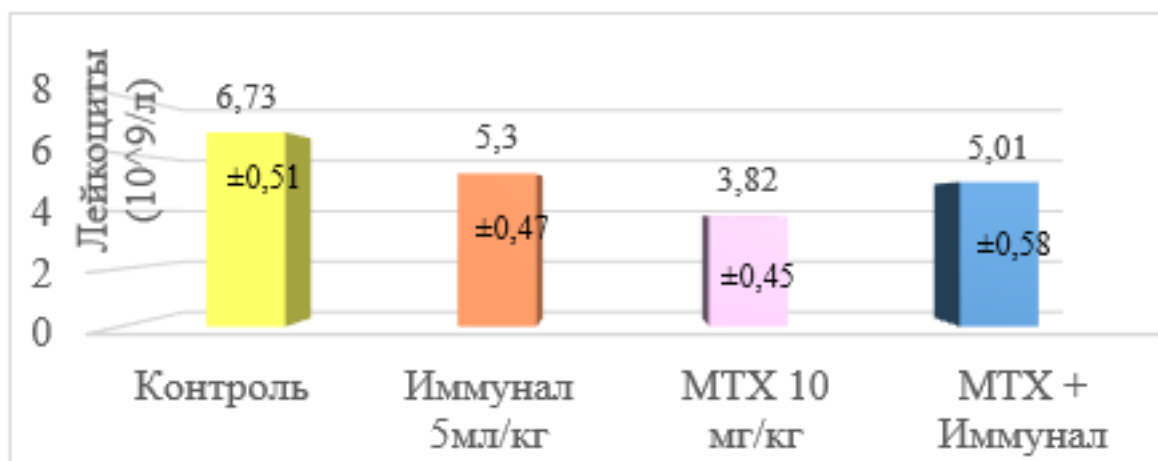


Рисунок 3. Оценка количества лейкоцитов

Подсчёт лейкоцитарной формулы: Сравнивая с контрольной группой, при подсчете лейкоцитарной формулы было отмечено увеличение процента содержания моноцитов у животных 4 группы при введении Иммунала на фоне супрессии Метотрексатом.

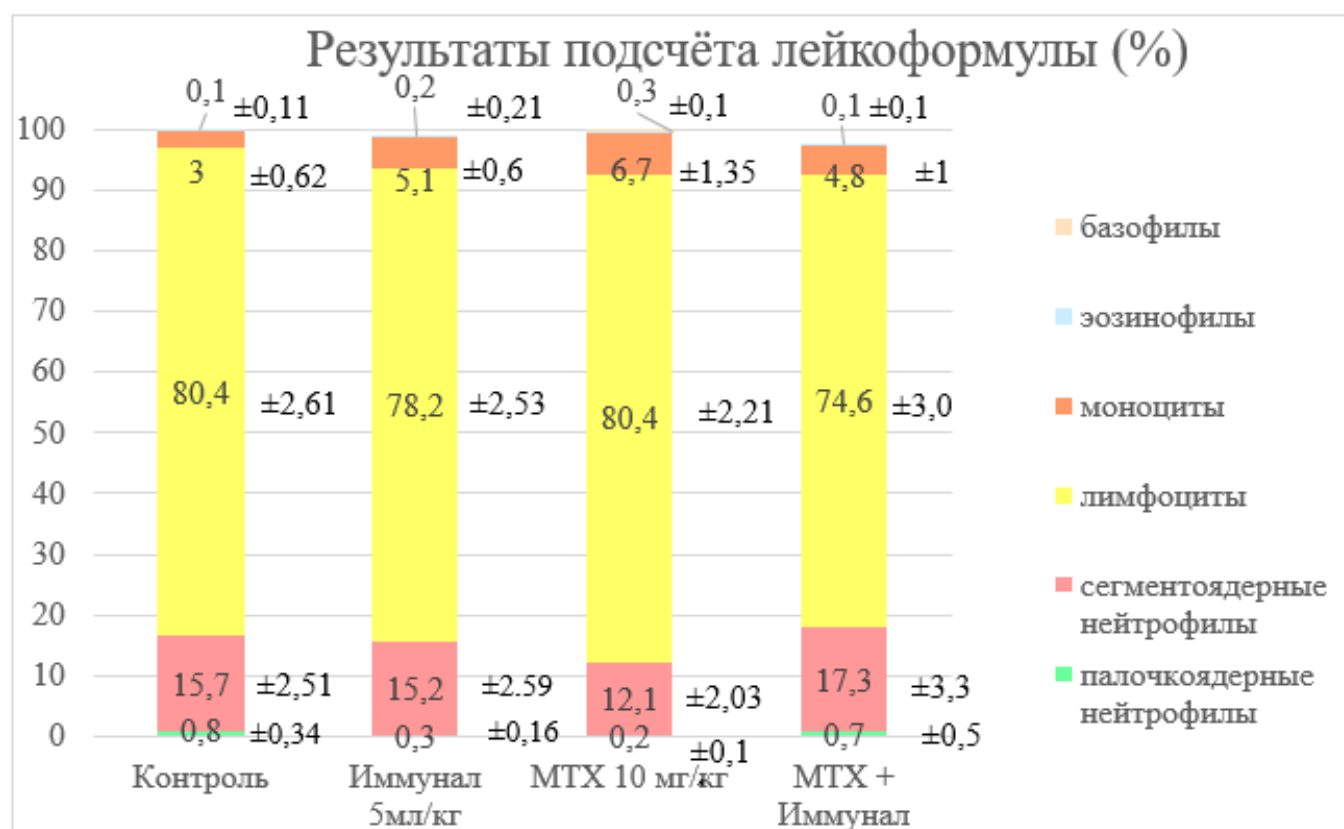


Рисунок 4. Подсчёт лейкоцитарной формулы

При подсчёте абсолютного количества лейкоцитов выявлены следующие изменения: применение цитостатика Метотрексата достоверно уменьшало количество сегментоядерных нейтрофилов, лейкоцитов, моноцитов, по сравнению с контрольной группой.

Применение Иммунала на фоне иммуносупрессии Метотрексатом имело тенденцию к

восстановлению количества сегментоядерных нейтрофилов, лейкоцитов, моноцитов, до уровня контрольной группы.

Таблица 1.

Подсчёт абсолютного количества лейкоцитов

Субпопуляции /группы животных	Контроль	Иммунал 5мл/кг	MTX 10 мг/кг	MTX+ Иммунал
Палочкоядерные нейтрофилы	0,05±0,02	0,02±0,008	0,01±0,005	0,04±0,02
Сегментоядерные нейтрофилы	1,06±0,16	0,81±0,13	0,46±0,073	0,87±0,16
лимфоциты	5,41±0,17	4,14±0,13	3,07±0,08	3,74±0,14
моноциты	0,20±0,04	0,27±0,03	0,01±0,001	0,24±0,05
эозинофилы	0,01±0,006	0,01±0,001	0,01±0,006	0,005±0,001
базофилы	0	0	0,003±0,0001	0

Таким образом, анализируя полученные результаты, установлено, что введение Иммунала 5 мл/кг не приводило к достоверным различиям показателей экспериментальных животных с контрольной группой животных. Важно отметить, что введение препарата Иммунал приводило к восстановлению изучаемых гематологических параметров на фоне введения Метотрексата, что отражает чувствительность компонентов периферической крови к биологически активным веществам эхинацеи. Препараты цитостатики часто используются в терапии аутоиммунных заболеваний, Метотрексат является одним из базисных препаратов в лечении ревматоидного артрита. Метотрексат проявляет цитотоксическое и иммунодепрессивное влияние за счет индуцирования оксидативного стресса и активации свободнорадикального окисления. Окислительный стресс возникает, когда баланс между активными формами кислорода и антиоксидантами нарушается, что приводит к нарушению регуляции клеточных функций и развитию различных патологических состояний[4, с.68].

Свободные радикалы снижают активность антиоксидантных ферментов и вызывают перекисное окисление липидов клеточных мембран, в том числе и у субпопуляций периферических лимфоцитов, и как следствие каскад реакций, приводящих к повреждению ДНК и апоптозу[2, с.23]. Эффект Иммунала вероятен благодаря предотвращению ПОЛ, поддержанию эндогенных антиоксидантных молекул и сверхэкспрессии генов, кодирующих антиоксидантные ферменты, тем самым предотвращая повреждение ДНК. Этот эффект, по-видимому, опосредован природными антиоксидантами (антоцианы, флавоноиды, полифенолы, витамин С и др.), которые значительно ослабляют окислительную угрозу и приводит к нормализации показателей[1,с.408].

Выводы:

Учитывая вышесказанное, подавление действия Метотрексата является следствием действия активации биологических веществ эхинацеи пурпурной, приводящих к восстановлению гематологических параметров периферической крови экспериментальных животных. Иммунал является перспективным препаратом для поддерживающей терапии в лечении аутоиммунных заболеваний с применением иммуносупрессантов, способствуя восстановлению гематологических параметров периферической крови и предотвращая появление осложнений в виде нарушений костномозгового кроветворения[3,с.52].

Список литературы:

1. Корженевский, А. А. Иммуноterapia на современном этапе: виды и тактика применения / А. А. Корженевский, Н. П. Корженевская. — Текст : непосредственный // Вестник РУДН. Серия: Медицина. . — 2022. — № 4. — С. 404-421.
2. Поиск предикторов токсичности метотрексата при ревматоидном артрите / И. В. Девальд, К. Ю. Мысливцова, Е. А. Ходус, Г. Л. Игнатова. — Текст : непосредственный // Клиницист. — 2023. — № 3. — С. 22-30.
3. Сорокин, О. В. ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЙ И ПРОТИВОВИРУСНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ECHINACEA SPP / О. В. Сорокин, А. С. Панова, М. А. Суботялов. — Текст : непосредственный // Врач. — 2021. — № 7. — С. 51-55.
4. Application and prospect of targeting innate immune sensors in the treatment of autoimmune diseases. / J. Liu, H. Zhang, Y. Su, B. Zhang. —// Cell & bioscience. — 2022. — № 12(1). — С. 68.
5. The potential of immunomodulators in shaping the future of healthcare. / Sharma, Y., Arora [и др.]. —// Discov Med. — 2024. — № 1. — С. 37.