

**Плетнев В.В., кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник,
Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии
Министерства здравоохранения Российской Федерации**

ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОТРОПНОГО ДЕЙСТВИЯ КАПЕЛЬ ПЛЕТНЕВА №7

Аннотация: характерной чертой начала 21-го века является существенный рост острых и хронических инфекционных заболеваний. Это является следствием снижения иммунологической реактивности всего населения планеты. На фоне снижения функций иммунной системы применение даже высокоэффективных антибиотиков последнего поколения не всегда дает хороший клинический эффект. В этой связи одной из важнейших проблем современной медицины становится коррекция ослабленных функций иммунной системы с помощью высокоэффективных иммуномодулирующих лекарственных средств, поиск и создание которых, являются актуальными.

Поэтому большой практический интерес представляло изучение иммуностропного действия капель Плетнева №7, т.к. во многих странах насчитывается большое количество пациентов с нарушениями в системе иммунитета, аутоиммунными и инфекционными заболеваниями. В результате исследования установлено, что на модели иммуносупрессии у мышей, вызванной циклофосфаном в дозе 150 мг/кг, капли Плетнева №7 в дозе 50 мкг/кг, (по сухому остатку) при разведении в теплой воде (37°-38°С) в соотношении 1:7, при пероральном назначении животным обладает выраженным иммуномодулирующим и антиоксидантным действием. Показано, что введение животным циклофосфана в дозе 150 мг/кг за 3 суток до иммунизации эритроцитами барана приводит к существенному подавлению иммунного ответа на эритроциты барана. Капли Плетнева №7, вводимые перорально в дозе 50 мкг/кг через 3 суток после введения циклофосфана, способствуют восстановлению гуморального иммунитета. Введение животным капель Плетнева №7 в дозе 50 мкг/кг, снижает индуцированную зимозаном хемиллюминесценцию спленоцитов и клеток периферической крови мышей.

Ключевые слова: иммуномодулирующее действие, капли Плетнева №7, доктор Плетнев

Введение

Характерной чертой начала 21-го века является существенный рост острых и хронических инфекционных заболеваний. Также наблюдается рост инфекционно-воспалительных заболеваний различной этиологии и локализации. Этиологическим фактором часто являются условно-патогенные или оппортунистические микробы, обладающие множественной устойчивостью к антибиотикам, с атипичными биологическими свойствами. Это является следствием снижения иммунологической реактивности всего населения планеты. На фоне снижения функций иммунной системы применение даже высокоэффективных антибиотиков последнего поколения не всегда дает хороший клинический эффект. В этой связи одной из важнейших проблем современной медицины становится коррекция ослабленных функций иммунной системы с помощью высокоэффективных иммуномодулирующих лекарственных средств, поиск и создание которых, являются актуальными.

В этой связи является актуальным изучение иммуностропных свойств комплексного растительного препарата «Капли Плетнева №7» (препарат №7).

Препарат №7 является комплексным растительным препаратом внутриаптечного изготовления, запатентованным в России (Патент РФ на изобретение №2600163 от 16.11.2015), для получения которого используются листья подорожника большого – *Folia Plantaginis majoris*, семейство подорожниковые – *Plantaginaceae* [1, 2, 4, 6, 7, 8].

Целью исследования являлось экспериментальное изучение иммуномодулирующего действия капель Плетнева №7.

Материалы и методы исследования

Исследование иммуностропного действия препарата №7 проведено в лаборатории отдела иммунодиагностики и иммунокоррекции ФГБУ «ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА Минздрава России (руководитель отдела д.м.н., проф. Б.В. Пинегин) в соответствии с требованиями Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств от 2012 года [3].

Исследования выполнены на 80 мышах-гибридах F₁(СВАхС₅₇В1₆).

Все болезненные процедуры при изучении иммуностропного действия препаратов проводили под анестезией. Эвтаназию животных после

завершения экспериментов проводили передозировкой диэтилового эфира.

Изучение действия препарата №7 проводили на модели иммуносупрессии, индуцированной цитостатиком циклофосфаном (ЦФ) на мышах-гибридах F₁(СВАхС₅₇В1₆) (самки, масса тела 18-20 г).

Индукцию иммуносупрессии вызывали однократным внутрибрюшинным введением мышам ЦФ в дозе 150 мг/кг за трое суток до их иммунизации эритроцитами барана (ЭБ) в субоптимальной дозе 2•10⁷. Через 4 суток после иммунизации оценивали состояние иммунной системы животных по числу антителообразующих клеток (АОК) в селезенке, уровню функциональной активности фагоцитов селезенки и периферической крови в тесте индуцированной хемилюминесценции (ХЛ). Определяли также массовые коэффициенты (МК) селезенки.

В момент выхода из карантина животных взвешивали и распределяли по группам по критерию массы тела, значения которого варьировали в пределах 18-22 г. В результате было сформировано 4 группы мышей, средняя масса которых колебалась в пределах 19,0±0,5 г.

Результаты оценки состояния иммунной системы мышей с индуцированной иммуносупрессией и влияния препарата №7 на отдельные показатели иммунитета выражали в виде индекса модуляции (ИМ) указанных параметров по отношению к таковому у животных, не получавших препарат №7 (группа 2).

Изучение изменений массы тела и селезенки животных проведено на 7 сутки эксперимента после эвтаназии мышей передозировкой диэтилового эфира.

Исследование влияния препарата №7 на гуморальный иммунитет проведено на мышах-гибридах F₁(СВАхС₅₇В1₆), которое оценивали по накоплению АОК в селезенках мышей на 4 сутки после иммунизации эритроцитами барана по методу Каннинггема.

Изучение влияния препарата №7 на хемилюминесценцию, индуцированную зимоза-

ном, выполняли на мышах-гибридах F₁(СВАхС₅₇В1₆). Селезенки извлекали и подсчитывали количество ядросодержащих клеток. Реакцию хемилюминесценции проводили в триплетах. Оценивали уровень спонтанной и индуцированной зимозаном (Sigma, 10 мкл 1% суспензии на пробу) хемилюминесценции по максимальным значениям кинетической кривой на хемилюминометре «Lum-5773» (Россия). Результаты по сумме 3-х измерений на каждую пробу выражали в виде среднего числа импульсов в мин на 100 мкл суспензии клеток и в пересчете на концентрацию клеток в соответствующей суспензии (x10⁶ для периферической крови).

Результаты и обсуждение

1. Оценка влияния препарата №7 на систему иммунитета животных на фоне иммуно-депрессии, вызванной циклофосфаном.

Исследования проведены на 4 группах мышей F₁(СВАхС₅₇В1₆) (самки, масса тела 18-20 г) по 10 животных в каждой: 1 группа – 1-я контрольная группа – животные, иммунизированные эритроцитами барана (ЭБ) без предварительного введения циклофосфана (ЦФ), вместо которого животные получали внутрибрюшинно физиологический раствор, 2 группа – 2-я контрольная группа – животные, иммунизированные ЭБ через 3 суток после введения ЦФ, 3 группа – животные, иммунизированные ЭБ через 3 суток после введения ЦФ и получавшие в желудок препарат №7 в дозе 50 мкг/кг через 3 ч, 1 сут, 2 сут и 3 сут после введения ЦФ (схема 1), 4 группа – животные, иммунизированные ЭБ через 3 суток после введения ЦФ и получавшие препарат №7 в дозе 50 мкг/кг через 3 ч, 4 сут, 5 сут и 6 сут после иммунизации ЭБ (схема 2).

В предварительных исследованиях мышам вводили перорально 50 мкг/кг препарата №7, при растворении в теплой воде (37°-38°С) в соотношении 1:7.

На 7 сутки эксперимента была осуществлена эвтаназия мышей передозировкой диэтилового эфира и определена масса тела и селезенки мышей. Результаты опыта представлены в табл. 1.

Таблица 1

Показатели массы тела и селезенки мышей*

Группы животных	Масса тела, г, М±m		Изменение массы тела, %	Масса селезенки, г (М±m)	ИМ массы селезенки
	Исходная	Конечная			
1 схема введения					
1 – контроль 1	19,0±0,26	19,4±0,22	+2,2	0,54±0,02	
3 – препарат №7	19,0±0,45	18,4±0,34	-3,6	0,55±0,031	1,06
2 схема введения					
2 – контроль 2	19,2±0,57	18,7±0,23	-2,6	0,52±0,018	1
4 – препарат №7	19,2±0,53	18,4±0,28	-4,3	0,56±0,033	1,08

* – индекс модуляции (ИМ) рассчитан по отношению к группе 2

Данные табл. 1 свидетельствуют, что пероральное введение мышам препарата №7 в дозе 50 мкг/кг не влияет на массу тела и селезенки животных.

2. Оценка влияния препарата №7 на гуморальный иммунитет.

Исследование влияния препарата №7 на гуморальный иммунный ответ по накоплению антителообразующих клеток (АОК) в селезенке лабораторных животных проведено на мышах-гибридах F₁(СВАхС₅₇Вl₆).

Исследования проведены на 4 группах мышей (самки, масса тела 18-20 г) по 10 животных в каждой: 1 группа – 1-я контрольная группа – животные, иммунизированные эритроцитами барана (ЭБ) без предварительного введения циклофосфана (ЦФ), вместо которого животные получали внутрибрюшинно физиологический раствор, 2 группа – 2-я контрольная группа –

животные, иммунизированные ЭБ через 3 суток после введения ЦФ, 3 группа – животные, иммунизированные ЭБ через 3 суток после введения ЦФ и получавшие препарат №7 в дозе 50 мкг/кг через 3 ч, 1 сут, 2 сут и 3 сут после введения ЦФ (схема 1), 4 группа – животные, иммунизированные ЭБ через 3 суток после введения ЦФ и получавшие препарат №7 в дозе 50 мкг/кг через 3 ч, 4 сут, 5 сут и 6 сут после иммунизации ЭБ (схема 2).

Индукцию иммуносупрессии проводили внутрибрюшинным введением мышам ЦФ в дозе 150 мг/кг за трое суток до их иммунизации эритроцитами барана (ЭБ) в субоптимальной дозе 2•10⁷. Влияние препарата №7 на гуморальный иммунитет оценивали по методу Каннинггея по накоплению АОК в селезенке мышей на 4 сутки после иммунизации.

Результаты представлены в табл. 2.

Таблица 2

Оценка влияния препарата №7 на показатели гуморального иммунного ответа у мышей

Группы животных	Количество АОК на селезенку		Количество АОК на 10 ⁶ спленоцитов	
	абсолютное	ИМ	абсолютное	ИМ
1 схема введения				
1 – контроль 1	6000±1672		50,2±8,48	
3 – препарат №7	733±69,2	0,60	4,2±0,40	1,04
2 схема введения				
2 – контроль 2	1230±89,1	1	7,3±0,53	1
4 – препарат №7	1851±194	1,51	10,7±1,12	1,47

Установлено, что введение животным ЦФ в дозе 150 мг/кг за 3 суток до иммунизации ЭБ приводит к существенному подавлению иммунного ответа на ЭБ (группа 2). Применение препарата №7 по схеме 2 (группа 4) приводит к ослаблению иммуносупрессии. Количество АОК у этих животных увеличивается в 1,5 раза по сравнению с контролем (группа 2).

Таким образом, введение животным ЦФ в дозе 150 мг/кг за 3 суток до иммунизации ЭБ приводит

к существенному подавлению иммунного ответа на ЭБ. Препарат №7, вводимый перорально в дозе 50 мкг/кг через 3 часа, 4, 5 и 6 суток после иммунизации животных эритроцитами барана, способствует восстановлению гуморального иммунитета.

3. Оценка влияния препарата №7 на хемилюминесценцию, индуцированную зимозаном.

При исследовании влияния препарата №7 на хемилюминесценцию, индуцированную зимозаном, кровь от мышей каждой группы забирали в пробирки с ЭДТА из ретроорбитального синуса (по 500 мкл от мыши).

Анализ изучения результатов хемилюминесценции спленоцитов показал, что введение

животным циклофосфана приводит к повышению индуцированной зимозаном хемилюминесценцию фагоцитов.

Пероральное введение животным препарата №7 в дозе 50 мкг/кг, при растворении в теплой воде (37°-38°С в соотношении 1:7), снижает индуцированную зимозаном хемилюминесценцию спленоцитов и клеток периферической крови. Результаты исследований представлены в табл. 3 и 4.

Таблица 3

Оценка влияния препарата №7 на хемилюминесценцию спленоцитов после ее стимуляции зимозаном

Группы животных	Имп/сек на 100 мкл суспензии кл. селезенки		Имп/сек на количество кл. в мкл • 10 ⁷	
	абсолютное	ИМ	абсолютное	ИМ
1 схема введения				
1 – контроль 1	1556±409		1170±307	
3 – препарат №7	899±200	0,20	1022±227	0,2
2 схема введения				
2 – контроль 2	4440±493	1	5224±580	1
4 – препарат №7	2698±65	0,61	3102±74	0,59

Таблица 4

Оценка влияния препарата №7 на хемилюминесценцию клеток периферической крови после ее стимуляции зимозаном

Группы животных	Имп/мин на 100 мкл суспензии кл. селезенки		Имп/мин на количество кл. в мкл • 10 ⁵	
	абсолютное	ИМ	абсолютное	ИМ
1 схема введения				
1 – контроль 1	7695±698		2387±217	
3 – препарат №7	4912±1593	0,28	1210±392	0,33
2 схема введения				
2 – контроль 2	17546±920	1	3709±195	1
4 – препарат №7	16418±993	0,94	3059±185	0,82

Таким образом, применение препарата №7 по схеме 1 в дозе 50 мкг/кг, при растворении в теплой воде (37°-38° С в соотношении 1:7), подавляет зимозаниндуцированную хемилюминесценцию спленоцитов и клеток периферической крови мышей.

Заключение

Большой практический интерес представляло также изучение иммуотропного действия препарата №7, т.к. во многих странах насчитывается большое количество пациентов с нарушениями в системе иммунитета, аутоиммунными и инфекционными заболеваниями.

В результате исследования установлено, что на модели иммуносупрессии у мышей, вызванной циклофосфаном в дозе 150 мг/кг, препарат №7 в

дозе 50 мкг/кг, (по сухому остатку) при разведении в теплой воде (37°-38° С) в соотношении 1:7, при пероральном назначении животным обладает выраженным иммуномодулирующим и антиоксидантным действием.

Показано, что введение животным ЦФ в дозе 150 мг/кг за 3 суток до иммунизации ЭБ приводит к существенному подавлению иммунного ответа на ЭБ. Препарат №7, вводимый перорально в дозе 50 мкг/кг через 3 суток после введения циклофосфана, способствует восстановлению гуморального иммунитета.

Введение животным препарата №7 в дозе 50 мкг/кг, снижает индуцированную зимозаном хемилюминесценцию спленоцитов и клеток периферической крови мышей.

Литература

1. Гончарова Т.А. Энциклопедия лекарственных растений: в 2 т. М.: Изд-во Дом МСП, 2004. Т. 1. С. 502 – 504.
2. Мазнев Н.И. Лекарственные растения. М.: ООО ИКТЦ «ЛАДА», 2006. С. 793 – 796.
3. Миронов А.Н., Бунатян Н.Д. и др. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К. 2012. 944 с
4. Муравьева Д.А., Самылина И.А., Яковлев Г.П. Фармакогнозия. М.: Медицина, 2002. С. 113.
5. Плетнев В.В. Комплексные растительные препараты внутриаптечного изготовления. Т. 1. Фармакотерапия внутренних болезней (Руководство). М.: ЛЕНАНД, 2016. 424 с.
6. Путырский И.Н., Прохоров В.Н. Лекарственные растения. Энциклопедия. Мн.: Книжный дом, 2003. С. 233 – 235.
7. Фитотерапия с основами клинической фармакологии / Под ред. В.Г. Кукеса. М.: Медицина, 1999. С. 61 – 62.
8. Формазюк В.И. Энциклопедия пищевых лекарственных растений / Под ред. Н.П. Максютинной. К.: Издательство А.С.К., 2003. С. 686 – 692.

References

1. Goncharova T.A. Enciklopediya lekarstvennyh rastenij: v 2 t. M.: Izd-vo Dom MSP, 2004. T. 1. S. 502 – 504.
2. Maznev N.I. Lekarstvennye rasteniya. M.: ООО ИКТЦ «LADA», 2006. S. 793 – 796.
3. Mironov A.N., Bunatyan N.D. i dr. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovanij lekarstvennyh sredstv. M.: Grif i K. 2012. 944 s
4. Murav'eva D.A., Samylina I.A., YAKovlev G.P. Farmakognoziya. M.: Medicina, 2002. S. 113.
5. Pletnev V.V. Kompleksnye rastitel'nye preparaty vnutriaptechnogo izgotovleniya. T. 1. Farmakoterapiya vnutrennih boleznej (Rukovodstvo). M.: LENAND, 2016. 424 s.
6. Putyrskij I.N., Prohorov V.N. Lekarstvennye rasteniya. Enciklopediya. Mn.: Knizhnyj dom, 2003. S. 233 – 235.
7. Fitoterapiya s osnovami klinicheskoy farmakologii / Pod red. V.G. Kukes. M.: Medicina, 1999. S. 61 – 62.
8. Formazyuk V.I. Enciklopediya pishchevyh lekarstvennyh rastenij / Pod red. N.P. Maksyutinoj. K.: Izdatel'stvo A.S.K., 2003. S. 686 – 692.

*Pletnev V.V., Candidate of Medical Sciences (Ph.D.), Senior Research Officer,
National Medical Research Center of Cardiology of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation*

STUDY OF THE IMMUNOTROPIC EFFECT OF PLETNEV DROPS NO. 7

Abstract: a characteristic feature of the early 21st century is a significant increase in acute and chronic infectious diseases. This is a consequence of a decrease in the immunological reactivity of the entire population of the planet. Against the background of reduced immune system functions, the use of even highly effective antibiotics of the latest generation does not always give a good clinical effect. In this regard, one of the most important problems of modern medicine is the correction of weakened immune system functions with the help of highly effective immunomodulatory drugs, the search and creation of which are relevant.

Therefore, the study of the immunotropic effect of Pletnev drops No. 7 was of great practical interest, as in many countries there are a large number of patients with disorders in the immune system, autoimmune and infectious diseases. As a result of the study, it was found that on the model of immunosuppression in mice caused by cyclophosphane at a dose of 150 mg/kg, Pletnev drops No. 7 at a dose of 50 µg/kg (by dry residue) when diluted in warm water (37°-38°C) in a ratio of 1:7, when administered orally to animals, have an expressed immunomodulatory and antioxidant effect. It is shown that the introduction of cyclophosphane in animals at a dose of 150 mg/kg 3 days before immunization with sheep red blood cells leads to a significant suppression of the immune response to sheep red blood cells. Pletnev drops No. 7, administered orally at a dose of 50 µg /kg 3 days after the introduction of cyclophosphane, contribute to the restoration of humoral immunity. Injection of Pletnev drops No. 7 to animals at a dose of 50 µg/ g reduces the chemiluminescence of splenocytes and peripheral blood cells of mice induced by zymosan.

Keywords: immunomodulating effect, Pletnev drops No. 7, doctor Pletnev