



УДК 582.912.46:547.965

ИММУНОМЕТАБОЛИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОМПЛЕКСОВ ШРОТА ПОЛЫНИ ГОРЬКОЙ (*ARTEMISIA ABSINTHIUM* L.) ПРИ СТАФИЛОКОККОВОЙ ИНФЕКЦИИ

**А.П. СЕВЕРИН
Л.Е. СИПЛИВАЯ
В.Я. ЯЦЮК**

*Курский государственный
медицинский университет*

e-mail: imbo118@rambler.ru

В статье изложены результаты исследования иммунометаболической эффективности липофильного и гидрофильного комплексов, выделенных из шрота полыни горькой после получения настойки, при стафилококковой инфекции. Установлено, что комплексы, выделенные из шрота полыни горькой, проявляют выраженную анальгетическую, противовоспалительную и антимикробную активность. Липофильный и гидрофильный комплексы в условиях стафилококковой инфекции оказывают антиоксидантное и иммуностимулирующее действие.

Ключевые слова: шрот полыни горькой, стафилококковая инфекция, иммунометаболическая эффективность.

Введение. В настоящее время отмечается рост инфекционных заболеваний, возбудителями которых являются стафилококки: воспалительные заболевания легких, почек, печени и многие другие [15]. Инфекционные патологии сопровождаются чрезмерной активацией окислительных процессов, что приводит к срыву антиоксидантной защиты, нарушению структуры клеточных мембран, выходу в кровяное русло продуктов повышенного метаболизма клеток, приводящих к развитию метаболической иммуносупрессии [7, 9, 16]. Указанные нарушения могут быть одной из причин изменения чувствительности клеток к лекарственным препаратам.

При инфекционной патологии, и в частности при стафилококковой инфекции, широко используются антибиотики различных групп, которые наряду с мощным бактерицидным действием вызывают усугубление иммунометаболических нарушений, что диктует необходимость дополнительной коррекции. В последнее время в комплексное лечение все большего количества заболеваний входят средства растительного происхождения, характеризующиеся низкой токсичностью, широким спектром фармакологической активности, минимальным количеством побочных реакций при длительном применении. Особенный интерес представляет, наряду с внедрением в официальную медицину новых растений, ресурсосберегающее использование отходов промышленной переработки разрешенного к применению растительного сырья. К числу таких объектов относится полынь горькая, которая в официальной медицине используется в виде настойки как желчегонное и средство для возбуждения аппетита.

Целью работы было исследование иммунометаболической эффективности комплексов биологически активных веществ, выделенных из шрота полыни горькой, при введении стафилококка.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования служили липофильный комплекс, представляющий собой смесь каротиноидов, терпеноидов, хлорофилла, жирных кислот и других органических веществ (комплекс А), и полисахаридный комплекс (комплекс В), полученные из шрота полыни горькой.

Опыт проводили на крысах Вистар массой 150-200 г и мышцах СВА массой 19-21 г. Модель генерализованной стафилококковой инфекции воспроизводили путем заражения животных суточной агаровой культурой *Staphylococcus aureus*, приготовленной на 0,9% растворе натрия хлорида. Животных инфицировали внутрибрюшинной инъекцией предварительно оттитрованных доз стафилококка, содержащих 1×10^8 или 2×10^9 микробных тел (летальная доза) в объеме 0,1 или 0,5 мл. Наблюдение за инфицированными летальной дозой мышцами проводили в течение 10 дней с момента инфицирования. На протяжении этого периода определяли выживаемость мышца в процентах по отношению к контролю. Для исследования биологической активности комплекс А растворяли в оливковом масле, а комплекс В в воде. Комплексы А и В вводили внутрибрюшинно, однократно, растворенные в 0,5 или 0,1 мл растворителя.

Исследовали различные виды фармакологической активности. Предварительно определяли острую токсичность на здоровых животных по методике [14]. С этой целью мышцам внутрибрюшинно вводили комплекс А в дозах от 3 мг/кг до 15 мг/кг или комплекс В в дозах от 50 мг/кг до 250 мг/кг в 0,1 мл соответствующего растворителя. Наблюдение за животными проводили в течение 24 часов. Исследование анальгетической активности комплексов А и В проводили на мышцах с



использованием методики «уксусных корчей» и модели формалиновой болевой реакции [2, 13]. «Уксусные корчи» вызывали внутрибрюшинным введением 3% уксусной кислоты в дозе 300 мг/кг. В течение 20 минут после инъекции уксусной кислоты учитывали количество судорожных сокращений брюшных мышц. Формалиновую болевую реакцию вызывали введением мышам под кожу спинки 25 мкл 0,5% раствора формалина. Оценка активности исследуемого комплекса проводили подсчитыванием числа болевых реагирований – облизывания брюшка или спинки в течение первых 5 минут (I фаза) и от 15 до 20 минут (II фаза). Для изучения анальгетической активности комплекс А вводили внутрибрюшинно, однократно, в дозе 3 мг/кг, а комплекс В в дозе 50 мг/кг, в качестве препарата сравнения использовали анальгин в дозе 5 мг/кг.

Модель острого асептического воспаления воспроизводили введением в подушечку правой задней лапки 0,05 мл 3,5% раствора формалина на физиологическом растворе [12]. Результаты влияния комплексов А и В на тяжесть воспалительного отека оценивали через 24 часа после инъекции формалина по разнице масс воспаленных и контрольных лапок по отношению к весу животных.

Изучение антимикробной активности проводили методом диффузии в агар и методом серийных разведений. Для определения антимикробной активности комплексов А и В в отношении *Staphylococcus aureus*, готовили суспензии в следующих разведениях: 2000 мкг/мл, 1000 мкг/мл, 500 мкг/мл, 250 мкг/мл, 125 мкг/мл, 65 мкг/мл, 32 мкг/мл на стерильном физиологическом растворе.

Иммунометаболическую эффективность комплексов оценивали по антиоксидантной, иммуномодулирующей и протективной активностям. Антиоксидантную активность комплексов А и В определяли вначале *in vitro* по методике [10]. Оценка антиоксидантной активности (АОА) и антиоксидантной способности (АОС) проводили по формулам 1 и 2:

$$1) \text{АОА} = \frac{V_1 \times C \times 10}{V_2} \quad \text{и} \quad 2) \text{АОС} = \frac{1}{\text{АОА}'}$$

где V_1 – объем раствора определяемого комплекса, пошедшего на титрование калия перманганата, мл; V_2 – объем раствора калия перманганата, мл; C – концентрация раствора определяемого комплекса, в %.

Для оценки антиоксидантной активности комплексов *in vivo* в сыворотке крови определяли концентрацию малонового диальдегида (МДА) [11], ацилгидроперекисей (АГП) [1], оценивали активность супероксиддисмутазы эритроцитов (СОД) [5]. Для определения влияния комплексов на развитие иммунного ответа у инфицированных стафилококком животных определяли интенсивность гуморального иммунного ответа по количеству антителообразующих клеток в селезенке (АОК) по методике [6] и выраженность гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) по разнице масс подкожных лимфатических узлов (РМЛ) и разнице количества кариоцитов (РКЛ) по методике [8]. ГИО индуцировали эритроцитами барана (ЭБ), которые вводили внутрибрюшинно, однократно, из расчета 1×10^9 клеток на 1 кг массы тела. Для индукции ГЗТ внутрибрюшинно вводили 1×10^6 ЭБ (сенсibiliзирующая доза). Через 4 суток в подушечку правой лапки вводили 1×10^8 ЭБ (разрешающая доза). Одновременно с введением ЭБ (для ГЗТ сенсibiliзирующей дозы) внутрибрюшинно вводили комплексы А и В в количестве 3 мг/кг и 50 мг/кг соответственно.

Статистическую обработку результатов проводили путем вычисления средних арифметических изучаемых показателей и их стандартных отклонений. Существенность различий средних величин оценивали по критериям Стьюдента и Вилкоксона-Манна-Уитни [3, 4].

Результаты исследования и их обсуждение. Определение острой токсичности комплексов А и В показало, что исследуемые комплексы обладают низкой токсичностью, так как при введении изучаемых доз ни одно животное не погибло в течение 24 часов. Оценка анальгетической активности комплексов А и В показала более высокую активность комплекса А как при кининовой болевой реакции (модель «уксусных корчей»), так и антиоцептивную активность в обеих фазах формирования болевой реакции. Оценка интенсивности воспалительного процесса показала, что комплекс А проявляет выраженное противовоспалительное действие, интенсивность отека снижается на 28,8 % (табл. 1).

Таблица 1

Противовоспалительная активность комплекса А

Условия опыта	Доза, мг/кг	Оценка воспаления	
		Интенсивность отека, %	ИГ
1. Контроль (масло)	0,2	0	-
2. Масло+формалин	0,2	100	89,4
3. Формалин+комплекс А	3	71,2	56,2



Изучение антистафилококковой активности изучаемых доз комплексов А и В показало высокую чувствительность *Staphylococcus aureus* к действию обоих комплексов. Наиболее активные дозы лежат в пределах от 65 мкг/мл до 500 мкг/мл и выше.

Определение антиоксидантной активности *in vivo* показало, что комплексы А и В проявляют достаточно высокую антиоксидантную активность, которая сопоставима с аналогичной активностью аскорбиновой кислоты. Результаты по изучению антиоксидантной активности *in vivo* комплексов А и В представлены в табл. 2.

Таблица 2

Антиоксидантная активность комплексов А и В у животных при введении стафилококка

Условия опыта	СОД, ЕД/мл эритроцитов	АГП, ΔД233/мл	МДА, мкмоль/л
1. Контроль (здоровые крысы)	57,2±5,1	1,8±0,2	38,1±3,2
2. Введение стафилококка	35,1±4,2* ¹	2,9±0,3* ¹	63,1±5,4* ¹
3. Введение стафилококка и комплекса А	54,2±4,8* ²	1,6±0,2* ²	34,3±2,9* ²
4. Введение стафилококка и комплекса В	51,8±4,4* ²	1,5±0,1* ²	32,9±2,8* ²

- - достоверные отличия при $p \leq 0,05$.

Приведенные в таблице данные убедительно показывают, что комплексы А и В проявляют выраженные антиоксидантные свойства на модели стафилококковой инфекции.

При стафилококковой инфекции наблюдается резкое снижение иммунологической реактивности организма. Изучение влияния комплексов А и В на интенсивность ГИО и ГЗТ на Т-зависимый антиген – эритроциты барана (ЭБ) в условиях стафилококковой инфекции показало их достоверную иммуностимулирующую активность (табл. 3).

Таблица 3

Иммуномодулирующая активность комплексов А и В у животных при введении стафилококка

Условия опыта	АОК, 10 ³ /селезенка	РМЛ, мг	РКЛ×10 ⁶
1. Контроль	28,4±2,7	4,6±0,4	5,1±0,5
2. Введение стафилококка	14,2±1,5* ¹	3,1±0,3* ¹	3,9±0,3* ¹
3. Введение стафилококка и комплекса А	26,2±2,2* ²	4,2±0,4* ²	4,6±0,4* ²
4. Введение стафилококка и комплекса В	29,1±2,6* ²	4,7±0,4* ²	5,2±0,5* ²

Примечание: * – достоверные отличия при $p \leq 0,05$.

Оценка протективной активности комплексов А и В показала, что в группах мышей, инфицированных летальной дозой стафилококка, к 10-му дню погибло 100% животных; в группе животных, получавших комплекс А, – 45%; в группе мышей, получавших комплекс В, – 35%. Полученные результаты свидетельствуют о достаточно высокой протективной активности выделенных комплексов.

Выводы. Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что липофильный и гидрофильный комплексы, выделенные из шрота полыни горькой, проявляют выраженную антиоксидантную и иммуностимулирующую активность, наряду с этим показано, что выделенные комплексы проявляют широкий диапазон фармакологической активности: анальгетическую, противовоспалительную, антимикробную.

Литература

1. Бенисевич, В.И. Образование перекисей непредельных жирных кислот в оболочке эритроцитов при болезни Маркиафава-Микели / В.И. Бенисевич, Л.И. Идельсон // Вопросы медицинской химии. – 1973. – Т. 19, вып. 6. – С. 596-599.
2. Гацура, В.В. Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ / В.В. Гацура. – М.: Медицина, 1974. – 143 с.
3. Гублер, Е.В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов / Е.В. Гублер. – Л.: Медицина, 1978. – 294 с.
4. Гублер, Е.В. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях / Е.В. Гублер, А.А. Генкин. – Л.: Медицина, 1973. – 141 с.



5. Макаренко, Е.В. Комплексное определение активности супероксиддисмутазы и глутатионредуктазы в эритроцитах больных с хроническими заболеваниями печени / Е.В. Макаренко // Лабораторное дело. – 1988. – № 11. – С. 48-50.
6. Мальберг, К. Метод локального гемолиза / К. Мальберг, Э. Зигль // Иммунологические методы : пер. с англ. – М. : Медицина, 1987. – С. 262-267.
7. Маянский, А.Н. Феномен высокоизбирательного взаимодействия между нейтрофилами человека и стафилококком / А.Н. Маянский, Т.В. Коликова, Н.А. Маянский // Иммунология. – 1997. – № 3. – С. 25-28.
8. Руководство по иммунологическим методам в гигиенических исследованиях / Т.В. Федосеева, Л.В. Порядин, Л.В. Ковальчук и др. – М., 1993. – 319 с.
9. Снимщикова, И.А. Иммунопатогенетическая и клиническая характеристика эффективности локальной иммунокоррекции при некоторых гнойно-воспалительных заболеваниях / И.А. Снимщикова : автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Курск, 2001. – 42 с.
10. Способ определения антиоксидантной активности : пат. 2170930 Рос. Федерация: МПК7 G 01 N 33/50, G 01 N 33/52 / Т.В. Максимова, И.Н. Никулина, В.П. Пахомов [и др.]; заявитель и патентообладатель Моск. мед. акад. - № 2200011126/14; заявл. 05.05.2000; опубл. 20.07.2001.
11. Стальная, И.Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И.Д. Стальная, Т.Г. Гарипвили // Современные методы в биохимии / под ред. В.Н. Ореховича. – М. : Медицина, 1977. – С. 66-68.
12. Стрельников, Ю.Е. Сравнительная характеристика противовоспалительного действия некоторых пиримидиновых производных / Ю.Е. Стрелков // Фармакология и токсикология. – 1960. – Т. 23, № 6. – С. 526-531.
13. Тринус, Ф.П. Методы скрининга и фармакологического изучения противовоспалительных, анальгезирующих и жаропонижающих веществ : метод. руководство / Ф.П. Тринус, В.М. Клебанов, Н.А. Мохорт. – Киев, 1974. – 29 с.
14. Штабский, Б.М. К методике определения среднесмертельных доз и концентраций химических веществ / Б.М. Штабский // Гигиена и санитария. – 1980. – № 10. – С. 49-61.
15. Kagami, K. Ransenshogakuzasshi/L.Horhammer, L. Farkas, H. Wagner // J.Jap.Assoc.Infec.Diseases. – 1997. – V. 71, № 11. – P. 1108-1112.
16. Yamada, H. Studies on polysaccharides from Angelica acutiloba / H. Yamada, H. Kiyohara // Mol. Immunol. – 1985. – V. 22, № 3. – P. 295-304.

IMMUNOMETABOLIC EFFICIENCY OF ARTEMISIA ABSINTHIUM L. EXTRACTION CAKE COMPLEXES AT THE STAPHYLOCOCCOSIS

**A.P. SEVERIN
L.E. SIPLIVAYA
V.Y. YATSUK**

Kursk State Medical University
e-mail: imbo118@rambler.ru

In this article we have presented the results of immunometabolic efficiency researching of lipophilic and hydrophilic complexes, allocated from *Artemisia absinthium* L. extraction cake after receiving tincture, at a staphylococcosis. It is established, that the complexes, allocated from *Artemisia absinthium* L. extraction cake, show expressed analgesic, anti-inflammatory and antimicrobial activities. In the conditions of a staphylococcosis, lipophilic and hydrophilic complexes have antioxidant and immunostimulating effects.

Keywords: extraction cake of *Artemisia absinthium* L., staphylococcosis, immunometabolic efficiency.