

ИММУНОФАРМАКОЛОГИЯ

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ИММУНОТРОПНОГО ДЕЙСТВИЯ АРАБИНОГАЛАКТАНА И ПЕКТИНОВЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ ИЗ ФЕРУЛЫ КУХИСТАНСКОЙ

Ж. И. Исламова, М. Х. Маликова, З. А. Хушбакова,
Р. К. Рахманбердиева, В. Н. Сыров¹

Показано, что арабиногалактан и пектиновые полисахариды, выделенные из *Ferula kuchistanica*, при введении мышам обладают способностью стимулировать первичный иммунный ответ, увеличивая число антителообразующих клеток в селезенке в ответ на иммунизацию эритроцитами барана, как у интактных (в среднем на 51,0 %, $p < 0,005$), так и животных с вторичным иммунодефицитным состоянием, вызванным облучением (в среднем на 164,4 %, $p < 0,005$). Под влиянием исследуемых веществ также заметно повышается функциональное состояние клеток мононуклеарной фагоцитирующей системы (в среднем на 27,0 %, $p < 0,005$).

Ключевые слова: арабиногалактан; пектиновые полисахариды; *Ferula kuchistanica*; иммуностимулирующее действие.

ВВЕДЕНИЕ

Ферула кухистанская (*Ferula kuchistanica* Korov.) широко распространена в Центрально-азиатском регионе. Ранее сообщалось о выделении из этого растения сложных эфиров терпеноидных спиртов, обладающих выраженной эстрогеноподобной активностью [5, 10]. Ферула кухистанская также привлекает к себе внимание наличием в ней значительного количества арабиногалактана и пектиновых полисахаридов, представляющих большой интерес для использования их в качестве пребиотических средств [3]. Учитывая, что в последние годы интерес к веществам такого типа существенно возрос из-за выявления у них выраженного иммуномодулирующего действия [8, 12], в данной работе арабиногалактан и пектиновые полисахариды из ферулы кухистанской были рассмотрены в плане их возможного использования в качестве стимуляторов иммуногенеза в организме животных.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Используемый в работе арабиногалактан (АГЛ) и пектиновые полисахариды (ППС) из надземной части *F. kuchistanica* выделяли как описано в [1, 2] в лаборатории химии высокомолекулярных соединений ИХРВ АН РУз. Арабиногалактан-гетерополисахарид с ММ 10000 – 40000 Да состоит из галактозы, глюкозы, арабинозы в соотношении 4,5:1,0:4,3 и 14 % уроновых кислот. Пектиновые полисахариды состоят из рамнозы, арабинозы, глюкозы и галактозы в соотношении 6,2:1,0:3,2:1,4 и 20 % уроновых кислот, являются высокоэтерифицированными пектинами со степенью этерификации 76,7 %, относительной вязкостью 8,4 (с 1 % H₂O) и ММ 25,5 кДа.

Пектиновые полисахариды охарактеризованы как вещества с основной полигалактуроновой цепью, в которой остатки галактуроновой кислоты соединены α -1 → 4 гликозидными связями.

Опыты проводили на 120 белых беспородных мышак обоего пола массой 10 – 12 г, полученных из питомника СЭС Медико-санитарного объединения при МЗ РУз. Животных содержали в стандартных условиях вивария со свободным доступом к воде и корму. Эксперименты проводились в соответствии с международными соглашениями о гуманном обращении с животными (The European Communities Council Directives of 24 November 1986 – 806/609/ЕЕС). Были использованы как интактные животные, так и животные с развившимся вторичным иммунодефицитным состоянием вследствие их тотального облучения в сублетальной дозе 5 Гр. Влияние АГЛ и ППС на первичный иммунный ответ оценивали по числу антителообразующих клеток (АОК) в селезенке мышей на 5 день после антигенной нагрузки эритроцитами барана (ЭБ) внутрибрюшинно в дозе $2 \cdot 10^7$ /мышь [11]. Исследуемые АГЛ и ППС вводили в желудок в виде водного раствора (250 мг/кг) одновременно с иммунизацией. Помимо числа АОК в селезенке подсчитывали общее количество клеток в центральных (тимус, костный мозг) и периферических (селезенка, брыжеечные лимфатические узлы) органах иммунитета. В случае использования облученных животных исследованные вещества и избранный тимус-зависимый антиген вводили также, как и интактным животным, но по прошествии 5 дней после облучения. Дальнейший ход эксперимента был аналогичным.

Для изучения влияния АГЛ и ППС на изменение функциональной активности перитонеальных макрофагов их извлекали промыванием брюшной полости 3 мл среды 199 с гепарином, дважды отмывали холодной водой и доводили до необходимой концентрации клеток.

¹ Институт химии растительных веществ им. акад. С. Ю. Юнусова АН РУз, Узбекистан, 100170, Ташкент, ул. Мирзо-Улугбек, 77; e-mail: zainab@icps.org.uz

Исследование функциональной активности фагоцитов проводили с использованием стандартных микросфер латекса диаметром 1,2 мкм [7, 9]. Рассчитывали процент активно фагоцитирующих клеток перитонеального экссудата и фагоцитарный индекс, соответствующий числу частиц латекса, поглощенных одним макрофагом. АГЛ и ППС в данном случае вводили за 1 сут до опыта.

Выведение животных из эксперимента осуществляли методом цервикальной дислокации под легким ингаляционным наркозом. Все полученные данные подвергались статистической обработке с использованием *t*-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные в ходе экспериментов данные показали, что АГЛ и ППС, выделенные из *F. kuchistanica*, проявляют определенное иммуностимулирующее действие. Как видно из табл. 1, их введение интактным мышам стимулирует процесс первичного антителообразования, проявляющийся увеличением в селезенке животных АОК, секретирующих IgM в ответ на иммунизацию ЭБ. Так, если в селезенке мышей данной серии экспериментов образуется (5100 ± 382) АОК, то в селезенке животных, получавших АГЛ и ППС, их количество возрастает на 60,8 и 41,2 %, $p < 0,005$ (при пересчете числа АОК на 1 млн спленоцитов это увеличение составило 20,7 и 12,7 %, соответственно). В некоторых работах последнего времени также показано, что пектиновые полисахариды, помимо гуморального, могут существенно активировать и клеточное звено иммунитета [6]. Количество клеток тимуса, костного мозга, ядродержащих клеток селезенки, брыжеечных лимфатических узлов возрастало под действием АГЛ на 64,2; 54,1; 32,9 и 44,3 %, а под действием ППС на 39,7; 42,6; 25,3 и 40,6 %, $p < 0,005$.

В серии опытов с АГЛ и ППС обращала на себя внимание еще одна сторона действия, подтверждающая их способность оказывать влияние на процессы иммуногенеза в организме. Это касается влияния исследуемых веществ на поглотительную функцию перитонеальных макрофагов. Из табл. 2 видно, что под их влиянием отмечается достоверное увеличение числа клеток, захватывающих частицы латекса на 29,8 и 24,3 %, соответствен-

но. При этом заметно повышается фагоцитарный индекс, что однозначно свидетельствует об интенсификации под действием данных веществ процесса фагоцитоза. Активирующее влияние АГЛ и ППС на функциональное состояние клеток мононуклеарной фагоцитирующей системы, играющей большую роль в распознавании чужеродных для организма субстанций, их элиминации или представления в иммуногенной форме другим иммунокомпетентным клеткам, по-видимому, также играет важную роль в проявлении этими соединениями иммуностимулирующего действия [4]. Полученные результаты во многом перекликаются с данными некоторых исследователей, изучавших действие веществ, сходных по структуре с рассматриваемыми в этой работе [13]. Еще более четко иммуностимулирующее действие АГЛ и ППС проявилось на фоне вторичного иммунодефицитного состояния, вызванного облучением животных. В этом случае число АОК в селезенках мышей уменьшалось на 95,3 % (при пересчете числа АОК на 1 млн спленоцитов их уменьшение составляло 86,4 %, табл. 1).

Серьезные изменения наблюдались и в общей клеточности тимуса, костного мозга, селезенки и лимфатических узлов. При облучении их количество уменьшалось на 72,2; 60,7; 65,3 и 82,1 %. Животные, которые получали на фоне облучения АГЛ и ППС, характеризовались совсем иными параметрами, отражающими состояние иммунореактивности их организма. Число АОК в селезенках животных было выше по отношению к соответствующему контролю (облученные животные) на 187,5 и 141,2 % (при пересчете числа АОК на 1 млн спленоцитов эффект составлял 43,2 и 36,4 %). Количество клеток тимуса, костного мозга, ядродержащих клеток селезенки и лимфатических узлов при облучении под действием АГЛ и ППС было выше, чем в контроле на 69,0 – 54,8; 50,0 – 45,8; 101,1 – 75,9 и 73,7 – 63,2 % (табл. 1). Что касается перитонеальных фагоцитирующих макрофагов, то в результате облучения мышей их количество понижалось на 72,6 %, а их фагоцитарный индекс падал на 53,8 %. Введение же облученным животным АГЛ и ППС препятствовало столь резкому уменьшению числа макрофагов и оказывало позитивное влияние на их поглотительную функцию. При введении АГЛ количество макрофагов было выше соответствующего контроля на 241,9 %

Таблица 1. Влияние арабиногалактана и пектиновых полисахаридов из *F. kuchistanica* на иммунобиологическое состояние организма животных в норме и при вторичном иммунодефиците, вызываемым облучением ($M \pm m$, $n = 10$)

Условия эксперимента	Количество АОК на		Количество клеток, · 10 ⁶			
	всю селезенку	10 ⁶ клеток селезенки	тимуса	костного мозга	селезенки (ядродержащих)	лимфатических узлов
Интактные животные	5100 ± 382,4	32,3 ± 1,8	30,2 ± 2,8	12,2 ± 1,2	158 ± 10,6	21,2 ± 1,9
Арабиногалактан	8200 ± 492,4*	39,0 ± 2,2*	49,6 ± 4,6*	18,8 ± 2,2*	210 ± 12,4*	30,6 ± 3,2*
Пектиновые полисахариды	7200 ± 480,3*	36,4 ± 3,8	42,2 ± 3,2*	17,4 ± 1,8*	198 ± 11,4*	29,8 ± 2,8*
Облучение (контроль)	240 ± 10,6*	4,4 ± 0,2*	8,4 ± 0,8*	4,8 ± 0,4*	54,8 ± 4,2*	3,8 ± 0,3*
Облучение + арабиногалактан	690 ± 18,4***	6,3 ± 0,4***	14,2 ± 1,2***	7,2 ± 0,6***	110,2 ± 12,4***	6,6 ± 0,5***
Облучение + пектиновые полисахариды	580 ± 16,2***	6,0 ± 0,4***	13,0 ± 0,9***	7,0 ± 0,6***	96,4 ± 5,6***	6,2 ± 0,4***

* Достоверность к показателям интактных животных, ** к соответствующему контролю (уровень достоверности принят при $p < 0,005$).

Таблица 2. Влияние арабиногалактана и пектиновых полисахаридов из *F. kuchistanica* на показатели функциональной активности перитонеальных макрофагов у мышей в норме и при вторичном иммунодефиците, вызванном облучением ($M \pm m, n = 10$)

Условия эксперимента	Показатели фагоцитоза	
	активно фагоцитирующие клетки, %	фагоцитарный индекс
Интактные животные	45,2 ± 2,4	2,6 ± 0,16
Арабиногалактан	58,7 ± 3,6*	3,6 ± 0,24*
Пектиновые полисахариды	56,2 ± 3,4*	3,2 ± 0,20*
Облучение (контроль)	12,4 ± 1,2*	1,2 ± 0,12*
Облучение + арабиногалактан	42,4 ± 3,4**	2,2 ± 0,18**
Облучение + пектиновые полисахариды	36,8 ± 2,8***	1,8 ± 0,16***

* Достоверность к показателям интактных животных;
** к соответствующему контролю (уровень достоверности принят при $p < 0,005$).

и всего на 6,2 % отличалось от их количества у интактных животных. При введении ППС количество перитонеальных макрофагов было выше контроля на 196,7 % и отличалось от интактного значения на 18,6 %. Фагоцитарный индекс в первом случае повышается на 83,3 %, во втором — на 50,0 %.

Таким образом, арабиногалактан и пектиновые полисахариды, выделенные из *Ferula kuchistanica*, способны при пероральном введении животным оказывать стимулирующее влияние на иммунную реактивность, воздействуя как на факторы гуморального иммунитета, так и активируя функциональное состояние клеток мононуклеарной фагоцитирующей системы.

ВЫВОДЫ

1. Арабиногалактан и пектиновые полисахариды, выделенные из ферулы кухистанской (*Ferula kuchistanica*) оказывают стимулирующее влияние на гуморальный иммунитет, повышая число АОК селезенки мышей на 60,8 и 41,2 %, соответственно, при $p < 0,005$ в ответ на иммунизацию эритроцитами барана.

2. Арабиногалактан и пектиновые полисахариды из ферулы кухистанской способствуют активации мононук-

леарной фагоцитирующей системы, что проявляется как в увеличении числа клеток, захватывающих частицы латекса на 29,8 и 24,3 %, соответственно, при $p < 0,005$, так и в повышении величины фагоцитарного индекса на 38,5 и 23,1 %, соответственно, при $p < 0,005$.

3. Иммуотропное действие арабиногалактана и пектиновых полисахаридов проявляется не только у интактных животных, но и у животных, подвергшихся радиационному облучению, причем в этом случае их эффект проявляется, как правило, в более выраженной степени (число АОК возрастает на 187,5 на 141,2 %, соответственно, при $p < 0,005$, количество перитонеальных фагоцитирующих макрофагов — на 241,9 и 196,7 %, соответственно, $p < 0,005$).

ЛИТЕРАТУРА

3. Э. Ёркулов, М. Х. Маликова, Р. К. Рахманбердиева, *Химия природ. соедин.*, № 2, 169 – 171 (2011).
3. Э. Ёркулов, М. Х. Маликова, Р. К. Рахманбердиева, *Пектиновые вещества Ferula kuchistanica и Ferula tenuisecta*, Междунар. конф. “Наука о полифенолах: вклад в инновационное развитие экономики”, Ташкент (2011), сс. 217.
- Ж. И. Исламова, Д. К. Огай, Р. К. Рахманбердиева и др., *Рос. ж. гастроэнтерол., гепатол., колпол.*, **24**(5), 106 (2014), приложение № 44.
- А. Н. Маянский, Д. Н. Маянский, *Очерки о нейтрофиле и макрофаге*, Новосибирск (1989).
- С. С. Назруллаев, А. Н. Саидходжаев, Х. С. Ахмедходжаева и др., *Химия природ. соедин.*, № 5, 463 – 467 (2008).
- Ю. С. Оводов, В. В. Головиченко, Е. А. Гюнтер, С. В. Попов, *Пектиновые вещества растений Европейского Севера России*, Екатеринбург (2009).
- Е. У. Пастер, В. В. Овод, В. К. Позур, Н. Е. Вихоть, *Иммунология*, Практикум, Киев (1989).
- Б. С. Утешев, И. Л. Ласкова, В. А. Афанасьев, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **62**(6), 52 – 55 (1999).
- И. С. Фрейдлин, *Система мононуклеарных фагоцитов*, Москва (1984).
- З. А. Хушбактова, С. С. Назруллаев, Х. С. Ахмедходжаева и др., *Раст. ресурсы*, **47**(1), 136 – 160 (2011).
- N. K. Jerne, A. A. Nordin, *Science*, **140**, 405 (1963).
- B. S. Paulsen, H. Barsett, *Adv. Polym. Sci.*, **186**, 69 – 101 (2005).
- S. V. Popov, G. Yu. Popova, R. G. Ovodova, et al., *Int. J. Immunopharmacol.*, **21**, 617 – 624 (1999).

Поступила 26.08.15

EXPERIMENTAL ASSESSMENT OF THE IMMUNOTROPIC EFFECTS OF ARABINOGALACTAN AND PECTINACEOUS POLYSACCHARIDES ISOLATED FROM *FERULA KUCHISTANICA*

Zh. I. Islamova, M. Kh. Malikova, Z. A. Khushbaktova*, R. K. Rakhmanberdyeva, and V. N. Syrov

S. Yu. Yunusov Institute of Chemistry of Plant Substances, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, ul. Mirzo-Ulugbek, 77, Tashkent, 100170 Uzbekistan;

* e-mail: zainab@icps.org.uz

It is established that arabinogalactan and pectinaceous polysaccharides isolated from *Ferula kuchistanica* are capable of stimulating a primary immune response in mice by increasing the number of antibody-producing cells in the spleen in response to immunization with sheep red blood cells in both intact animals (on average by 51.0%; $p < 0.005$) and those with secondary immunodeficiency caused by irradiation (on average by 164.4%; $p < 0.005$). The treatment with compounds studied also significantly increased the functional condition of cells of the mononuclear phagocyte system (on average by 27.0%; $p < 0.005$).

Keywords: arabinogalactan; pectinaceous polysaccharides; *Ferula kuchistanica*; immunostimulating action.