

ИММУНОФАРМАКОЛОГИЯ

ОЦЕНКА АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ И ФАГОЦИТОЗСТИМУЛИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ ЛЕУКОМИЗИНА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Л. И. Арыстан¹, А. К. Сариев², С. Б. Ахметова¹, С. М. Адекенов¹

Сесквитерпеновый лактон леукомизин, выделенный из полыни беловойтой *Artemisia leucodes Schrenk*, обладает антибактериальной и фагоцитозстимулирующей активностью.

Ключевые слова: леукомизин, антибактериальная активность, гуморальный иммунитет, фагоцитарная активность

ВВЕДЕНИЕ

Иммунная система человека выполняет важную функцию по сохранению постоянства внутренней среды организма, осуществляемую путем распознавания и элиминации из организма чужеродных веществ антигенной природы. В связи с участвовавшими в последнее время состояниями иммунной депрессии, обусловленными вялотекущими хроническими заболеваниями инфекционной и неинфекционной этиологии, проблема нарушений иммунитета является одной из актуальных в современной медицине [3]. По данным многочисленных исследований, в настоящее время до 35 % больных, страдающих разными заболеваниями, нуждаются в иммуномодулирующей терапии [1, 2]. Одним из перспективных направлений в терапии иммунодефицитных состояний является использование биологически активных веществ природного происхождения, полученных из растений. Как правило, растительные препараты вызывают минимальные побочные эффекты, что позволяет использовать их достаточно широко в клинической практике. Анализ отечественной и зарубежной литературы свидетельствует о различных видах биологической активности сесквитерпеновых гамма-лактонов [4, 6]. Сесквитерпеновый лактон леукомизин выделен из полыни беловойтой (*Artemisia leucodes Schrenk.*, Asteracea), по строению углеродного скелета относится к гвайановому ряду. Структурная формула представлена на рис. 1.

Брутто-формула — $C_{15}H_{18}O_3$. Мол. масса — 246. Леукомизин — устойчивый при хранении кристаллический порошок белого цвета, без запаха, горький на вкус. Легко растворяется в хлороформе, бензоле, метаноле, этаноле, ДМСО. Не растворяется в эфире, гексане, практически не растворяется в воде. Температура плавления 200 – 201 °С (перекристаллизация из этило-

вого спирта). Удельное вращение $[\alpha]_D^{20} + 56^\circ$ (с 1.1 $CHCl_3$).

По результатам первичного скрининга, проведенного в НПЦ “Фитохимия”, леукомизин показал выраженное гипополипидемическое и противовоспалительное действие [5], что явилось основанием для разработки на его основе антиатеросклеротического препарата. Так как в настоящее время атеросклероз относят к ряду заболеваний, связанных с нарушениями в иммунной системе (инфекционно-аутоиммунно-воспалительная гипотеза патогенеза атеросклероза), нами было исследовано действие леукомизина на различные параметры иммунного ответа экспериментальных животных.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследованиях использованы клинические полирезистентные к антибиотикам штаммы *S. aureus* с выраженными ферментативными и токсическими свойствами. Предварительно на интактных животных ($n = 10$) определена инфицирующая доза при внутрибрюшинном заражении белых мышей *S. aureus* в дозе 75 млн. м. т. в 0,5 мл. 0,85 % NaCl. Экспериментальные животные были разделены на три группы по 10 мышей в каждой. Животным I опытной группы вводили леукомизин в желудок однократно в дозе 20 мг/кг (в 0,1 мл 3% крахмальной слизи). Животным II опытной группы леукомизин вводили в той же дозе в течение 5 дней, III контрольную группу составляли 10 мышей, получивших 0,1 мл 3 % крахмальной слизи. На 5-е сутки от заражения животных выводили из эксперимента декапитацией под легким эфирным наркозом. В контрольной и опытных группах отбирали материал с выраженными макроскопическими изменениями и производили количественное определение *S. aureus* в навесках печени, селезенки, почек путём прямого посева и последующего подсчёта выросших колоний на дифференциально-диагностических средах Чистовича.

При изучении фагоцитоза перитонеальных макрофагов были использованы 30 самцов мышей линии

¹ АО Научно-производственный центр “Фитохимия”, Республика Казахстан, Караганда, 100009, ул. Газалиева, 4.

² НИИ фармакологии им. В. В. Закусова РАМН, Москва, 125315, ул. Балтийская, 8.

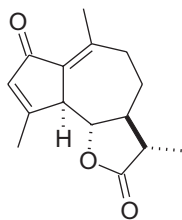
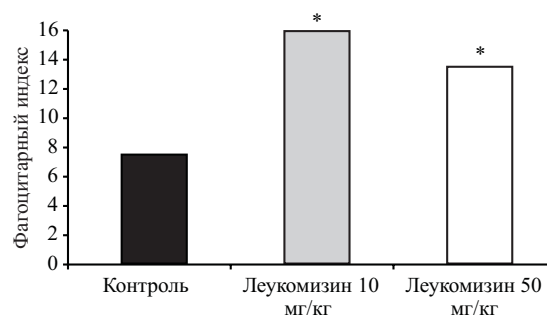


Рис. 1. Леукомизин.

Рис. 2. Влияние леукомизина на фагоцитарный индекс при трехкратном введении субстанции в желудок. * — различия с контролем достоверны при $p < 0,05$.

СВА. Через 24 ч после окончания 3-дневного введения леукомизина фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов оценивали по интенсивности захвата ими частиц туши, введенной животным внутрибрюшинно в виде 0,05% суспензии в объеме 2 мл. Через 10 мин после введения туши брюшную полость промывали 5 мл изотонического раствора NaCl. Полученные таким образом клетки перитонеального экссудата (КПЭ) трижды отмывали и ресуспендировали в 1 мл физиологического раствора. Затем в камере Горяева подсчитывали концентрацию ядросодержащих клеток (ЯСК) и процент фагоцитирующих клеток. Далее клетки осаждали центрифугированием, супернатант удаляли, а осадок КПЭ лизировали дистиллированной водой. Лизаты КПЭ помещали в плоскодонные планшеты и определяли с помощью спектрофотометра Uniscan (Финляндия) при длине волны 620 нм оптическую плотность, отражающую количество туши, поглощенной перитонеальными фагоцитами. Результаты выражали в условных единицах, отражающих оптическую плотность лизата КПЭ соотнесенную с количеством фагоцитирующих клеток (фагоцитарный индекс).

Субстанцию леукомизина разводили в 1 % растворе крахмала и вводили мышам внутрибрюшинно однократно или *per os* трехкратно в дозах 10 и 50 мг/кг, в качестве контроля использовали 1 % раствор крахмала.

Подготовка к работе первичных данных и расчеты проводили в среде пакета статистических программ (PSP) Statistica (версия 6.0) для Windows. Статистический анализ данных проводился с помощью *t*-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В контрольной группе соответственно инфицирующей дозе стафилококковой инфекции заболевание протекало тяжело, с летальным исходом у двух животных на 2 – 3 сутки. Погибших и забитых на 5-е сутки мышей вскрывали, отмечали характер и степень видимых патологоанатомических изменений в органах. В контрольной группе наблюдались пиемические очаги в печени, увеличение размеров селезенки.

В опытных группах животных, получивших леукомизин, после введения стафилококка пиемических очагов не было, все мыши сравнительно легко перенесли инфекцию и выжили. Бактериологический анализ показал значительную обсемененность внутренних органов животных контрольной группы с инфекцией на 5-е сутки.

Таблица 1. Бактериальная обсемененность различных органов при экспериментальной стафилококковой инфекции в условиях однократного применения леукомизина

Показатель	Опытная группа I			Контрольная группа		
	КОЕ/г ($n = 10$)					
	печень	селезенка	почки	печень	селезенка	почки
<i>S. aureus</i> абс.	$5,13 \pm 0,7^*$	$5,7 \pm 0,7$	$4,6 \pm 0,7^*$	$7,86 \pm 0,1$	$7,04 \pm 0,3$	$7,6 \pm 0,7$

Примечание. * — различия с контролем достоверны при $p < 0,01$.

Таблица 2. Бактериальная обсемененность различных органов при экспериментальной стафилококковой инфекции в условиях 5-дневного применения леукомизина

Показатель	Опытная группа II			Контрольная группа		
	КОЕ/г ($n = 10$)					
	печень	селезенка	почки	печень	селезенка	почки
<i>S. aureus</i> абс.	$1,52 \pm 0,1^{\#}$	$2,03 \pm 0,1^{\#}$	$2,09 \pm 0,1^{\#}$	$7,86 \pm 0,1$	$7,04 \pm 0,3$	$7,6 \pm 0,7$

Примечание. $\#$ — различия с контролем достоверны при $p < 0,001$.

У животных I опытной группы, получивших леукомизин однократно, в эти сроки наблюдалось значительно меньшая обсемененность стафилококком (табл. 1).

У животных II опытной группы, получавших леукомизин в течение 5 дней, наблюдалось полное очищение от возбудителей *S. aureus* (табл. 2).

Результаты изучения фагоцитарной активности перитонеальных макрофагов отображены на рис. 2. Трехкратное введение в желудок леукомизина в дозах 10 и 50 мг/кг приводило к выраженной стимуляции фагоцитарной активности перитонеальных макрофагов по сравнению с контролем в 2,1 и 1,8 раза ($p < 0,05$). При введении субстанции в дозе 50 мг/кг наблюдалось увеличение содержания макрофагов в перитонеальном экссудате.

ВЫВОДЫ

1. При 5-дневном введении леукомизин (20 мг/кг в желудок) оказывает выраженный антибактериальный эффект при стафилококковой инфекции, что подтверждают показатели бактериальной обсемененности

внутренних органов, а также стимулирует фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов.

2. Трехкратное введение леукомизина в дозах 10 и 50 мг/кг приводит к выраженной стимуляции фагоцитарной активности перитонеальных макрофагов по сравнению с контролем в 2,1 и 1,8 раза ($p < 0,05$).

ЛИТЕРАТУРА

1. Е. К. Алехин, *Иммунотропные свойства лекарственных средств*, Е. К. Алехин, Д. Н. Лазарева, С. В. Сибиряк (ред.), Уфа (1993).
2. А. А. Воробьев, *Вестн. РАМН*, № 4, 3 – 6 (2003).
3. А. М. Земсков, В. М. Земсков, В. И. Золоедов, Е. Бжозовский, *Усп. соврем. биол.*, № 2, 99 – 114 (1999).
4. М. Б. Избосаров, Х. Т. Заирова, Б. Х. Абдуазимов, В. М. Маликов, *Хим. природ. соед.*, № 3, 233 – 235 (2000).
5. *Исследование взаимосвязи взаимосвязи “структура-биологическая активность” в ряду растительных веществ и поиск новых фитопрепаратов*, отчет о НИР (РГКП “ИФХ МОН РК”), Караганда (2005), № ГР 0103РК00174.
6. S. P. Nehner, M. Heinrich, P. M. Bork, et al., *Biochem. Syst. Ecol.*, **14**(3), 255 – 281 (1986).

Поступила 25.02.09

EXPERIMENTAL EVALUATION OF THE ANTIBACTERIAL AND PHAGOCYTOSIS-STIMULATING PROPERTIES OF LEUCOMISINE

L. I. Arystan¹, A. K. Sariev², S. B. Akhmetova¹, and S. M. Adekenov¹

¹ Phytochemistry Research and Production Center, Institute of Phytochemistry, ul. Gazalievа 4, Karaganda, 470032, Kazakhstan

² Zakusov Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, Baltiiskaya ul. 8, Moscow, 125315, Russia

It is experimentally demonstrated that the sesquiterpene lactone leucomisine extracted from *Artemisia leucodes* exhibits pronounced antibacterial and phagocytosis-stimulating activity.

Key words: Leucomisine, antibacterial activity, phagocytosis-stimulating activity.