

# ІМУНОМОДУЛЮЮЧИЙ ЕФЕКТ ВЗАЄМОДІЇ СТАФІЛОКОКОВОЇ ВАКЦИНИ І ТАБЛЕТОК НА ОСНОВІ ВИЧАВОК ВИНОГРАДУ КУЛЬТУРНОГО ТА МЕТИЛУРАЦИЛУ

І.Л.Дикий, Н.А.Домар, О.А.Бочаров, А.А.Січкарь

Національний фармацевтичний університет

*Ключові слова: імуномодулятори; антитілоутворення; вичавки винограду культурного; метилурацил; таблетки*

*Представлені результати імунологічного дослідження таблеток на основі комбінації біологічно активної субстанції рослинного походження з вичавок винограду сорту Каберне-Совіньйон та субстанції синтетичного походження — метилурацилу. Отримані результати свідчать про синергійну дію компонентів порошку вичавок винограду та метилурацилу на здатність до антитілоутворення. Встановлено, що таблетки під умовною назвою “Вітацил” активізують поствакцинальну імунну відповідь, що реалізується в синтезі антибактеріальних та антитоксичних антитіл. Доведено, що розроблені таблетки мають імуномодулюючу активність, яка проявляється через стимуляцію протистафілококового імунітету і поліклональну активацію В-лімфоцитів.*

У теперішній час в етіологічній структурі інфекційних захворювань значну питому вагу займають умовно патогенні мікроорганізми. Провідне місце в загальному об'ємі гнійно-запальних захворювань людини по поширенню та різномайттю клінічного прояву займають стафілококові інфекції [16]. Стафілококи багато в чому погіршують проблему внутрішньолікарняних інфекцій в хірургічних, педіатричних і гінекологічних стаціонарах. Вони є провідними патогенами при інфекціях новонароджених, септичних ендокардитах, в онкологічних хворих, при трансплантації органів і тканин. Надзвичайна гострота і важливість проблеми стафілококових інфекцій обумовлена широким розповсюдженням у всіх країнах антибіотикорезистентних штамів стафілококів, що є причиною суттєвого обмеження вибору антибактеріальних препаратів для лікування [10, 11, 13-15, 18, 19]. Одним з напрямків боротьби зі стафілококовими інфекціями є застосування вакцин

та антиоксинів [6, 8]. Однак необхідно враховувати, що стафілококові інфекції перебігають, як правило, на фоні зниженої імунологічної реактивності організму, що обумовлює доцільність використання імуномодулюючих препаратів на основі субстанцій природного та синтетичного походження для стимуляції антимікробного та антиоксичного імунітету [5, 6, 8, 9].

Перспективною у даному аспекті є біологічно активна субстанція природного походження — нативний порошок вичавок винограду (ПВВ) культурного [1, 7, 12, 17, 20-24]. На кафедрі хімії природних сполук Національного фармацевтичного університету (НФаУ) під керівництвом проф. Кисличенко В.С. були досліджені якісний та кількісний склад вичавок винограду культурного сорту Каберне-Совіньйон, які при попередньому доклінічному вивченні показали імуномодулюючу активність [7]. Подальшими дослідженнями на кафедрі мікробіології, вірусології та імунології НФаУ під

керівництвом проф. Дикого І.Л. була встановлена взаємопотенціююча за абсолютними рівнями підвищена фармакологічна сумісність між субстанцією з вичавок винограду і метилурацилом (у співвідношенні 19:1 відповідно) у стимуляції факторів неспецифічної резистентності за показниками ланцюгів фагоцитарної системи [4]. Проведені дослідження зумовили створення нового препарату — таблеток на основі комбінації ПВВ та метилурацилу під умовною назвою “Вітацил” [3]. Під керівництвом проф. Яковлевої Л.В. була доведена його відносна нешкідливість при вивченні гострої токсичності [2].

Метою нашої роботи стало дослідження імуномодулюючого ефекту взаємодії стафілококової вакцини і таблеток з вичавками винограду культурного та метилурацилом “Вітацил”.

## Матеріали та методи

Для вивчення імуномодулюючого ефекту взаємодії стафілококової вакцини і таблеток на основі вичавок винограду культурного та метилурацилу визначали титри проти стафілококових антимікробних і антиоксичних ан-

І.Л.Дикий — доктор мед. наук, професор кафедри мікробіології, вірусології та імунології Національного фармацевтичного університету (м. Харків)

Таблиця 1  
**Динаміка титрів антитіл до *St. aureus* у сироватці крові кроликів при введенні стафілококової вакцини і досліджуваних таблеток,  $\log_2$  (РА), n=20**

Групи тварин	Препарати, що вводили	Титр АТ, $\log_2$ (РА)		
		до введення	10 день	22 день
Контроль	Вакцина стаф.	негат.	3,6±0,2	4,8±0,2
Дослідна №1	Вакцина + таблетки без метилурацилу	Те саме	4,6±0,2	5,8±0,2
Дослідна №2	Вакцина + таблетки "Вітацил"	— " —	5,0±0,4*	6,3±0,2*
Дослідна №3	Вакцина + таблетки з екстрактом ехінацеї	— " —	3,9±0,2	5,2±0,2*

Примітка. \* — різниця достовірна по відношенню до контролю,  $p < 0,05$

Таблиця 2  
**Динаміка титрів антиоксичних антитіл до токсину *St. aureus* у сироватці крові кроликів, n=20**

Групи тварин	Титр АТ		
	до введення	10 день	22 день
Контроль	1:10	1:10	1:10
Дослідна №1	1:10	1:20	1:40
Дослідна №2	1:10	1:40*	1:80*
Дослідна №3	1:10	1:20	1:40

Примітка. \* — достовірно по відношенню до контролю,  $p < 0,05$

титіл. З цією метою застосовували розвернену реакцію аглютинації (РА) і реакцію непрямої геммаглютинації (РНГА). Визначення кількості В-лімфоцитів проводили методом комплементарного розеткоутворення (ЕАС-РОК) за Г.Фримелем.

У досліді використовували 20 кроликів масою тіла 2,5-3,0 кг. За принципом аналогів було сформовано 4 групи тварин по 5 особин у кожній. Тварини дослідних і контрольної груп були щеплені інактивованою стафілококовою вакциною, яку вводили двократно на 1 та 10 добу експерименту в дозі  $1 \text{ см}^3$  (1 млрд м. т). Тварини 1-ї дослідної групи після щеплення протягом 7 діб щоденно отримували 250 мг ПВВ у вигляді таблеток, 2-ї — комбінацію ПВВ з

метилурацилом (250 мг та 12,5 мг відповідно) у вигляді таблеток "Вітацил", 3-ї — 200 мг екстракту ехінацеї в таблетках. Тварини контрольних груп були інтактними. Протягом експерименту проводили контроль за клінічним станом тварин дослідних та контрольної груп.

### Результати та їх обговорення

Дані представлені в табл. 1 і 2 свідчать, що до щеплення у тварин дослідних і контрольної груп відсутні титри антистафілококових антитіл, однак встановлено наявність антиоксичних антитіл у невисоких титрах. Збільшення титрів антибактеріальних антитіл у сироватці крові тварин дослідних і контрольної груп за-

реєстровано на 10 добу дослідження.

Так, у тварин контрольної групи титр протистафілококових антитіл збільшився на 10 добу до  $3,6 \log_2$ , а через 20 діб — до  $4,8 \log_2$ . У тварин дослідних груп, яким після щеплення протягом 7 діб перорально вводили ПВВ (1-а дослідна група), таблетки "Вітацил" (2-а дослідна група) і таблетки з екстрактом ехінацеї (3-я дослідна група) спостерігали більш виражену сероконверсію в порівнянні з контролем. Так, у тварин 1-ї дослідної групи зареєстровано збільшення титру антитіл на 10 добу до  $4,6 \log_2$ , а на 20 добу — до  $5,8 \log_2$ ; у тварин 2-ї дослідної групи на 10 добу — до  $5,0 \log_2$ , а на 20 добу — до  $6,0 \log_2$ , у тварин 3-ї дослідної групи на 10 добу — до  $3,9 \log_2$ , а на 20 добу — до  $5,2 \log_2$ . Тенденція до більш вираженого підвищення титрів антитіл у тварин 2-ї дослідної групи може свідчити про синергічну дію метилурацилу і ПВВ на антитілоутворення.

Використання інактивованої стафілококової вакцини не призвело до зміни титрів антиоксичних антитіл у тварин контрольної групи. Але у тварин дослідної групи, які отримували таблетки "Вітацил", встановлено значне збільшення титрів антиоксичних антитіл (табл. 2). Так, у тварин 2-ї дослідної групи титр антиоксичних антитіл зріс на 22 день дослідження з 1:10 до 1:80, а у тварин 1-ї та 3-ї дослідних груп збільшення цього показника менш суттєве (з 1:10 до 1:40). Це пов'язано з тим, що ехінацея є природним імуностимулятором, що стимулює переважно функціональну активність фагоцитів, а таблетки на основі ПВВ та метилурацилу крім активації фагоцитозу мають здатність до стимуляції антитілоутворення.

З даних, поданих у табл. 3, видно, що застосування таблеток на основі вичаков винограду та метилурацилу "Вітацил" завдяки синергізму дії стимулює проліферацію В-лімфоцитів. Так, на 22 добу експерименту у тварин 1-ї дослідної групи було зареєстровано підвищення кількості В-лімфо-

Таблиця 3  
**Динаміка кількості В-лімфоцитів., n=20**

Групи тварин	Відносна кількість В-лімфоцитів (%)	
	до введення	на 22 день
Контроль	26,7±1,2	30,8±1,2
Дослідна №1	28,4±2,6	34,2±1,4
Дослідна №2	26,4±2,2	36,8±1,8*
Дослідна №3	27,6±2,4	33,5±1,4

Примітка. \* — достовірно по відношенню до контролю,  $p < 0,05$

цитів з  $28,4 \pm 2,6\%$  до  $34,2 \pm 1,4\%$ , у тварин 2-ї дослідної групи — з  $26,4 \pm 2,2\%$  до  $36,8 \pm 1,8\%$ , у тварин 3-ї дослідної групи — з  $27,6 \pm 2,4\%$  до  $33,5 \pm 1,4\%$ . Отримані дані свідчать про найбільш суттєве підвищення кількості В-лімфоцитів у тварин, які отримували таблетки на основі вичавок винограду культурного та метилурацилу. Введення таблеток “Вітацил” після щеплення сприяє активізації гуморального імунітету і збільшенню титру антибактеріальних і антитоксичних антитіл. Аналіз отриманих результатів свідчить про наявність імунотропної активності у ПВВ,

яка реалізується через стимуляцію антимікробного та антиоксидантного імунітету та протистафілококового імунітету і поліклональну активацію проліферації В-лімфоцитів.

Доведено, що застосування таблеток на основі ПВВ та метилурацилу під умовною назвою “Вітацил” активізує поствакцинальну імунну відповідь, що реалізується в стимуляції синтезу антибактеріальних і антиоксидантних антитіл. Встановлено, що ця стимуляція обумовлена поліклональною активацією проліферації В-лімфоцитів. Більш виражена сєроконверсія зареєстрована у тва-

рин, які отримували таблетки “Вітацил”, що свідчить про синергічну дію цих компонентів.

#### ВИСНОВКИ

1. За результатами проведених досліджень встановлено синергічну дію комбінації природної субстанції ПВВ та синтетичної — метилурацилу на здатність до антитілоутворення.

2. Доведено, що таблетки “Вітацил” мають імунотропну активність, яка реалізується через стимуляцію антимікробного, антиоксидантного та протистафілококового імунітету і поліклональну активацію проліферації В-лімфоцитів.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Гоженко О.І., Славина Н.Г., Лобенко О.О. // *Фармац. журн.* — 1997. — №4. — С. 71-76.
2. Домар Н.А., Кириченко О.Н., Сичкарь А.А. *Изучение острой токсичности препаратов на основе выжимок винограда культурного* // *Студенческая медицинская наука XXI века: Тез. докл. VII Междунар. науч.-практ. конф. 1-2 ноября 2007 г.* — Витебск, 2007. — С. 257-259.
3. Домар Н.А., Сичкар А.А., Пашнев П.Д. // *Фармаком.* — 2006. — №4. — С. 79-83.
4. Домар Н.А., Дикий І.Л., Бочаров О.А. та ін. // *Фітотерапія. Часопис.* — 2007. — №3. — С. 25-28.
5. *Иммунотропные препараты: Справ. пособие / Сост. Г.Н.Дранник, Ю.А.Гриневич, Г.М.Дизик.* — К.: Здоров'я, 1994. — 287 с.
6. *Компендиум 2006 — лекарственные препараты / Под ред. В.Н.Коваленко, А.П.Викторова.* — К.: Морион, 2006. — 2270 с.
7. Кузнєцова В.Ю. *Вивчення біологічно активних речовин Vitis Vinifera та створення на їх основі лікарських засобів: Автореф. дис. ... канд. фармац. наук.* — Х., 2006. — 20 с.
8. Кучма І. // *Провизор.* — 2004. — №6. — С. 22.
9. Стрельников Л.С., Стрилець О.П., Чикиткина В.В. и др. *Современные иммуномодуляторы на основе генно-инженерных технологий* // *Тез. доп. науч.-практ. конф., 26 лист. 2004 р.* — Х., 2004. — С. 156-159.
10. Bailey C.J. // *Med. Microbiol. Immunol.* — 1995. — Vol. 53. — P. 184.
11. Byce J.M., Jackson M.M., Pugliese G. et al. // *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* — 1994. — Vol. 15. — P. 105.
12. Brouillard R., Chasaing S. // *Phytochemistry.* — 2003. — Vol. 64, №7. — P. 1179-1186.
13. Deresiewicz R.L. *Staphylococcal toxic shock syndrome, in Superantigens* // *Molecular Biology, Immunology, and Relevance to Human Disease, Dym Leung et al. (eds).* New York, Marcel Dekker. — 1997. — P. 435-479.
14. Edmond M.B., Wallace S.E., McClish D.K. et al. // *A Three-Year Analysis. Clin. Infect. Dis.* — 1999. — Vol. 29, №44. — P. 239.
15. Marrack P., Kappler J. // *Science.* — 1990. — Vol. 248. — P. 705.
16. Musher D.M. // *Medicine.* — 1994. — Vol. 73. — P. 186.
17. Nakamura Yu., Tsuji S., Tonogai Ya. // *J. Health Sci.* — 2003. — Vol. 49, №1. — P. 45-54.
18. Neu H.C. // *Science.* — 1992. — Vol. 257. — P. 1064.
19. Rupp M.E., Archer G.L. // *Clin. Infect. Dis.* — 1994. — Vol. 19, №3. — P. 231.
20. Sovak M. // *J. Med. Food.* — 2001. — Vol. 4, №2. — P. 93-105.
21. Souquet J-M., Labarbe B., Le Guerneve Ch. et al. // *J. Agr. and Food Chem.* — 2000. — Vol. 48, №4. — P. 1076-1080.
22. Waffo-Teguio P., Fauconneau B. // *J. Nat. Prod.* — 1998. — Vol. 61, №5. — P. 655-657.
23. Xiao-Yu Zhang, De-Cheng Bai, Yong-Jie Wu et al. // *Pharmazie.* — 2005. — Vol. 60, №6. — P. 533-538.
24. Xilmaz Y., Toledo R. // *J. Agric. Food Chem.* — 2004. — Vol. 52, №2. — P. 255-260.

Адреса для листування: 61002, м. Харків, вул. Мельникова, 12. Тел. (057) 706-30-67. Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 15.10.2008 р.