

**И. В. Гомоляко, В. П. Лозицкий, Н. Е. Клочкова, С. В. Поздняков, А. С. Федчук,  
Т. Л. Гридина, В. А. Пушкина, А. В. Булавка**  
**ВЛИЯНИЕ МУЛЬТИНУТРИЕНТНОГО ФУНКЦИОНАЛЬНО-ПЕПТИДНОГО КОМПЛЕКСА  
НА ДИНАМИКУ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В ЛЕГКИХ ЖИВОТНЫХ,  
ИНФИЦИРОВАННЫХ ВИРУСОМ A/PR/8/34(H1N1)**

*ГУ «Национальный институт хирургии и трансплантологии имени А. А. Шалимова НАМН Украины», г. Киев  
ГУ «Украинский научно-исследовательский Противочумный институт имени И. И. Мечникова МЗ Украины», г. Одесса  
Институт Здоровья Нации, г. Киев*

Грипп — самое массовое острое инфекционное заболевание человека. Являясь причиной ежегодных повышений заболеваемости и смертности во всем мире грипп продолжает оставаться одной из наиболее актуальных проблем здравоохранения и медицинской науки, имеет важное социальное и экономическое значение. Иммуитет к гриппу достаточно кратковременен, штаммоспецифичен, вирус гриппа обладает способностью оказывать иммуносупрессивное действие и таким образом активировать другие виды вирусов, бактериальные инфекции, вызывать обострение хронических заболеваний [14]. Штамм A/California/04/2009(H1N1) и близкие к этому виду штаммы уже неоднократно появлялись на эпидемической арене и будут появляться в дальнейшем, вызывая возникновение эпидемий гриппа на фоне общего резкого снижения иммунитета в человеческой популяции [3, 13].

В борьбе с гриппом важную роль играют средства, усиливающие иммунный ответ, повышающие неспецифическую резистентность организма, оказывающие стабилизирующее действие на биомембраны [3, 7, 8]. По данным проводившихся ранее исследований, такими свойствами обладает мультинутриентный функционально-пептидный комплекс «Гринизация» (МНФК «Г»). Он состоит из двух отдельных композиций «Грин Микс» и «Грин Про» и отличается наличием в составе натуральных вытяжек и экстрактов животного и растительного происхождения, в которых есть все необходимые организму вещества в их природных связях и соотношениях. Он обладает направленным действием на иммунную систему и нормализует гомеостатические показатели [10, 6]. Указанные свойства обеспечивают эффективность МНФК «Г» при лечении панкреатита, хронического гепатита, метаболического синдрома [2, 4, 12, 9].

Целью настоящего исследования было изучение действия комплекса МНФК «Гринизация» на развитие тканевых и клеточных реакций в легких мышей, зараженных вирусом гриппа A/PR/8/34(H1N1).

В эксперименте были использованы инбредные белые мыши весом 15–18 г ( $n = 120$ ), которых заражали интраназально под легким эфирным наркозом аллантоисной жидкостью, содержащей вирус гриппа A/PR/8/34(H1N1) в дозе  $0,5 LD_{50}$  (аллантоисный штамм вируса гриппа A/PR/8/34(H1N1) из музея ГУ «УНИПЧИ», адаптированный к лёгким мышей и близкий по антигенной формуле к штамму вируса A/California/04/2009(H1N1).

При проведении эксперимента придерживались требований Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и других научных целей (Страсбург, 18 марта 1986 г.).

Животные были разделены на 2 группы: 1 гр. — зараженные вирусом гриппа животные, 2 гр. — зараженные животные, получавшие комплекс МНФК «Гринизация». Последним через зонд вводили ежедневно с интервалом в 2 часа суспензии МНФК «Грин Про» (150 мг на 1 кг веса) и МНФК «Грин Микс» (150 мг на 1 кг веса) в объеме 0,1 мл. Курс продолжался в течение 7 дней до заражения и 21 день после него. Животным 1 гр. ежедневно двукратно вводили зондом воду (плацебо).

Легкие животных исследовали на 1, 3, 5, 7, 10, 14 сутки после заражения вирусологическими, бактериологическими и морфологическими методами. Количество инфекционного вируса в легких определяли путем титрования 10 %-х гомогенатов на культуре ткани хорион-аллантоисных оболочек 11–13-дневных куриных эмбрионов [5, 7]. Расчет  $Ig TID_{50}$  проводили методом Кербера в модификации И. П. Ашмарина [1]. Для бактериологических исследований использовали коммерческие питательные среды: Эндо, элективный солевой агар, кровяной агар, тиогликолевую среду и мясо-пептонный бульон (МПБ) с 1 % глюкозой, шоколадный агар.

Для морфологических исследований легкие фиксировали в 10,0 % нейтральном формалине, обрабатывали по общепринятой гистологической методике, парафиновые срезы окрашивали гематоксилином-эозином. Учитывали наличие в легких полнокровия капилляров, кровоизлияний, отека, интерстициальной гистиомакрофагальной инфильтрации межальвеолярных перегородок, острого бронхита и пневмонии, перибронхиальной и периваскулярной лимфоидной инфильтрации. Изменения оценивали полуколичественно с выделением четырех градаций — не выявлено, 1+, 2+, 3+. Статистическую обработку материалов проводили с использованием компьютерных программ «EXCEL» (Microsoft, 2003, USA) та «STATISTICA 6.1» (StatSoft Inc., 1984–2004, USA).

Вирусологические исследования показали, что в обеих группах максимальное количество вируса в легких мышей накапливалось на 3 сутки, а затем постепенно снижалось, и на 14 сутки вирус уже не обнаруживался. Однако, у животных 2 гр., получавших комплекс МНФК «Гринизация», во все сроки наблюдения в легких содержалось существенно меньше инфекционного вируса, чем в контроле. Различия составляют  $0,9–1,15 Ig TID_{50}$  (т.е. в 8–14 раз меньше) на 1, 3 и 7 сут. и  $0,6 Ig TID_{50}$  (т.е.

примерно в 4 раза меньше) на 5 и 10 сутки (рис.1). В лёгких животных, получавших МНФК «Гринизация», вирус гриппа репродуцировал хуже, чем у мышей, не получавших её, кроме того было отмечено снижение микробной обсеменённости легких при присоединении бактериальной инфекции.

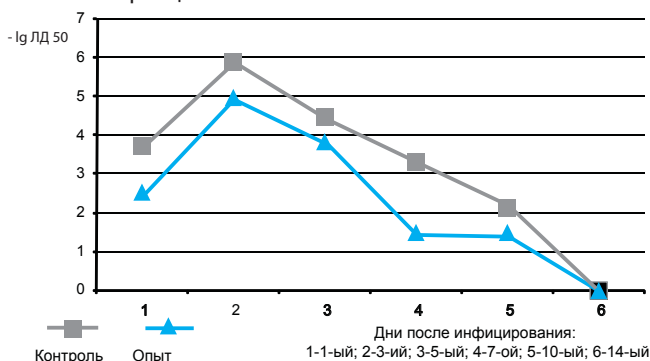


Рис. 1. Влияние применения МНФК «Гринизация» на динамику накопления инфекционного вируса в легких зараженных мышей

Выделенные микроорганизмы идентифицировали в соответствии с классификацией Bergey [11]. В 1 гр. (контроль) в поздние сроки после заражения гриппом было установлено обсеменение бактериальной ассоциацией, содержащей как патогенные, так и условно патогенные микроорганизмы., концентрация микробного обсеменения бактериальной ассоциацией *S. epidermidis* и *S. aureus* составляла  $10^4$  КОЕ/г. Во 2 гр. на фоне применения МНФК «Гринизация» был выявлен только патогенный стафилококк и отмечен рост единичных колоний *S. aureus*, усредненная концентрация *S. aureus* составила менее  $10^3$  КОЕ/г.

Морфологические отличия между животными 1 и 2 гр. также были значительными. На графике на рис. 2 представлена динамика развития воспалительного процесса в обеих группах. В 1 гр. воспалительные изменения в легких быстро прогрессировали, достигали максимума на 10 сутки. Выраженность воспалительных изменений в легких животных, получавших МНФК «Гринизация» были существенно ниже и мало менялись в течение эксперимента; к его завершению легкие полностью восстанавливались.

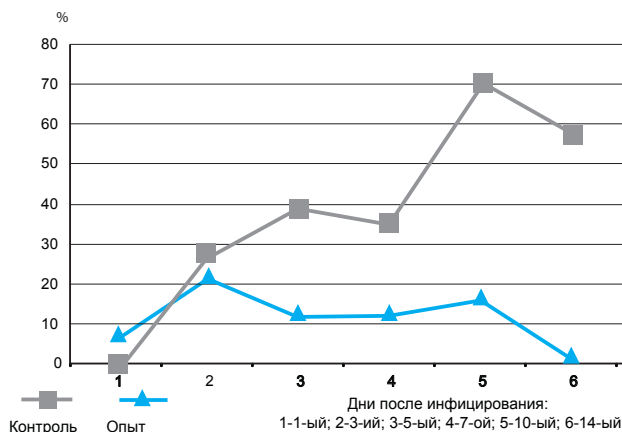


Рис. 2. Динамика развития воспалительных изменений (интерстициальная инфильтрация, бронхит, пневмония) в легких животных контрольной группы и животных, получавших МНФК «Гринизация» (1, 2, 3, 4, 5, 6 —1, 3, 5, 7, 10, 14 сутки соответственно)

На 1 сутки после заражения в легких всех животных 1 и 2 гр. изменения были незначительными —выявлены небольшие кровоизлияния, слабая перибронхиальная и периваскулярная лимфоидная инфильтрация. Слизистая оболочка бронхов сохраняла обычную структуру. Главным отличием животных 2 гр. была более интенсивная перибронхиальная и периваскулярная лимфоидная инфильтрация и очаговая интерстициальная инфильтрация межальвеолярных перегородок, которая преобладала в картине поражения.

На 3 сутки в обеих группах наблюдалось прогрессирование патологического процесса и в целом по объему поражения легких различия между группами были незначительными. Однако качественные характеристики отличались существенно. В 1 гр. в бронхах отмечалась выраженная дистрофия и десквамация бронхиального эпителия, в их просветах накапливался клеточный детрит; наблюдалось развитие гнойного бронхита и бронхопневмонии. Во 2 гр. усиливалась интерстициальная инфильтрация межальвеолярных перегородок, перибронхиальная и периваскулярная лимфоидная инфильтрация, картину дополняли единичные мелкие очаги бронхопневмонии (рис. 3, цв. вкладка).

Начиная с 5 суток эксперимента качественные и количественные различия между группами увеличивались и становились достоверными. У животных 1 гр. воспалительные изменения продолжали прогрессировать —усилились проявления гнойного бронхита, увеличилось количество и размеры очагов бронхопневмонии, появились очаги геморрагической пневмонии без тенденции к отграничению. Непостоянной и незначительной была периканаликулярная лимфоидная инфильтрация и интерстициальная инфильтрация межальвеолярных перегородок. Во 2 гр., как и в предыдущие сроки, в морфологической картине поражения легких преобладала очаговая умеренная интерстициальная инфильтрация межальвеолярных перегородок. Несколько снижалась интенсивность перибронхиальной и периваскулярной лимфоидной инфильтрации, очаги бронхопневмонии оставались мелкими, немногочисленными и были четко отграничены (рис. 4, цв. вкладка).

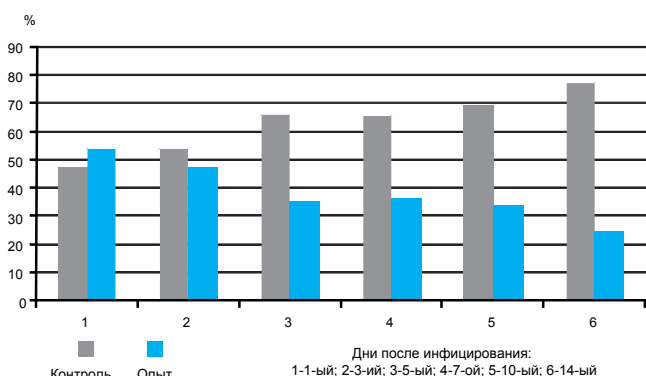
На 7 сут. в 1 гр. прогрессирование воспалительного процесса в легких сопровождалось усилением геморрагического компонента в сочетании с выраженным гнойным бронхитом и сливной бронхопневмонией. Во 2 гр., наоборот, наблюдались явные признаки регрессии воспалительных изменений, доминировали изменения в виде умеренной диффузно-очаговой интерстициальной инфильтрации межальвеолярных перегородок, очаги пневмонии и бронхита мелкие, единичные, сосудистые реакции минимальные, небольшие очаги дистелектазов (рис. 5, цв. вкладка).

Десятые сутки характеризовались максимальной выраженностью патологических изменений в легких животных 1 гр. —крупные сливные очаги геморрагической пневмонии и бронхопневмонии. У двух животных этой группы были выявлены крупноочаговые изменения, напоминающие «сотовое» легкое с гистиомакрофагальной инфильтрацией и выстилкой кубическим эпителием стенок «сот». Изменения в легких животных 2 гр., получавших комплекс МНФК «Гринизация», сводились к

незначительным интерстициальным реакциям на фоне воздушной паренхимы с очаговым незначительным полнокровием сосудов, небольшие очаги дистелектазов, вновь усилившаяся перибронхиальная и периваскулярная лимфоидная инфильтрация (рис. 6, цв. вкладка).

На 14 сут. в 1 гр. изменения субтотальные, сохраняются явления гнойного бронхита, бронхопневмонии и геморрагической пневмонии. Под влиянием МНФК «Гринизация» в легких животных наблюдается либо полное восстановление воздушности легких, либо минимальные сосудистые и интерстициальные реакции в сочетании с выраженной перибронхиальной и периваскулярной лимфоидной инфильтрацией.

На рис. 7 представлены результаты сравнительного анализа выраженности всего комплекса воспалительных изменений в легких в обеих группах в каждый срок наблюдения.



**Рис. 7. Сравнительная характеристика выраженности воспалительных изменений в легких животных контрольной и опытной групп**

Из данных графика следует, что начиная с 3 суток эксперимента выраженность воспалительных изменений в легких животных 1 гр. нарастала и к 14 сут. достигала 77,0 % от максимально возможной, а у животных 2 гр., получавших комплекс МНФК «Гринизация», снижалась и на 14 сутки составляла всего 22,9 % и была в 3,3 раз ниже, чем в контроле.

Отличия между группами оказались еще более показательными при суммарной оценке только 3 показателей – выраженности интерстициальной инфильтрации межальвеолярных перегородок, бронхита и пневмонии



**Рис. 8. Сравнительная характеристика выраженности воспалительных изменений (интерстициальные реакции, бронхит, пневмония) в легких животных контрольной группы и животных, получавших МНФК «Гринизация» (1, 2, 3, 4, 5, 6 — 1, 3, 5, 7, 10, 14 сутки соответственно)**

(рис. 8). На 1 сутки эксперимента максимальная выраженность воспалительных реакций в легких (следует подчеркнуть, что это была, главным образом, интерстициальная инфильтрация) была высокой во 2 гр., а в 1 гр. они были минимальными. На 14 сутки максимума достигали воспалительные изменения в 1 гр. (бронхит, геморрагическая, бронхопневмония), а у животных, получавших МНФК «Гринизация», они были минимальными.

Сопоставление результатов исследования легких животных, инфицированных вирусом A/PR/8/34(H1N1), и животных, получавших МНФК «Гринизация» на фоне инфицирования вирусом гриппа показало наличие существенных различий между группами. В 1 гр. наблюдалось выраженное прогрессирование заболевания с типичными воспалительными проявлениями в виде острого бронхита, бронхопневмонии и геморрагической пневмонии. Во 2 гр. преобладали изменения, связанные с развитием неспецифических гистиомакрофагальных реакций и проявлениями клеточного иммунитета в виде лимфоидной инфильтрации. На этом фоне прогрессирование бронхита и пневмонии было минимальным, более быстрым и ранним было их разрешение. При этом максимум накопления инфекционного вируса в легких совпадает с максимумом лимфоидной инфильтрации, а снижение его количества сопровождается снижением активности интерстициальных и лимфоидных реакций. В 1 гр. выраженность воспалительных изменений в легких нарастает несмотря на снижение накопления вируса.

Таким образом, применение МНФК «Гринизация» изменяет качественную и количественную характеристику воспалительных изменений в легких животных, зараженных вирусом A/PR/8/34(H1N1). МНФК «Гринизация» приводит к активизации гистиомакрофагальных элементов и пролиферативных процессов в лимфоидной ткани. Это отражает активацию иммунных реакций, развитие адекватной и гармоничной защитной реакции, которая позволяет осуществить эффективную противовирусную защиту, ограничить распространение вирусной инфекции и воспалительного процесса в легких. Лечебно-профилактический эффект МНФК «Гринизация» проявлялся существенным снижением выраженности и распространенности бронхита и пневмонии, менее выраженным геморрагическим компонентом, усилением обратимой интерстициальной и перибронхиальной и периваскулярной лимфоидной инфильтрации, что в целом способствует более раннему разрешению воспалительного процесса и, соответственно, существенно облегчает течение гриппозной инфекции и снижает опасность неблагоприятного исхода. Это позволяет ожидать подобного результата применения МНФК «Гринизация» и у людей, зараженных вирусом гриппа A/California/04/2009(H1N1).

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Ашмарин, И. П. Вычисление ЕД50 при малом числе подопытных животных [Текст] / И. П. Ашмарин // Журн. микробиол. — 1959. — № 2. — С. 102–108.
2. Беляева, Н. В. Терапевтические подходы к лечению хронического панкреатита на фоне ожирения с использованием МНФК «Гринизация» [Текст] / Н. В. Беляева // Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П. Л. Шупика, Київ, 2008. — 439 с.

3. Вікторов, О.П. Противірусні лікарські засоби при лікуванні грипу: ефективність та безпека [Текст] / О. П. Вікторов, В. П. Широбоков, О. В. Матвеева, І. О. Логвина, В. П. Яйченя // Український медичний часопис. — 2010. — № 2 (76). — С. 4–12.
4. Голубовская, О. А. Метаболический синдром и стеатоз печени у больных вирусным гепатитом С и их коррекция МНФК "Гринизация" [Текст] / О. А. Голубовская // Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П. Л. Шупика. — Київ, 2008. — 439 с.
5. Доклинические исследования лекарственных средств / Методические рекомендации: [ред. А.В.Стефанов]. — К.: Авиценна, 2002. — С. 395–420.
6. Игрунова, К. Н. Опыт применения мультинутриентной функциональной композиции "GRINIZATION" у больных гипертонической болезнью с метаболическим синдромом [Текст] / К. Н. Игрунова, О. А. Атаманенко // Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П. Л. Шупика. — Київ, 2008. — 439 с.
7. Лозицкий, В. П. Некоторые методические подходы при изучении противогриппозных свойств ингибиторов протеолиза [Текст] / В. П. Лозицкий // Методические проблемы экспериментальной химиотерапии вирусных инфекций. — Минск. — С. 120–125.
8. Лозицкий, В. П. Ингибитор протеолиза аминокaproнової кислоти — засіб для профілактики і лікування грипу та ГРВІ у дітей та дорослих [Текст] / В. П. Лозицкий, А. С. Федчук, С. В. Поздняков, Т. Л. Грідіна, Л. І. Шитікова, Л. М. Мудрик, Л. В. Сочесло, І. М. Григорашева, О. П. Воронов // Клініко-епідеміологічні аспекти боротьби та профілактики інфекційних і неінфекційних хвороб серед дітей і дорослих: Матеріали міжнародної наук.-практ. конференції, Харків 8-9 квітня 2010 р. — С. 325–327.
9. Линник, Н. И. Применение технологии "Grinization" в лечении метаболического синдрома [Текст] / Н. И. Линник, Н. Ф. Соколов, Д. В. Добрянский // Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П. Л. Шупика. — Київ, 2008 р. — 439 с.
10. Лисяный, Н. И., Влияние на иммунный статус больных гепатитом МНФК "Гринизация" [Текст] / Н. И. Лисяный, А. М. Печенка, А. И. Потапова // Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П. Л. Шупика. — Київ, 2008 р. — 439 с.
11. *Определитель* бактерий Берджи. В 2-х т.: Пер. с англ. / Под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейнли, С. Уилльямса. — Москва: Мир, 1997. — 800 с.
12. Печенка, А. М. Тромбоцитопении при вирусном гепатите С и возможности ее коррекции МНФК "Гринизация" [Текст] / А. М. Печенка, О. А. Голубовская // Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П. Л. Шупика. — Київ, 2008 р. — 439 с.
13. Шадрин, А.С. Новые концепции и проблемы эпидемического процесса при гриппе [Текст] / А. С. Шадрин, Д. Б. Голубев // Эпидемиология и профилактика гриппа. — Ленинград, 1980. — С. 5–16.
14. Шварцман, Я. С. Актуальные задачи изучения иммунологии гриппа [Текст] / Я. С. Шварцман, А. В. Исполотова, А. Н. Найхин // Иммунология, клиника и лечение гриппа, 1980 — С. 5–13.

### ВПЛИВ МУЛЬТИНУТРИЄНТНОГО ФУНКЦІОНАЛЬНО-ПЕПТИДНОГО КОМПЛЕКСУ НА ДИНАМІКУ ЗАПАЛЬНИХ ЗМІН В ЛЕГЕНЯХ ТВАРИН, ІНФІКОВАНИХ ВІРУСОМ ГРИПУ А/PR/8/34(H1N1)

**І. В. Гомоляко, В. П. Лозицький, Н. Є. Ключкова, С. В. Поздняков, О. С. Федчук, Т. Л. Грідіна, В. О. Пушкіна, А. В. Булавка**

*Резюме*

Вивчення ефективності МНФК «Гринізація» в експерименті у мишей, інфікованих вірусом грипу А/PR/8/34(H1N1), показало, що його використання сприяє суттєвому зниженню розповсюдженості та вираженості бронхіта і пневмонії, посиленню проявів імунних реакцій — інтерстиціальної та лімфоїдної інфільтрації; суттєво полегшує перебіг грипозної інфекції та знижує ризик несприятливого виходу.

### INFLUENCE OF MULTINUTRITIONAL FUNCTIONAL PEPTIDE COMPLEX PREPARATION ON THE DYNAMICS OF INFLAMMATORY CHANGES IN LUNGS OF ANIMALS, INFECTED BY A/PR/8/34(H1N1) VIRUS

**I. V. Gomolyako, V. P. Lozitsky, N. E. Klochkova, S. V. Posnyakov, A. S. Fedchuk, T. L. Gridina, V. A. Pushkina, A. V. Bulavka**

*Summary*

Experimental study of MNFC "Grinization" effect on mice, infected by influenza virus A/PR/8/34(H1N1), demonstrated significant reduction of dissemination and expression of bronchitis and pneumonia along with intensification of immune reactions — interstitial and lymphoid infiltration. The use of tested preparation substantially relieved the course of influenza; reduced risk of unfavorable outcome.