

УДК 616.921.5-079

ВЛИЯНИЕ МНФК «ГРИНИЗАЦИЯ» НА ДИНАМИКУ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В ОРГАНАХ ЖИВОТНЫХ, ИНФИЦИРОВАННЫХ ВИРУСОМ ГРИППА А/PR/8/34(H1N1)

**Грипп – самая
массовая острая
вирусная инфекция
человека, основная
причина ежегодных
повышений общей
заболеваемости
и смертности
во всем мире,
он также наносит
огромный
экономический
ущерб.**

*І.В. Гомоляко,
В.П. Лозицький,
Н.С. Ключкова, А.С. Федчук,
Т.Л. Грідіна, А.В. Булавка.
Вплив МНФК "Гринізація"
на динаміку запальних змін
в органах тварин, що були
інфіковані вірусом грипу
А/Н1N1*

При експериментальному грипі у лабораторних тварин застосування МНФК "Гринізація" значно зменшувало репродукцію вірусу грипу в легенях, зменшувало запальні процеси в печінці, що суттєво покращувало дезінтоксикаційні можливості й гармонізувало імунну відповідь, скорочувало термін хвороби.

*I.V. Homolyako, V.P. Lozitskiy,
N.E. Klochkova, A.S. Fedchuk,
T.L. Hrydina, A.V. Bulavka.
Effect MNFK "Grinization" on
the dynamics of inflammatory
changes in the organs of animals
infected with influenza A/H1N1*

During experimental influenza in laboratory animals used MNFK "Grinization" significantly reduced the reproduction of influenza virus in the lungs, reduced inflammation in the liver, which greatly improves detoxification capabilities and harmonize immune response, reduced the duration of the disease.

Грипп является одной из наиболее актуальных проблем здравоохранения и медицинской науки. Мишень для вируса гриппа – органы дыхания. Нарушения функций сердечно-сосудистой системы, печени, других органов и систем при гриппе, как правило, связывают с интоксикацией и гипоксией, обусловленной развитием бронхита, бронхиальной непроходимости и пневмонии. Однако, возможны и органические поражения сердца, почек, печени, суставов, особенно у пациентов с канонической иммуносупрессией [1].

Изменения в печени, вызванные вирусом гриппа, изучены мало, хотя поражение печени может иметь существенное влияние на динамику развития патологического процесса. Тот факт, что заболевание протекает достаточно тяжело, сопровождаются осложнениями и имеет длительный период восстановления, не исключает серьезных структурных и функциональных расстройств со стороны печени.

Такое предположение ставит вопрос о целесообразности использования для лечения гриппа препаратов, обладающих гепатопротекторным действием, в частности, мультинутриентного функционально-пептидного комплекса "Гринизация" (МНФК "Г"). По данным проводившихся ранее исследований МНФК "Г" оказывает положительный эффект при лечении хронического гепатита [2] и гриппа [3, 4].

МНФК "Г" оказывает положительное влияние на течение многих заболеваний за счет стимуляции иммунитета, нормализации системы свертывания крови и нормализации функции печени [2], усиливает иммунный ответ, повышает неспецифическую резистентность организма, оказывает стабилизирующее действие на биомембраны [2, 5, 6]. Указанные свойства обеспечивают эффективность МНФК "Г" при лечении панкреатита, хронического гепатита, метаболического синдрома [7, 8, 9, 10]. МНФК "Г" отличается наличием в его составе натуральных вытяжек и экстрактов животного и растительного происхождения, в которых есть все необходимые организму вещества в их природных связях и соотношениях.

Целью настоящего исследования было изучение морфологических изменений в печени зараженных вирусом гриппа животных и влияние на них мультинутриентного комплекса МНФК "Гринизация".

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В эксперименте использовались инбредные белые мыши весом 15-18 г (n = 120). Заражение проводилось интраназально под легким эфирным наркозом аллантоисной жидкостью, содержащей вирус гриппа А/PR/8/34(H1N1) в дозе 0,5 LD₅₀ (аллантоисный штамм вируса гриппа А/PR/8/34(H1N1) из музея ГУ "УНИПЧИ", адаптированный к лёгким мышей). При про-

ведении 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. (контроль) – животные, зараженные вирусом гриппа А/PR/8/34(H1N1), которым ежедневно двукратно вводили зондом воду (плацебо). Вторая группа – животные, инфицированные вирусом гриппа А/PR/8/34(H1N1) и получавшие МНФК "Г". Последним в течение 7 дней до заражения и 21 дня после него ежедневно с интервалом в 2 часа через зонд вводили 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.

Через 1, 3, 5, 7, 10, 14 суток после заражения проводились исследования лёгких и печени. Количество инфекционного вируса в легких в эти сроки определяли путем титрования 10% -ных гомогенатов на культуре ткани хорион-аллантоисных оболочек (ХАО) 11-13-дневных куриных эмбрионов [11, 12]. Расчет lg TID₅₀ проводили методом Кербера в модификации Ашмарина [13]. Для бактериологических исследований использовали коммерческие питательные среды: Эндо, элективный солевой агар, кровяной агар, тиогликолевую среду и мясо-пептонный бульон (МПБ) с 1% глюкозы, шоколадный агар.

Для морфологических исследований печень мышей фиксировали в 10% нейтральном формалине, обрабатывали по общепринятой гистологической методике, парафиновые срезы окрашивали гематоксилином – эозином. Морфологические изменения в печени мышей оценивали полуколичественным методом с помощью визуально-аналоговой шкалы с выделением четырех градаций – не выявлено, 1+, 2+, 3+.

Статистическую обработку материалов проводили с использованием компьютерных программ "EXCEL" (Microsoft, 2003, USA) и "STATISTICA 6.1" (StatSoft Inc., 1984-2004, USA).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние применения "Гринизации" на динамику накопления инфекционного вируса в лёгких заражённых мышей представлено на рис. 1 (см. ниже).

пом. На 21-е сутки усредненная концентрация *S. aureus* в опытных образцах составила менее 10³ КОЕ/г, тогда как в контрольных образцах концентрация микробного обсеменения смешанной бактериальной ассоциацией *S. epidermidis* и *S. aureus* бы-

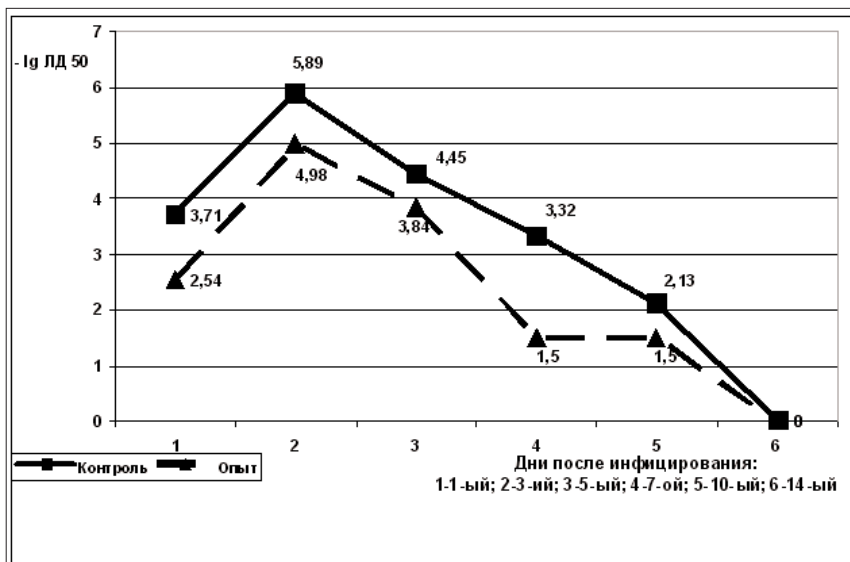


Рис. 1. Влияние применения "Гринизации" на динамику накопления инфекционного вируса в легких зараженных мышей

Представленные результаты свидетельствуют, что в контрольной группе максимальное количество вируса в легких животных накапливалось на 3-и сутки, а затем постепенно снижалось, и на 14-е сутки вирус уже не обнаруживался, как и в опытной группе. У животных, получавших "Гринизацию", начиная с 1-го дня инфекции и до 10-х суток после заражения, в легких содержалось существенно меньше инфекционного вируса, чем у контрольных животных. Различия составляли на 1-е, 3-и и 7-е сутки 0,9-1,8 lg TID₅₀ (т.е. в 8-63 раз) и около 0,6 lg TID₅₀ (т.е. примерно в 4 раза) на 5-е и 10-е сутки.

Выборочные исследования показали, что на 7-е сутки в печени животных обеих групп содержался инфекционный вирус, тогда как на 17-й день его выделить уже не удавалось.

Рост единичных колоний *S. aureus* был отмечен при посеве гомогенатов лёгких мышей опытной группы на 14-е сутки после заражения их грип-

ла выше – 10⁴ КОЕ/г, т.е. применение "Гринизации" привело к уменьшению микробной обсеменённости легких животных при присоединении бактериальной инфекции [3].

Таким образом, результаты вирусологических и бактериологических исследований свидетельствуют о том, что в лёгких животных, получавших "Гринизацию", вирус гриппа репродуцируется хуже, чем у мышей, не получавших её. Это касается также размножения потенциальных возбудителей бактериальных осложнений. При этом гистологические исследования органов дыхания также выявили высокую эффективность МНФК "Г" при экспериментальном гриппе [3].

Следовательно, применение комплекса "Гринизация" повышает защищённость организма не только от гриппозной инфекции, но и от возможных бактериальных осложнений.

При оценке изменений в печени мышей учитывали наличие некрозов, интралобулярной дегенерации (рис. 2а), точечной инфильтрации

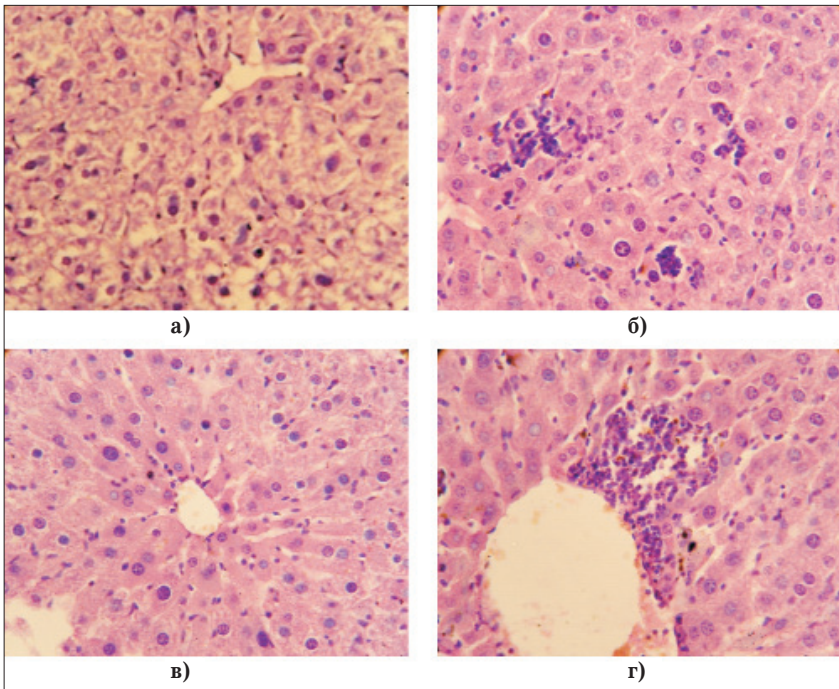


Рис. 2. Печень животных, зараженных вирусом гриппа А/PR/8/34(H1N1), а) интралобулярная белково-гидропическая и баллонная дегенерация печени; б) мелкие интралобулярные инфильтраты и выраженная реакция печеночных макрофагов; в) полиморфизм ядер гепатоцитов; г) мононуклеарная инфильтрация в стенке центральной вены. Окр. гем.-эоз., ув. ок.10, об.40.

и некрозов, реакцию печеночных макрофагов (рис. 2б), полиморфизм ядер (рис. 2в), воспалительную инфильтрацию портальных трактов и перивенулярную инфильтрацию (рис. 2г). Эти основные элементы воспалительной реакции наблюдались в печени у всех животных, зараженных вирусом гриппа, и отличались степенью выраженности в зависимости от применявшегося

лечения и сроков наблюдения.

На рис. 3 представлена обобщенная (с учетом всех перечисленных ранее признаков) сравнительная характеристика патологических изменений в печени у зараженных вирусом гриппа мышей, получавших и не получавших МНФК "Г".

В 1-й (контрольной) группе морфологические проявления воспалительного процесса в печени бы-

ли выражены умеренно с незначительными волнообразными колебаниями в течение всего эксперимента.

У животных 2-й группы, получавших МНФК "Г" в целом наблюдался более низкий уровень реактивных и воспалительных изменений. При этом максимум воспалительных изменений приходился на 3-и сутки, а затем происходило плавное, но существенное их снижение с небольшим подъемом на 14-е сутки.

Описательная характеристика экспериментальных животных в разных группах также значительно отличалась. У мышей 1-й группы через сутки после заражения в печени определялись полнокровие сосудов, мелкие множественные интралобулярные инфильтраты, умеренная очаговая белково-гидропическая дистрофия в сочетании с умеренным полиморфизмом ядер гепатоцитов. Отмечалась также выраженная активация печеночных макрофагов. На 3-и сутки воспалительные изменения в целом сохранялись на прежнем уровне, хотя отмечалось некоторое снижение интралобулярной инфильтрации и усиление белково-гидропической дистрофии с полиморфизмом ядер гепатоцитов и появлением вакуолизированных ядер. На 5-е, 7-е и 10-е сутки в печени сохранялись однотипные, умеренно выраженные, воспалительные изменения. Следует подчеркнуть наличие характерной для вирусной инфекции воспалительной мононуклеарной инфильтрации стенок центральных вен, свидетельствующей о значительных повреждениях эндотелия сосуда.

В печени животных, получавших МНФК "Г" (2-я группа), через сутки после заражения, в отличие от контроля, наблюдалась заметная вариабельность выраженности воспалительных изменений в печени животных и различное соотношение учитываемых признаков – полнокровия сосудов, мононуклеарной инфильтрации, белково-гидропической дистрофии, полиморфизма ядер гепатоцитов, активации печеночных макрофа-

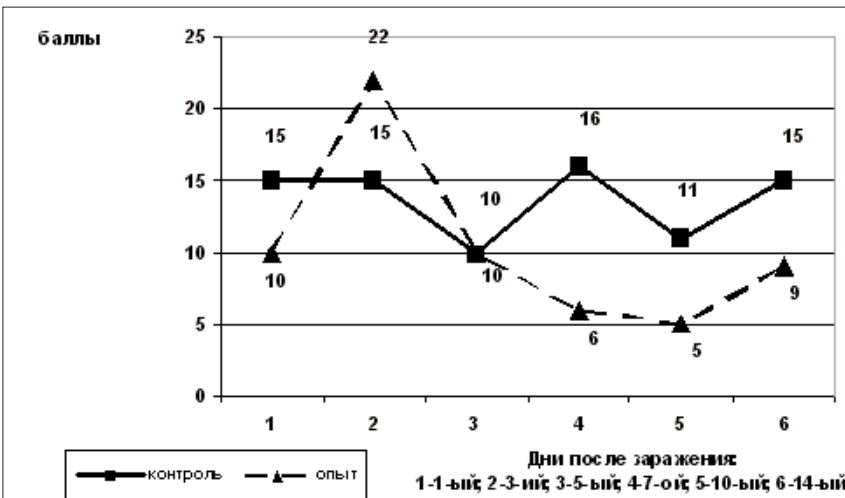


Рис. 3. Общая динамика воспалительных изменений в печени животных контрольной группы и животных, получавших МНФК «Гринизация» (1,2,3,4,5,6 – 1, 3, 5, 7, 10, 14 сутки соответственно, баллы).

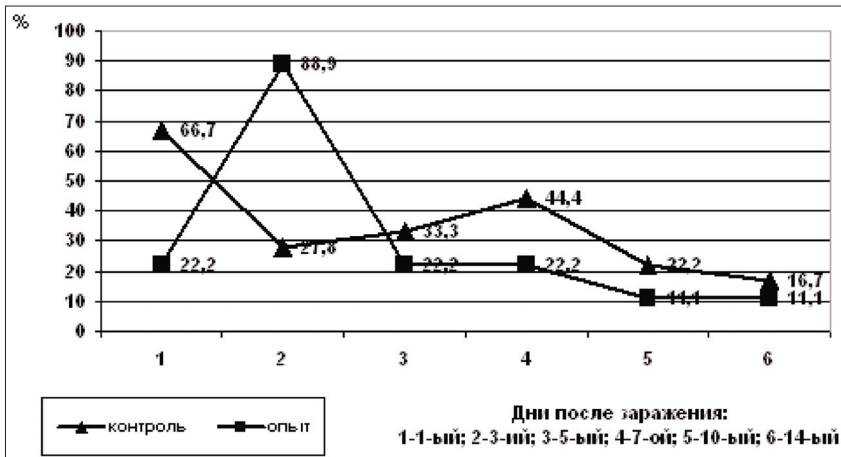


Рис. 4. Динамика развития воспалительной инфильтрации в печени животных контрольной группы и животных, получавших МНФК "Гринизация" (1,2,3,4,5,6 – 1, 3, 5, 7, 10, 14 сутки соответственно).

гов. На 3-и сутки выраженность этих изменений была значительно выше, чем в контроле, но затем к 5-м суткам наблюдалась выраженное снижение активности воспалительных изменений, которое продолжалось во все последующие сроки наблюдения. **Наиболее длительно сохранявшимися изменениями были белково-гидропическая дистрофия и активация печеночных макрофагов.**

В связи с наличием некоторых особенностей морфологической картины при формировании патологического процесса в 1-й и 2-й группах, представляет интерес анализ каждого отдельного элемента воспалительной реакции.

На рис. 4 представлена динамика развития воспалительных изменений в печени, которая включа-

ла интралобулярную точечную инфильтрацию, воспалительную инфильтрацию порталных пространств и перивенулярную инфильтрацию. В 1-й группе она была наиболее высокой на 1-е сутки эксперимента, затем существенно и волнообразно снижалась, оставаясь, однако, несколько выше, чем во 2-й группе. У животных 2-й группы, получавших МНФК "Г", максимум этих изменений приходился на 3-и сутки – воспалительная инфильтрация в этот период оказывалась весьма интенсивной и значительно превышала по интенсивности 1-ую группу. Затем наблюдалось резкое, более выраженное, чем в контроле, снижение интенсивности воспалительных изменений. Таким образом, пик воспалительных изменений в

печени совпадает с пиком накопления вируса в легких.

На рис. 5 представлена динамика изменения выраженности белково-гидропической дистрофии и сопровождающего ее полиморфизма ядер гепатоцитов, что является отражением реакции гепатоцитов на интоксикацию и ишемию. В 1-й группе в целом уровень полиморфизма оказывается более высоким, чем во 2-й группе. У животных, получавших МНФК "Г", выраженность белково-гидропической дистрофии и полиморфизма ядер достигает максимума на 3-и сутки и существенно снижается к концу эксперимента. Однако количество гепатоцитов не восстанавливается до уровня интактных животных.

На рис. 6 представлена динамика изменения количества клеток Купфера, которые отражают активность макрофагальной реакции. В 1-й группе динамика изменения количества печеночных макрофагов имеет выраженную волнообразность с тенденцией к возрастанию интенсивности этой реакции к концу эксперимента. При этом на 1-е сутки количество печеночных макрофагов увеличивалось на 38,9% относительно нормы (0-вой уровень), затем снижалось до нормы, а далее опять возрастало, что может быть связано с наличием не только вирусной инфекции, но и активацией бактериальной микрофлоры. У животных, получавших МНФК "Г", количество клеток Купфера достигло максимума на 3 сутки, их количество увеличивалось на 44,4% относительно нормы, затем снижалось до нормы с последующим небольшим повышением на 14-е сутки.

Таким образом, у животных, зараженных вирусом гриппа А/PR/8/34 (H1N1), наблюдались выраженные и устойчивые изменения в ткани печени, которые в значительно большей степени проявлялись в контроле, чем у животных, получавших МНФК "Гринизация". При этом особенностью последних являлась резкая активация воспалительного процесса на 3-и сутки с последующим быстрым

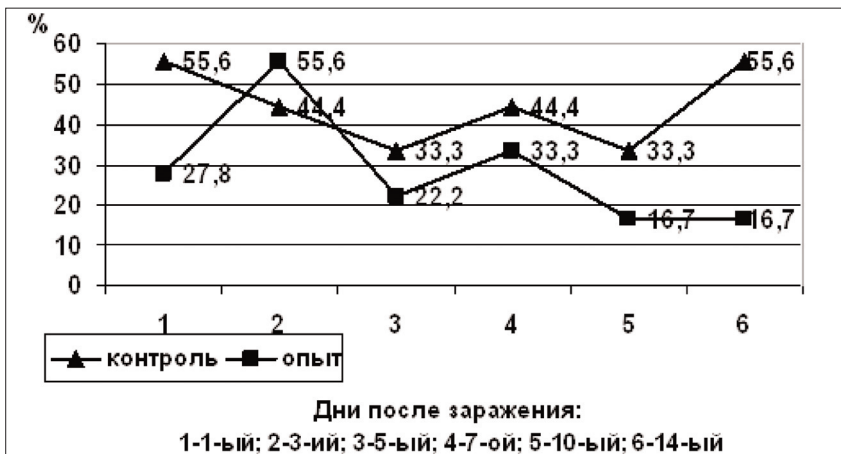


Рис. 5. Динамика развития воспалительной инфильтрации в печени животных контрольной группы и животных, получавших МНФК "Гринизация" (1,2,3,4,5,6 – 1, 3, 5, 7, 10, 14 сутки соответственно).



Рис. 6. Динамика изменения количества клеток Купфера в печени животных контрольной группы и животных, получавших МНФК "Гринизация" (1,2,3,4,5,6 – 1, 3, 5, 7, 10, 14 сутки соответственно).

его угасанием, в то время как в контроле процесс имел вялое, мало динамичное течение.

Если проанализировать графики, отражающие динамику изменения реакции воспалительных и дистрофических изменений в печени, можно отметить, что у животных, зараженных вирусом гриппа А/PR/8/34(H1N1), выраженная воспалительная реакция развивалась в первые сутки, несколько снижалась на 3-и, и далее прогрессировала. При этом сохранялась в значительной степени однотипность проявлений с некоторым усилением белково-гидропической дистрофии и активации печеночных макрофагов, что, вероятно, связано с активацией бактериальной микрофлоры. Для животных, зараженных вирусом гриппа А/PR/8/34(H1N1) и получавших МНФК "Гринизация", характерной являлась максимальная выраженность воспалительных и дистрофических изменений на 3-е сутки эксперимента с последующим быстрым купированием воспалительного процесса, что совпадает с динамикой накопления и элиминации вируса. Вместе с тем следует подчеркнуть, что незначительные проявления белково-гидропической дистрофии гепатоцитов сохранялись на 14-е сутки эксперимента в обеих группах, что свидетельствует о сохранении нарушенной функции печени в результате токсического или ишемического воздействия на нее,

несмотря на эффективную элиминацию вируса. Это дает основание рассматривать дистрофические изменения в печени при гриппе как существенный фактор патогенеза возможных осложнений и длительного периода реконвалесценции.

В целом, комплекс выявленных морфологических изменений в печени животных, зараженных вирусом гриппа А/PR/8/34(H1N1), может быть оценен как проявления гепатита, при этом сохранение дистрофических изменений гепатоцитов свидетельствует о том, что вирусная инфекция оказывает пролонгированное действие на печень. У человека такого рода изменения могут служить причиной длительного периода восстановления после перенесенной инфекции, обострения сопутствующих инфекций. При этом также нельзя исключить, что при отсутствии адекватной и эффективной терапии они могут привести к развитию так называемых идиопатических или криптогенных гепатитов и циррозов.

ВЫВОДЫ

– У животных, зараженных вирусом гриппа А/PR/8/34(H1N1) наблюдаются выраженные и устойчивые изменения в ткани печени, которые в значительно большей степени проявляются в контрольной группе, чем у животных, получавших МНФК "Гринизация". У этих животных можно отметить

лишь некоторое повышение изменения реакции клеток Купфера и выраженности лимфоидной инфильтрации портальных пространств, что отражает динамику процесса.

- МНФК "Гринизация" способствует быстрому купированию воспалительного процесса в печени, гармонизирует иммунный ответ, снижает выраженность дистрофических изменений, повышает устойчивость в условиях активизации вторичной микрофлоры.
- Применение комплекса "Гринизация" повышает защиту организма не только от гриппа, но и от постгриппозных осложнений.
- Результаты вирусологических, бактериологических и патоморфологических исследований свидетельствуют о том, что применение МНФК "Гринизация" существенно облегчает течение заболевания при экспериментальном гриппе, а также снижает риск развития не только бактериальных осложнений со стороны дыхательной системы, но и предотвращает или уменьшает интенсивность возникновения патологических изменений в других органах и системах, в частности, в печени.

***И.В. ГОМОЛЯКО,
**В.П. ЛОЗИЦКИЙ,
*Н.Е. КЛОЧКОВА,
**А.С. ФЕДЧУК,
**Т.Л. ГРИДИНА,
***А.В. БУЛАВКА,**

**Национальный институт хирургии и трансплантологии имени А.А. Шалимова АМН Украины, г. Киев,
**ГУ "Украинский научно-исследовательский противочумный институт имени И.И. Мечникова" МЗ Украины, Одесса,
*** Институт Здоровья Нации, г. Киев*

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Швец Н.И., Пидаев А.В., Бенца Т.М. Диагностика, лечение, иммунопрофилактика гриппа и других острых респираторных вирусных инфекций. – К.: КП-ОР "ДРУКАР", – 2009. – 224 с.
2. Мультинутриєнтний функціонально-пептидний комплекс Грінізація в клінічній практиці (методичні рекомендації). Міністерство охорони здоров'я України, Український центр наукової медичної інформації і патентно-лицезійної роботи. – Київ. – 2010. – 44 с.
3. Гомоляко И.В. Влияние мультинутриентного функционально-пептидного комплекса на динамику воспалительных изменений в лёгких животных, инфицированных вирусом А/PR/8/34(H1N1) / И.В.Гомоляко, В.П.Лозицкий, Н.Е.Клочкова, С.В.Поздняков, А.С.Федчук, Т.Л.Гридина, В.А.Пушкина, А.В.Булавка // Український пульмонологічний журнал – 2010. – №3. – С.49-52.
4. Лікувально-профілактична дія мультинутриєнтного функціонально-пептидного комплексу (МНФК) при гострих респираторних вірусних інфекціях (інформаційний лист про нововведення в системі охорони здоров'я). Міністерство охорони здоров'я України, Український центр наукової медичної інформації і патентно-лицезійної роботи. – Київ. – 2009. – 6 с.
5. Игрунова К.Н. Опыт применения МНФК „Гринизация” у больных гипертонической болезнью с метаболическим синдромом/ К.Н.Игрунова, О.А.Атаманенко// Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П.Л.Шупика. Випуск 17, книга 3, – К., 2008. – С. 191-204.
6. Лисяний Н.И. Влияние на иммунный статус больных гепатитом МНФК "GRINIZATION"/ Лисяний Н.И., Печенка А.М., Потапова А.И. // Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П.Л. Шупика випуск 17, книга 3, К.,2008. – С. 272-280.
7. Беляева Н.В. Терапевтические подходы к лечению хронического панкреатита на фоне ожирения с использованием МНФК "GRINIZATION"/ Беляева Н.В. // Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П.Л. Шупика випуск 17, книга 3, К.,2008. – С. 54-58.
8. Голубовская О.А. Метаболический синдром и стеатоз печени у больных вирусным гепатитом С и их коррекция МФПК "GRINIZATION" / Голубовская О.А. // Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П.Л. Шупика випуск 17, книга 3, К., 2008. – С. 93-99.
9. Печенка А.М. Тромбоцитопении при вирусном гепатите С и возможности её коррекции МНФК "Гринизация" / Печенка А.М., Голубовская О.А. // Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П.Л. Шупика випуск 17, книга 3, К.,2008. – С. 336-341.
10. Линник М.И. Мультинутриєнтний функціонально-пептидний комплекс "Грінізація" у лікуванні хворих на хронічні гепатити / Линник М.И., Печенка А.М., Голубовська О.А. // Сучасні інфекції – 2007. – №1. – С. 14-20.
11. Доклинические исследования лекарственных средств. Методические рекомендации: [ред. А.В.Стефанов]. – К.: Авиценна, 2002. – С. 395-420.
12. Лозицкий В.П. Некоторые методические подходы при изучении противогриппозных свойств ингибиторов протеолиза / В.П.Лозицкий // Методические проблемы экспериментальной химиотерапии вирусных инфекций. – Минск. – 1980. – С. 120-125;
13. Ашмарин И.П. Вычисление ЕД₅₀ при малом числе подопытных животных / И.П.Ашмарин // Ж. микробиол. – 1959. – №2. – С. 102-108.