

Иммунокорректирующие свойства фитопрепарата Тонзилгон Н

д.б.н. Л.П. Коваленко¹, Е.В. Шипаева¹, к.м.н. И.И. Кольченко²

ГУ НИИ фармакологии им. В.В. Закусова РАМН,
ООО «Бионорика», Москва

Введение

В настоящее время препарат растительного происхождения **Тонзилгон Н** (Бионорика А.Г., Германия) успешно применяется при различных инфекционных заболеваниях у детей и взрослых пациентов. У часто болеющих детей препарат Тонзилгон Н наиболее эффективен при назофарингите, остром и хроническом тонзиллите и фарингите. Острые и хронические тонзиллиты – одни из самых распространенных заболеваний, встречающихся в педиатрической практике, в осложненных случаях необходимо оперативное вмешательство. Однако по данным литературы тонзиллэктомия нередко назначается при недостаточных показаниях, кроме того имеются негативные последствия применения антибиотиков, в частности антибиотикорезистентность и аллергические реакции [2,3]. Острые респираторные заболевания (ОРЗ) вызывают различные нарушения иммунной системы, поэтому в профилактике и реабилитации больных используют иммуномодуляторы, которые оказывают направленное действие на разные звенья иммунной системы и малотоксичные препараты, обладающие поликомпонентным действием.

Препарат Тонзилгон Н обладает антиоксидантными свойствами и выраженным противовоспалительным действием. Было отмечено, что применение Тонзилгона Н способствует повышению противовирусного иммунитета преимущественно за счет увеличения продукции α -ИФ и γ -ИФ [6]. При лечении тонзиллита, ларингита, фарингита и ринита иммуностропное действие препарата Тонзилгона Н также заключается в стимуляции неспецифического иммунного ответа организма за счет повышения фагоцитарной активности макрофагов и гранулоцитов. У часто болеющих ОРЗ детей на фоне лечения Тонзилгоном Н было отмечено повышение фагоцитарной активности, повышение концентраций IgA и IgM в сыворотке крови и уменьшение дисиммуноглобулинемии [3,6]. Однако механизмы и пути реализации этих эффектов остаются еще не до конца изученными. В частности, нет современных публикаций по влиянию препарата на гуморальный и клеточный иммунный ответ в условиях иммунодефицита.

Цель исследования: оценка иммунокорректирующих свойств растительного препарата Тонзилгона Н в экспериментах на мышах с вторичным иммунодефицитом, вызванным введением циклофосфамида.

Материалы и методы исследования

Изучение иммунокорректирующего действия Тонзилгона Н на модели вторичного иммунодефицита, вызванного введением циклофосфамида, проводили с использованием методов оценки функциональной активности гуморального и клеточного иммунного ответа, согласно «Методическим указаниям по оценке иммунотоксического действия фармакологических средств» [4] и «Методическим указаниям по изучению иммуностропной активности фармакологических веществ» [5]. В работе использовали самцов мышей линии СВА и гибридов F₁ (СВА × С57BL/6), полученных из питомника РАМН «Столбовая», после двухнедельного карантина в виварии института. Животных содержали в стандартных условиях со свободным доступом к корму и воде. В качестве основного корма были использованы специализированные брикетированные гранулированные корма фирмы «МЭСТ», кроме того, животных докармливали свежими овощами и творогом. Подготовка к работе первичных данных и расчеты проводились в среде пакета статистических программ (PSP) STATISTICA (версия 6.0) для WINDOWS. Статистический анализ данных проводился с помощью t-критерия Стьюдента.

Влияние Тонзилгона Н на гуморальный иммунитет при вторичном иммунодефиците, вызванном введением циклофосфамида, изучали, применяя реакцию гемагглютинации (поставленную в микротитраторе Такачи, РПГА). Реакция основана на способности антител, содержащихся в сыворотке крови иммунизированных животных, агглютинировать эритроциты барана (ЭБ), используемые в качестве антигена.

Вторичный иммунодефицит индуцировали внутрибрюшинным (в/б) введением (однократно) мышам линии СВА алкилирующего агента – циклофосфамида (Sigma) в дозе 200 мг/кг, контрольным интактным животным анало-

Таблица 1. Влияние Тонзилгона Н на гуморальный иммунный ответ (РПГА) при пероральном введении препарата в течение 3–х дней мышам СВА с иммунодефицитом, вызванным введением циклофосфамида

Группа	Величина иммунного ответа при антигенной нагрузке 5×10^6 ЗБ	Количество животных в группе
Интактные	5,7±0,2	10
Контроль Циклофосфамид 200 мг/кг	4,1±0,3*	10
Тонзилгон Н 7 мг/кг Циклофосфамид 200 мг/кг	5,3±0,3 [#]	10
Тонзилгон Н 70 мг/кг Циклофосфамид 200 мг/кг	5,8±0,4 [#]	10

Примечание: В таблице представлены средние величины титра антител в log₂
 * – разница различий с интактной группой с уровнем значимости p<0,001
 # – разница различий с контрольной группой с уровнем значимости p<0,01

гичным образом вводили соответствующий объем растворителя – воды для инъекций. Через 24 часа после введения циклофосфида (ЦФ) мышам опытных групп перорально трехкратно вводили Тонзилгон Н, взвешенный в 1% растворе крахмала, в дозах 7 мг/кг и 70 мг/кг, животным интактной контрольной группы и контрольным животным с иммунодефицитом вводили аналогичным образом соответствующий объем 1% раствора крахмала. На 4–е сутки после введения ЦФ животных контрольных и опытных групп иммунизировали внутривенно эритроцитами барана (ЭБ) в дозе 5×10^7 клеток. Через 7 дней после иммунизации животных забивали декапитацией и получали сыворотку крови. Титр антител (наибольшее разведение сыворотки, при котором наблюдается отчетливая агглютинация ЭБ) выражали величиной $\log_2 T$, где T – титр антител исследуемой сыворотки.

Изучение действия Тонзилгона Н на клеточный иммунный ответ мышей с вторичным иммунодефицитом, также вызванным в/б введением 200 мг/кг ЦФ проводили на мышах гибридах F_1 (СВА \times С57BL/6). Через 24 часа после введения ЦФ мышам опытных групп перорально трехкратно вводили Тонзилгон Н в дозах 7 мг/кг и 70 мг/кг, животным контрольных групп соответствующий объем 1% раствора крахмала. Клеточный иммунный ответ изучали по реакции гиперчувствительности замедленного типа. Для этого на 4–е сутки после введения циклофосфида мышей контрольной и опытных групп иммунизировали подкожно 1×10^7 ЭБ в объеме 100 мкл. Разрешающую дозу антигена, 1×10^8 ЭБ в объеме 20 мкл, вводили на 5 день после сенсibilизации под апоневротическую пластинку правой задней конечности, в контрлатеральную лапу – соответственно 20 мкл физиологического раствора. Учет интенсивности воспалительной реакции проводили через 24 часа после разрешающей дозы антигена. Мышей забивали, обе лапы отрезали на уровне голеностопного сустава и взвешивали их на торсионных весах. Затем подсчитывали индекс реакции (I_p) по формуле:

$$I_p = \frac{P_{оп} - P_k}{P_k} \times 100\%;$$

где $P_{оп}$ – масса стопы задней лапы, в подушечку которой вводили ЭБ;

P_k – масса стопы контрольной лапы.

Результаты и их обсуждение

У мышей контрольной группы линии СВА вторичный иммунодефицит, вызванный введением ЦФ проявлялся в достоверном угнетении гуморального иммунного ответа на ЭБ на 28,1% по сравнению с интактными мышами (табл. 1, рис. 1). После 3–х кратного перорального введения Тонзилгона Н в дозах 7 мг/кг и 70 мг/кг происходило значимое увеличение показателей антителообразования до уровня, наблюдаемого у интактных мышей.

Результаты опытов по изучению действия Тонзилгона Н на клеточный иммунный ответ мышей с вторичным иммунодефицитом представлены в таблице 2 и на рисунке 2. Введение циклофосфида мышам гибридам F_1 (СВА \times С57BL/6) контрольной группы достоверно подавляло клеточный иммунный ответ на 25,8% по сравнению с группой интактных животных. После введения Тонзилгона Н в дозах 7 и 70 мг/кг мышам с вторичным иммунодефицитом обнаружено статистиче-

Сила Вашего здоровья!

Тонзилгон® Н



- Рекомендован при лечении острых и хронических заболеваний верхних дыхательных путей
- Устраняет боль и першение в горле, повышает иммунитет
- Применяется с первых дней жизни



БИОНОРИКА АГ
Тел.: (495) 502-90-19
факс: (495) 734-12-00
<http://www.bionorica.ru>
e-mail: bionorica@co.ru

ски достоверное восстановление клеточного иммунного ответа до показателей интактных мышей. Таким образом, полученные экспериментальные данные свидетельствуют о наличии иммунокорректирующих свойств у растительного препарата Тонзилгон Н.

Известно, что различные механизмы нарушений иммунного ответа сопровождаются последовательным возникновением признаков иммунодефицитной, аллергической, аутоиммунной и онкологической патологии. Инфекции, травмы, хронические физиологически и психические стрессы вызывают у ослабленных пациентов состояние вторичного иммунодефицита. Поэтому актуальным остается поиск препаратов с поликомпонентным механизмом действия, которые способны восстановить иммунный ответ.

Имунокорректирующие свойства Тонзилгона Н обусловлены тем, что в состав препарата входят следующие биологически активные компоненты растительного происхождения: *Althaeae radix* (корень алтея), *Chamomillae flores* (цветки ромашки), *Equiseti herba* (трава хвоща), *Juglandis folia* (листья грецкого ореха), *Achillea millefolium* (трава тысячелистника), *Quercus cortex* (кора дуба), *Taraxaci herba* (трава одуванчика лекарственного). Кроме того, входящие в состав Тонзилгона Н компоненты обладают выраженным антиоксидантным, противовоспалительным и бактерицидным действием.

В частности известно, что полисахариды *Althaeae radix* (корень алтея) представлены слизистым веществом, в состав полисахаридной фракции слизи входят остатки галактозы, глюкозы арабинозы, рамнозы и галак-

туроновой кислоты. Корень алтея обладает противокашлевым и иммуностимулирующим действием и широко применяется при респираторных заболеваниях. Внутривентриальное введение полисахаридной фракции, выделенной из водного экстракта *Althaeae radix*, при введении лабораторным животным в дозе 50 мг/кг подавляет интенсивность и частоту кашля, индуцированного механическим раздражением ларингофарингеальной и трахеобронхиальной слизистой. Причем противокашлевая активность полисахаридной фракции была более выраженной, чем эффективность преноксдиазина (*prenoxidiazine*), вводимого в дозе 30 мг/кг. Известно, что водный экстракт *Althaeae radix* обладает иммуностимулирующими свойствами в отношении моноцитов человека *in vitro*. Внутривентриальное введение слизистых полисахаридов мышам в дозе 10 мг/кг повышает в 2,2 раза фагоцитарную активность макрофагов. При введении мышам полисахаридов алтея одновременно с иммунизацией эритроцитами барана или после нее происходило увеличение в 2–3 раза количества антителообразующих клеток в селезенке и относительной массы селезенки, усиление в 3 раза интенсивности фагоцитоза эритроцитов барана, стимуляция интенсивности клеточной реакции гиперчувствительности замедленного типа [14].

Taraxaci herba (трава одуванчика лекарственного) содержит каротиноиды: тараксантин, лютеин, флавоксантин, инулин, сесквитерпеновые лактоны, тритерпеновые спирты, витамин С, холин, никотиновую кислоту, сапонины, железо, кальций, марганец (24%) и фосфор. Было показано иммуномодуляторное влияние *Taraxaci*

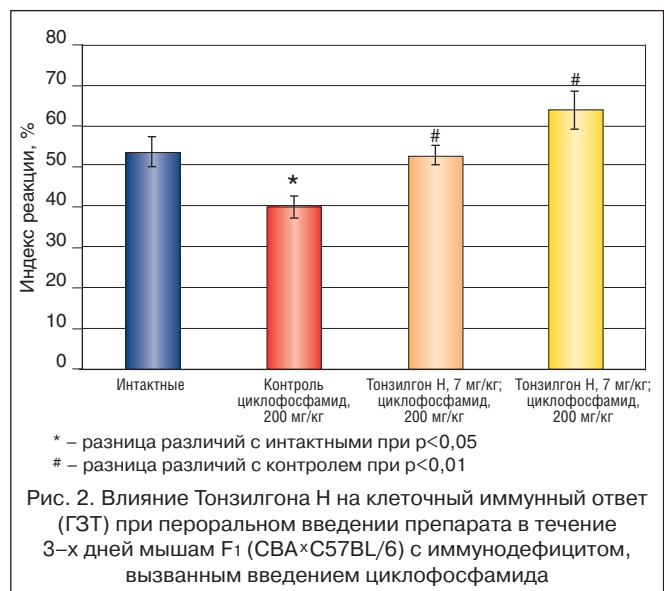
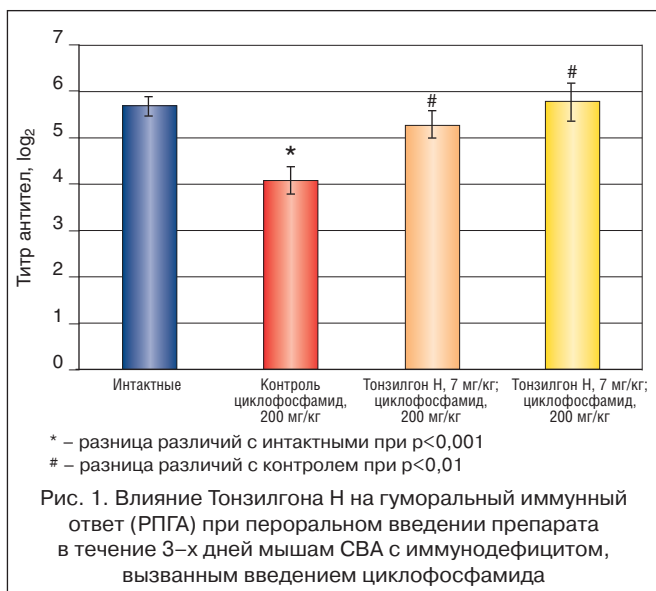


Таблица 2. Влияние Тонзилгона Н на клеточный иммунный ответ (ГЗТ) при пероральном введении препарата в течение 3-х дней мышам F1(СВА×С57ВL/6) с иммунодефицитом, вызванным введением циклофосфамида

Группа животных	Индекс реакции: $I_p = \frac{P_{оп} - P_k}{P_k} \times 100\%$	Количество животных в группе
Интактные	53,4±4,0	10
Контроль Циклофосфамид 200 мг/кг	39,6±2,6*	9
Тонзилгон Н 7 мг/кг Циклофосфамид 200 мг/кг	52,7±2,4#	10
Тонзилгон Н 70 мг/кг Циклофосфамид 200 мг/кг	63,9±4,8#	10

Примечание: * – разница различий с интактной группой с уровнем значимости $p < 0,05$; # – разница различий с контрольной группой с уровнем значимости $p < 0,01$

herba на неспецифический, гуморальный и клеточный иммунный ответ мышей с иммунодепрессией, вызванной ожогами, происходило восстановление параметров иммунной системы [10]. Также было отмечено восстановление функциональной активности перитонеальных макрофагов мышей после токсического действия кадмия [9].

***Chamomillae flores* (цветки ромашки)** обладают противовоспалительным, противоаллергическим, спазмолитическим, антибактериальным, противовирусным, противовоспалительным, антиоксидантным и др. действиями. В состав *Chamomillae flores* входят терпеноиды (*chemazulen*, *bisabolol*, *sesquiterpenes*), флавоноиды (апигенин, лютеолин, кверцетин) и другие биологически активные вещества, определяющие большой круг фармакологической активности растения. *Bisabolol* подавляет развитие индометацинового, стресс- и алкоголь-индуцированного язвобразования. Также было показано ускорение заживления язв. Флавоноиды обуславливают противовоспалительные и спазмолитические свойства *Chamomillae flores*, также *in vitro* была показана их иммуностимулирующая активность [8].

***Equiseti herba* (трава хвоща)** содержит аскорбиновую кислоту (до 0,19%), каротин, сапонин эквизетонин (около 5%), флавоноиды (кверцетин, изокверцетин, кемпферол, лютеолин, эквизетрин), жиры, никотин, кремниевую (до 25%), аконитовую, яблочную, щавелевую кислоты, горечи, дубильные и смолистые вещества, минеральные соли, фенолкарбоновые кислоты, ситостерол. Выделенный из растения 5-глюкозидлютеолин проявляет антимикробные и противовоспалительные свойства. При каррагенан-индуцированном воспалении у крыс экстракт в дозе 50 мг/кг уменьшал отек лапы крыс на 2 и 4 ч после введения каррагенана. Трава хвоща полевого, проявляет выраженный иммуномодулирующий эффект: при применении препарата верифицированы достоверное повышение (до показателей физиологической нормы) уровня В-лимфоцитов в периферической крови, некоторое повышение уровня Т-лимфоцитов, нормализация хелперно-супрессорного соотношения за счет повышения содержания Т-хелперов и снижения Т-супрессоров в крови [11].

***Juglandis folia* (листья грецкого ореха)** содержат дубильные вещества, эфирное масло, гидроюглон, быстро окисляющийся в юглон, обладающий бактерицидным действием, каротин, витамины С, РР, В₁, альдегиды, алкалоиды, флавоноиды, кумарины, антоцианы, хиноны. Из листьев грецкого ореха дистилляцией выделяют 26 терпеноидных веществ: 21 монотерпенов, 2 сесквитерпена, 1 дитерпен и 2 компонента – производных терпеноидов. Листья грецкого ореха обладают бактерицидным, тонизирующим, противовоспалительным действием [12].

***Achillea millefolium* (трава тысячелистника)** содержит горький гликозид ахиллеин, эфирное масло, в состав которого входят азулены, сложные эфиры, туйол, цинеол, кариофиллен, камфора, муравьиная, изовалериановая, уксусная кислоты, флавоноиды. В траве также содержатся дубильные вещества, смолы, каротин, витамины С, К, фитонциды, инулин, алкалоиды и др. Растение обладает противовоспалительными, кровоостанавливающим и бактерицидным, спазмолитическим, противоаллергическим, противоязвенным и желчегонным действием. Спазмолитическое действие связано с содержащимися в

растении флавоноидами и составными компонентами эфирного масла. Также было установлено, что экстракт тысячелистника проявляет выраженную антифунгальную активность в отношении *T. ajelloi* и *M. gypseum* [1].

***Quercus cortex* (кора дуба)** содержит 10–20% дубильных веществ – производных галловой и эллаговой кислот; 13–14% пентозанов; до 6% пектиновых веществ; кверцетин, катехины, слизь, крахмал и флорафен. Комплекс биологически активных веществ коры дуба обладает вяжущим, противовоспалительным и противомикробным действием. Противомикробное и противопротозойное действие связано как с производными галловой кислоты, так и с наличием катехинов. Кверцетин (3,5,7,3',4'-пентаоксифлавоноид) является одним из наиболее мощных антиоксидантов. Кверцетин обладает противовоспалительным и противовоспалительным действием: блокирует выработку гистамина, серотонина и лейкотриенов, стабилизирует клеточные мембраны, снижает проницаемость капилляров. Известно, что добавление в пищу кверцетина значительно уменьшает период течения заболеваний верхних респираторных путей [13]. Добавление в культуру клеток водного экстракта *Quercus cortex*, содержащего эллагиевую кислоту увеличивало выживаемость тимоцитов мыши [7].

Таким образом, полученные нами экспериментальные данные согласуются с данными литературы и подтверждают **наличие у препарата Тонзилгона Н иммунокорректирующих свойств**. Кроме того, важно отметить, что проведенные нами эксперименты продемонстрировали синергизм компонентов фитопрепарата в комбинированном экстракте.

Литература

1. Бадалян С.М., Толчян А.В. Исследование природных противогрибковых средств растительного происхождения. // Успехи медицинской микологии. М. – 2003. С. 88–90.
2. Дрынов Г.И., Иванюшина О.К., Дьякова Ф.Н. Профилактика и терапия респираторных инфекций при проведении курса специфической иммунотерапии. // Лечащий врач. – 2001. – №3. С.45–47.
3. Дрынов Г.И., Иванюшина О.К., Дьякова Ф.Н.. Результаты лечения детей с хроническим тонзиллитом препаратом Тонзилгон Н // Детский доктор. – 2001. – №1. С.67–69.
4. Методические указания по оценке иммунотоксического действия фармакологических веществ – в Руководстве по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ под общей редакцией члена-корреспондента РАМН, профессора Р.У. Хабриева, М. Медицина. – 2005. С.70–86.
5. Методические указания по изучению иммунотропной активности фармакологических веществ – в Руководстве по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ под общей редакцией члена-корреспондента РАМН, профессора Р.У. Хабриева, М. Медицина. – 2005. – С. 501–514.
6. Смирнова Г.И. Опыт применения Синупрета и Тонзилгона Н для профилактики и лечения острых респираторных заболеваний у часто болеющих детей. // Детский доктор. – 2001. – №1. – С. 25–29.
7. Drozd J., Anuszevska E. The influence of plant raw materials, containing ellagic acid and selected antibiotics on immunological response in mice. // Acta Pol. Pharm. – 2005. – Vol. 62, N 3. – P. 237–240.
8. Fritz W. R., Fintelmann V. // Herbal Medicine, Thieme Medical Publishers; 2 edition. – 2000. – P. 40–46.
9. Kim H.M., Lee E.H., Shin T.Y. et al. Taraxacum officinale restores inhibition of nitric oxide production by cadmium in mouse peritoneal macrophages. // Immunopharmacol. Immunotoxicol. – 1998. – N 2. – P. 283–297.
10. Luo Z. The use of Chinese traditional medicines to improve impaired immune functions in scald mice. // Zhonghua Zheng Xing Shao Shang Wai Ke Za Zhi. – 1993. – N1. – P. 56–58.
11. Monte F.H.M.; Santos J nior J.G.; Russi M. et al. Antinociceptive and anti-inflammatory properties of the hydroalcoholic extract of stems from Equisetum arvense L. in mice. // Pharmacological Research. – 2004, Vol. 49. – N 3. – P. 239–243.
12. Nahrstedt A, Vetter U, Hammerschmidt F.J. Composition of the Steam Distillation Product from the Leaves of Juglans regia. // Planta Med. – 1981. – Vol. 42. – N8. – P. 313–332.
13. Nieman D.C., Henson D.A., Gross S.J., Quercetin reduces illness but not immune perturbations after intensive exercise. // Med. Sci.Sports Exerc. – 2007. – Vol. 39. – N 9. – P. 1561–1569.
14. Nosal'ova G. Antitussive efficacy of the complex extract and the polysaccharide of marshmallow (Althaea officinalis L. var. Robusta). // Pharmazie. – 1992. – N 47. – P. 224–226.