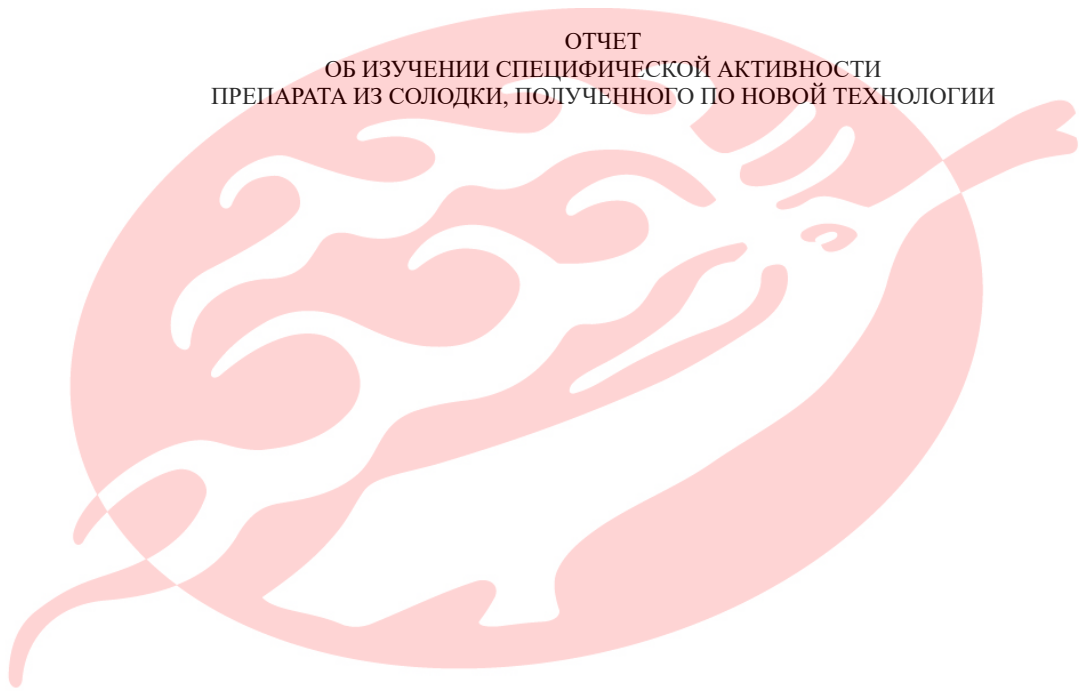


«Утверждаю»
Директор НИИ фармакологии ТНЦ СО РАМН
академик РАМН, профессор Е.Д. Гольдберг
19 декабря 2001 г.

ОТЧЕТ
ОБ ИЗУЧЕНИИ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ
ПРЕПАРАТА ИЗ СОЛОДКИ, ПОЛУЧЕННОГО ПО НОВОЙ ТЕХНОЛОГИИ



ПантоПроект

В современной медицине препараты солодки применяются как спазмолитические, холинолитические, антигистаминные, отхаркивающие, противовоспалительные, слабительные, мочегонные средства. Однако технология получения официального экстракта достаточно устарела. Применение новых технологических процессов позволяет добиться более полного извлечения биологически активных веществ и повышения активности готового экстракта солодки. Ввиду исключительности характера фармакологической активности препаратов солодки, поиск повышения их эффективности за счет создания новых препаратов из данного растительного сырья на основе новых технологических решений остается актуальным.

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ЭКСТРАКТА СОЛОДКИ НА ТЕЧЕНИЕ СТРЕССОРНОЙ И ОСТРОЙ ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИЙ

Были выполнены исследования влияния препарата солодки, полученного по новой технологии, смеси пантогематогена и нового препарата из солодки в различных разведениях на течение стрессорной и острой воспалительной реакций в сравнении с официальным экстрактом солодки и пантогематогеном.

Материал и методы исследования

В экспериментах использованы беспородные мыши-самцы в количестве 170 штук в возрасте 2-2,5 месяцев массой 20-22 г. Животные 1 категории получены из коллекционного фонда лаборатории экспериментального биологического моделирования Института фармакологии ТНЦ СО РАМН (сертификат имеется). Опыты проводили в октябре-ноябре, забор материала осуществляли в утренние часы. До начала исследования экспериментальных животных выдерживали в течение недели на обычном пищевом режиме по 10 особей в пластиковых клетках. Мышей умерщвляли методом дислокации шейных позвонков под эфирным наркозом после экспериментальных воздействий.

Исследованные препараты:

1. Официальный экстракт корня солодки сухой (ОЭС)
2. Экстракт солодки сухой, полученный по новой технологии (ЭСНП)
3. Пантогематоген — препарат из пантов и крови маралов (ПГ)
4. Пантогематоген и экстракт солодки сухой (ПГ+ЭСНП)

Препараты исследовались в следующих дозах: (ОЭС) — 50 мг/кг; (ЭСНП) — 10, 50, 200 мг/кг; (ПГ) — 50 мг/кг; (ПГ+ЭСНП) — 25,50 мг/кг (в равных долях).

Введение препаратов осуществлялось курсом в течение 4-х дней, до экспериментального воздействия, один раз в день зондом в желудок в объеме 0,2 мл/мышь. И 5-й раз за 1 час до стресса или введения каррагинена.

Иммобилизационный стресс создавался подвешиванием животных за шейную складку на 22 часа. По истечении времени животных снимали, затем через 10 минут после снятия, у них изучали ориентировочно-исследовательское поведение в открытом поле, стандартными гематологическими методами определяли показатели периферической крови (общее количество лейкоцитов), после чего животных забивали и определяли вес селезенки, тимуса, надпочечников, подсчитывали количество язв на слизистой оболочке желудка и рассчитывали весовые коэффициенты органов в пересчете на 20 г массы тела. Затем по методу Ю.И. Добрякова [2] определяли степень выраженности стресса в баллах. Препарат считали активным, если разница в оценке выраженности стресса в опытной и контрольной группах составляла два и более баллов.

Ориентировочно-исследовательское поведение изучалось в условиях методики «открытое поле» [1, 3]. Экспериментальная установка «Открытое поле» представляла из себя камеру размером 40×40×20 см с квадратным полом и стенками белого цвета. Ее пол, разделенный на 16 квадратов, имел в каждом квадрате круглое отверстие диаметром 3 см. Сверху камера освещалась электрической лампой накаливания мощностью 100 ватт, расположенной на высоте 1 м от пола. Мышь помещалась в один из углов камеры и в течение 2-х минут у нее регистрировали количество перемещений с квадрата на квадрат (горизонтальная активность), количество вставаний на задние лапки (вертикальная активность), количество обследований отверстий (норковый рефлекс), количество умываний (груминг) и количество актов дефекации по числу фекальных шариков (болюсов), вычислялся также коэффициент асимметрии поведения в виде отношения количества горизонтальных перемещений к общей двигательной активности, выраженный в процентах.

Определение показателей периферической крови

Изучение общего количества лейкоцитов, подсчет лейкоцитарных формул осуществляли стандартными гематологическими методами. Мазки крови фиксировали в метаноле в течение 3-5 минут и после высушивания окрашивали по Нохту-Максимову.

Противовоспалительное действие оценивали по развитию отека лапы, вызванному субплантарным (под подошвенный или плантарный апоневроз) введением мышам 0,05 мл 1% раствора каррагинена (сульфатированный полисахарид из ирландского морского мха) [5]. Забор крови из хвостовой вены производили через 3 часа после инокуляции каррагинена. Через 3,5 часа животных забивали, лапы отрезали до коленного сустава. На торсионных весах определялась отдельно масса правой и левой конечности. Противовоспалительный эффект, оцениваемый по уменьшению отека, выражали в процентах к контролю. Величину отека определяли по разности масс воспаленной и невоспаленной лап животного, процент прироста рассчитывали по формуле:

$$\% \text{ прироста} = \frac{\text{масса больной конечности} - \text{масса здоровой конечности}}{\text{масса здоровой конечности}} \times 100\%$$

Контрольные животные получали в эквивалентном объеме дистиллированную воду (контроль). Статистическую обработку результатов проводили методом вариационной статистики с применением t-критерия Стьюдента и методом непараметрической статистики Вилкоксона-Манна-Уитни. Результаты экспериментов представлены в таблицах 1-5.

1. Исследование активности препарата на модели иммобилизационного стресса

Как следует из приведенных данных (таблицы 1-3), стресс вызывал у контрольных животных комплекс изменений, как во внутренних органах и системах, так и в поведении: снижалась масса тимуса, селезенки и надпочечников, уменьшалось общее количество лейкоцитов, отмечался процесс язвообразования в желудке, со стороны ориентировочно-исследовательского поведения наблюдалось снижение норкового рефлекса и увеличение коэффициента асимметрии. Предварительное курсовое введение препаратов солодки и пантогематогена предупреждало возникновение большей части изменений, вызванных стрессом: так все исследованные препараты, за исключением ОЭС и ЭСНП в дозе 50 мг/кг, препятствовали развитию лейкопении, под действием ЭСНП в дозах 10 мг/кг и 50 мг/кг, ПГ инволюция селезенки была менее выражена, в дозе 10 мг/кг ЭСНП, обе смеси ПГ и ЭСНП препятствовали уменьшению массы надпочечников, а ОЭС и смесь ПГ и ЭСНП в дозах 50 мг/кг оказывали защитное действие на слизистую оболочку желудка. Принимая во внимание индекс Паулса и выраженность стресса в баллах, можно заключить, что антистрессорной активностью в разной степени обладали все исследованные препараты, при этом наибольший эффект наблюдался **при введении смеси пантогематогена и экстракта солодки, полученного по новой технологии**, в дозах 50 мг/кг и 25 мг/кг, экстракта солодки, полученного по новой технологии, в дозе 10 мг/кг и пантогематогена в дозе 50 мг/кг.

2. Исследование активности препарата на модели каррагенинового воспаления

Результаты исследования препаратов солодки, пантогематогена и их смеси на развитие воспалительной реакции, вызванной каррагенином, представлены в таблице 4. При введении ЭСНП в дозе 50 мг/кг и смеси ПГ и ЭСНП в дозах 50 мг/кг наблюдалось снижение развития отека лапы в 1,4 раза, достоверное торможение развития отека наблюдалось при введении ПГ и смеси ПГ и ЭСНП в дозе 25 мг/кг в 1,5 и 1,7 раза соответственно.

Значимым противовоспалительным эффектом считается торможение развития отека более чем на 20 процентов. Исходя из этого, исследуемые препараты по степени выраженности противовоспалительного эффекта можно разделить на три группы: препараты со слабо выраженной противовоспалительной активностью (ЭСНП в дозе 10 мг/кг, ОЭС, ЭСНП в дозе 200 мг/кг), препараты со средней противовоспалительной активностью (ЭСНП в дозе 50 мг/кг, смесь ПГ и ЭСНП в дозах 50 мг/кг), препараты с выраженной противовоспалительной активностью (ПГ, смесь ПГ и ЭСНП в дозах 25 мг/кг) (таблица 4).

Изменение показателей периферической крови через 3 часа после введения каррагенина, представлены в таблице 5. Как видно из таблицы, при моделировании острого каррагенинового воспаления наблюдалось достоверное увеличение общего количества лейкоцитов (ОКЛ) во всех исследуемых группах. Повышение уровня ОКЛ было связано с увеличением числа сегментоядерных (во всех исследованных группах) и палочкоядерных нейтрофилов (в группах ЭСНП в дозе 50 мг/кг и смесь ПГ и ЭСНП в дозе 25 мг/кг более выражено, чем группе «контроль-воспаление»). При введении животным ОЭС, ЭСНП в дозе 10 мг/кг и обеих доз смесей ПГ и ЭСНП повышалось число лимфоцитов в периферической крови по сравнению с группой «контроль-воспаление». Динамика содержания моноцитов в периферической крови под влиянием всех исследуемых препаратов (за исключением ОЭС и смеси ПГ и ЭСНП в дозе 25 мг/кг) повторяла таковую в группе интактного контроля. При введении животным ОЭС и смеси ПГ и ЭСНП в дозе 25 мг/кг наблюдалось достоверное увеличение числа моноцитов по сравнению с группой «контроль-воспаление».

ЭСНП в дозе 10 мг/кг, 200 мг/кг, ПГ и смеси ПГ и ЭСНП в дозе 50 мг/кг снижали, а ОЭС, ЭСНП в дозе 50 мг/кг смесь ПГ и ЭСНП в дозе 25 мг/кг не влияли на содержание эозинофилов в периферической крови по сравнению с группой «контроль-воспаление».

Таким образом, наиболее активно влияют на развитие острого воспаления, вызванного флогогеном каррагенином, смесь пантогематогена и ЭСНП в дозе 25 мг/кг и пантогематоген. Менее активны были смесь пантогематогена и ЭСНП в дозе 50 мг/кг и ЭСНП в дозе 50 мг/кг. Официальный препарат солодки в данном случае обнаружил существенно меньшую противовоспалительную активность.

ВЫВОДЫ

1. Экстракт солодки, полученный по новой технологии, обладает антистрессорной и противовоспалительной активностями. Противовоспалительная активность превосходит таковую у официального экстракта.
2. Среди всех исследуемых препаратов наибольшей активностью обладает смесь пантогематогена и препарата солодки, полученного по новой технологии.

ОЦЕНКА ИММУНОТРОПНЫХ СВОЙСТВ ЭКСТРАКТА СОЛОДКИ

Изучение иммуностропных свойств экстракта солодки, полученного по новой технологии (далее — ЭСНП) проводилось согласно «Методическим рекомендациям по изучению иммуностропной активности фармакологических веществ» [6] и «Методическим указаниям по оценке иммуноксического действия фармакологических веществ» [7].

Имуностропные свойства оценивались по влиянию препарата на:

- гуморальный иммунный ответ при иммунизации тимусзависимым антигеном (эритроциты барана — ЭБ);
- фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов в тесте с нейтральным красным;
- реакцию гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ), индуцированную ЭБ, дающую интегральную характеристику эффекторных клеточных реакций иммунной системы.

Эксперименты проведены на 136 мышах — самках СВА/Са Лас массой 16-18 г, полученных из коллекционного фонда лаборатории экспериментального биомоделирования НИИ фармакологии ТНЦ СО РАМН (сертификат имеется).

Препараты, перечисленные в предыдущей главе, вводили per os в виде взвеси в дистиллированной воде в объеме 0,2 мл курсом в течение 5 дней.

Исследование иммуностропных свойств ЭСНП носило скрининговый характер, основной задачей которого было выявление наиболее эффективной дозы препарата.

Статистическая обработка результатов осуществлялась с применением пакета статистических программ «Statistica 5,11» с предварительной оценкой нормальности распределения и использованием t-критерия Стьюдента.

3. Влияние ЭСНП на клеточность кроветворных и лимфоидных органов

После 5-дневного курсового введения ОЭС, ЭСНП, ПГ или ПГ+ЭСНП общепринятыми методами [7,8] определяли общее количество лейкоцитов (ОКЛ) в периферической крови, общее количество кариоцитов в костном мозге (ОКК), клеточность

иммунокомпетентных (тимуса, селезенки) органов (ОКТ и ОКС). Результаты этих экспериментов приведены в таблице 6.

Таблица 6. Влияние ЭСНП на общую клеточность кроветворных и лимфоидных органов мышей линии СВА/Са Лас ($X \pm m$)

Эксперим. группы	ОКЛ (Г/л)	ОКК ($\times 10^6$ /орган)	ОКТ ($\times 10^6$ /орган)	ОКС ($\times 10^6$ /орган)
Фон	10,05 \pm 0,51	12,31 \pm 0,67	93,20 \pm 2,60	133,50 \pm 6,52
<u>Контроль 1</u> ОЭС 50	15,35 \pm 0,38*	15,69 \pm 1,13	54,25 \pm 0,66*	147,20 \pm 6,56
<u>Опыт 1</u> ЭСНП 10	11,08 \pm 0,05 $P_{K1}=0,0004$	16,59 \pm 0,39*	53,00 \pm 1,14*	151,80 \pm 5,22
<u>Опыт 2</u> ЭСНП 50	11,67 \pm 0,72 $P_{K1}=0,02$	14,88 \pm 1,17*	82,00 \pm 7,64 $P_{K1}=0,02$ $P_{O1}=0,02$	130,40 \pm 8,98
<u>Опыт 3</u> ЭСНП 200	16,10 \pm 0,93* $P_{O1}=0,006$ $P_{O2}=0,03$	16,88 \pm 0,41*	89,00 \pm 3,82 $P_{K1}=0,001$ $P_{O1}=0,0009$	136,20 \pm 6,2
<u>Опыт 4</u> ПГ 50	9,46 \pm 0,87 $P_{K1}=0,004$ $P_{O3}=0,003$	14,50 \pm 0,87 $P_{O3}=0,02$	79,40 \pm 2,68* $P_{K1}=0,0006$ $P_{O1}=0,001$	73,00 \pm 2,10* $P_{K1}=0,0006$ $P_{O1}=0,00005$ $P_{O2}=0,004$ $P_{O3}=0,0009$
<u>Опыт 5</u> ПГ+ЭСНП25	9,50 \pm 0,21 $P_{K1}=0,0002$	14,50 \pm 1,03	99,67 \pm 1,74 $P_{K1}=0,00001$ $P_{O4}=0,001$	105,64 \pm 3,63* $P_{K1}=0,003$ $P_{O4}=0,0005$
<u>Опыт 6</u> ПГ+ЭСНП50	8,15 \pm 0,34* $P_{K1}=0,0004$	13,31 \pm 0,52	65,00 \pm 2,95* $P_{K1}=0,01$ $P_{O4}=0,02$	92,40 \pm 3,20* $P_{K1}=0,003$ $P_{O4}=0,0007$

Примечание (здесь и в табл. 7, 8, 9):

* - различия с соответствующими значениями фона достоверны;

P_{K1} — достоверность различий с группой, указанной в «индексе».

Анализ результатов, представленных в таблице 6, показал, что курсовое 5-дневное введение ЭСНП приводило к повышению в сравнении с интактными животными уровня лейкоцитов в периферической крови мышей только в дозе 200 мг/кг (опыт 3). Также, высокое содержание ОКЛ было выявлено в группе животных, получивших препарат ОЭС (контроль 1), тогда как низкие по сравнению с фоном значения данного показателя были отмечены у мышей, которым вводили ПГ+ЭСНП в дозе 50 мг/кг (опыт 6). Повышение по сравнению с фоном общей клеточности мозга было выявлено в группах мышей после курсового введения ЭСНП дозах 10, 50 и 200 мг/кг (опыт 1, 2, 3), ПГ+ЭСНП 50 (опыт 6). Достоверных различий в данном показателе опытных (1-6) групп с контрольной (ОЭС) не отмечено.

Введение ЭСНП мышам привело к снижению ОКТ в группах опыт 1 (ЭСНП 10), контроль 1 (ОЭС) и опыт 4 и 6 (ПГ 50, ПГ+ЭСНП 50) в сравнении со значениями у интактных животных. Значение ОКТ в контрольной группе (ОЭС) было значительно ниже, чем в группах опыт 2 и 3 (при введении ЭСНП в дозах 50 и 200 мг/кг), в группах сравнения — опыт 4 (ПГ), опыт 5 и 6 (ПГ+ЭСНП 25 и 50).

Показатели ОКС в исследуемых опытных группах (опыт 1-3) достоверно не отличались от соответствующих фоновых и контрольных значений. В группах сравнения (опыт 5 и 6) совместное введение пантогематогена и экстракта солодки привело к достоверному снижению данного показателя по отношению к фоновым и контрольным значениям. При этом введение только пантогематогена (опыт 4) привело к значительному снижению ОКС в сравнении со всеми изученными группами.

Таким образом, курсовое введение ЭСНП приводит к возрастанию ОКЛ и ОКК при использовании препарата в дозе 200 мг/кг (опыт 3), увеличению содержания ОКК — в дозе 50 мг/кг и снижению ОКТ с одновременным повышением ОКК — в дозе 10 мг/кг. При сравнении эффектов, полученных после применения препарата ЭСНП в разных дозах, и контрольного препарата (ОЭС), было выявлено, что ЭСНП в дозах 10 и 50 мг/кг не приводил к возрастанию ОКЛ (как в случае с контрольной группой), а в дозах 50 и 200 мг/кг — не способствовал столь значительному снижению ОКТ.

4. Влияние ЭСНП на гуморальный иммунный ответ

При изучении гуморального иммунного ответа мышей иммунизировали минимальной дозой ЭБ [6] — 5×10^6 / мышь (однократно внутрибрюшинно в объеме 0,2 мл) в конце 5-дневного курса введения ОЭС, ЭСНП, ПГ или ПГ+ЭСНП. На 4 сутки после иммунизации определяли абсолютное ($\times 10^6$ /орган) количество антителообразующих клеток (АОК) в селезенке мышей по методу Cuningham [9] и титр антител (АТ) в сыворотке крови с помощью стандартной реакции гемагглютинации (РГА) (таблица 7).

Таблица 7. Влияние ЭСНП на гуморальный иммунный ответ мышей линии СВА/Са Лас (X±m).

Эксперим. группы	АОК (x10 ⁶ /орган)	АТ (log ₂ T)
Фон	4,62±0,59	0
<u>Контроль 1</u> ЭБ	12,01±0,32*	13,72±1,83*
<u>Контроль 2</u> ОЭС+ЭБ	15,43±2,46*	10,92±0,24*
<u>Опыт 1</u> ЭСНП 10+ЭБ	15,41±2,01*	10,12±0,49*
<u>Опыт 2</u> ЭСНП 50+ЭБ	10,84±0,50* P _{K1} =0,03 P _{O1} =0,006	9,92±0,24*
<u>Опыт 3</u> ЭСНП 200+ЭБ	21,02±1,31* P _{K1} =0,002 P _{K2} =0,04 P _{O1} =0,01 P _{O2} =0,04	11,52±0,49*
<u>Опыт 4</u> ПГ50+ЭБ	15,00±1,13* P _{O3} =0,04	8,32±0,83* P _{K2} =0,03 P _{O3} =0,01
<u>Опыт 5</u> ПГ+ЭСНП25+ЭБ	17,41±0,58* P _{K1} =0,004	2,93±1,9 P _{K1} =0,01 P _{O4} =0,05
<u>Опыт 6</u> ПГ+ЭСНП50+ЭБ	20,80±0,28* P _{K1} =0,0001 P _{O4} =0,006	6,66±1,75* P _{K1} =0,01

При исследовании абсолютного количества АОК в селезенке животных, иммунизированных после курсового введения ЭСНП в дозе 10 мг/кг, не было выявлено различий с группами контроль 1 и 2. При введении животным ЭСНП в дозе 200 мг/кг было отмечено значительное нарастание абсолютного числа АОК в селезенке в сравнении с группами K1, K2, O1, 2 и 4. При сочетанном применении ЭСНП и ПГ в обеих дозировках было выявлено высокое содержание АОК в селезенке по сравнению с группой K1, а в группе ПГ+ЭСНП 50 в сравнении с опытными группами (O1, 2, 4).

Определение суммарного титра антител в сыворотке крови мышей, получивших антиген после курсового введения ЭСНП, не выявило отличий с контрольными значениями (контроль 1 и 2). При сочетанном введении препаратов ЭСНП и ПГ (ПГ+ЭСНП 25 и 50) было отмечено достоверное снижение титра антител в сыворотке крови по сравнению с контролем 1 (ЭБ).

Таким образом, ЭСНП в исследуемых дозах 10 и 50 мг/кг не оказал значимого влияния на функциональную активность клеток-антителопродуцентов. Вместе с тем, при достоверном снижении абсолютного содержания АОК в селезенке мышей, получивших ЭСНП в дозе 50 мг/кг, суммарный титр антител в сыворотке крови не отличался от контрольных значений, что может косвенно свидетельствовать о сохранении функциональной активности АОК животных данной группы. Достоверный рост абсолютного числа АОК в селезенке в сравнении с контрольными значениями был отмечен при введении ЭСНП в дозе 200 мг/кг.

5. Влияние ЭСНП на фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов (ФАПМ)

Реакция определения фагоцитарной активности перитонеальных макрофагов [10] основана на измерении плотности лизирующего раствора после разрушения фагоцитов, поглотивших частицы нейтрального красного. После декапитации мышам внутрибрюшинно вводили 5 мл раствора Хенкса, массировали переднюю стенку брюшной полости и производили забор ее содержимого шприцем. Концентрацию живых клеток доводили до 0,75x10⁶ клеток/мл. Полученную суспензию разливали в пластиковые чашки Петри диаметром 40 мм, инкубировали 1 час при 37°C, затем сливали надосадок, а фиксированный осадок дважды промывали раствором Хенкса, подсушивали чашки и приливали раствор нейтрального красного, приготовленный из 1 части насыщенного раствора нейтрального красного и 99 частей раствора Хенкса. После инкубации в течение 1 часа при 37°C надосадок сливали, и в каждую чашку добавляли по 3 мл лизирующего раствора (8 мл 0,2 М раствора Na₂HPO₄ x 12H₂O соединяли с 12 мл 0,1 М раствора лимонной кислоты, с помощью 1 N раствора NaOH доводили pH до 4,2; к 24 частям полученного цитратного буфера добавляли 76 частей 96% этанола) и перемешивали вращательными движениями. Раствор сливали в кюветы шириной 0,5 см и измеряли оптическую плотность на КФК-2МП при длине волны 540 нм, выражая активность перитонеальных макрофагов в единицах оптической плотности x 1000.

Введение ЭСНП в дозе 50 мг/кг приводило к достоверному повышению ФАПМ относительно K1 и O1. Дозы ЭСНП 10 и ЭСНП 200 (O1, O3) не оказали существенного влияния на исследуемый показатель. При совместном введении ПГ и ЭСНП (группы ПГ+ЭСНП 25 и 50) было отмечено существенное нарастание ФАПМ, возможно за счет значительного вклада ПГ в общий эффект на что указывает повышение данного показателя у мышей, получивших только ПГ (O4). Полученные данные представлены в таблице 8.

Таблица 8. Влияние ЭСНП на фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов мышей линии СВА/Са Лас ($X \pm m$)

Эксперим. группы	ФАПМ (у.е.)
Фон	55,20±4,66
<u>Контроль 1</u> ОЭС	44,25±2,80*
<u>Опыт 1</u> ЭСНП 10	47,4±4,09*
<u>Опыт 2</u> ЭСНП 50	76,6±5,80* $P_{K1}=0,007$ $P_{O1}=0,005$
<u>Опыт 3</u> ЭСНП 200	49,2±3,99 $P_{O2}=0,05$
<u>Опыт 4</u> ПГ 50	86,4±3,85* $P_{K1}=0,001$ $P_{O1}=0,003$ $P_{O3}=0,04$
<u>Опыт 5</u> ПГ + ЭСНП 25	70,0±3,16* $P_{K1}=0,00004$ $P_{O4}=0,02$
<u>Опыт 6</u> ПГ+ЭСНП 50	92,8±0,97* $P_{K1}=0,009$

6. Влияние ЭСНП на интенсивность реакции ГЗТ

Изучение влияния исследуемого препарата на выраженность реакции ГЗТ проводили согласно методическим рекомендациям [6]. При постановке реакции ГЗТ сенсибилизацию мышей эритроцитами барана проводили в конце 5-дневного курса введения ОЭС, ЭСНП, ПГ либо ПГ + ЭСНП, доза ЭБ в этом случае составляла 1×10^7 /мышь (подкожно в объеме 0,1 мл), разрешающую дозу ЭБ (1×10^8 в объеме 20 мкл) вводили в подушечку задней лапы на 5-й день после сенсибилизации. Параллельно в контрлатеральную лапу вводили физиологический раствор в том же объеме. Интенсивность реакции оценивали через 24 ч по индексу реакции (ИР), который вычисляли индивидуально для каждого животного по формуле:

$$\text{ИР (\%)} = (P_o - P_k) / P_k \times 100,$$

где, P_o - масса опытной лапы, P_k — масса контрольной лапы.
Полученные данные представлены в таблице 9.

Таблица 9. Влияние ЭСНП на интенсивность реакции ГЗТ у мышей линии СВА/Са Лас ($X \pm m$)

Показатели	Экспериментальные группы							
	<u>Контроль 1</u> ЭБ	<u>Контроль 2</u> ОЭС	<u>Опыт 1</u> ЭСНП 10	<u>Опыт 2</u> ЭСНП 50	<u>Опыт 3</u> ЭСНП 200	<u>Опыт 4</u> ПГ	<u>Опыт 5</u> ПГ+ЭСНП 25	<u>Опыт 6</u> ПГ+ЭСНП 50
ИР ГЗТ	13,4±0,5	25,3±2,4 $P_{K1}=0,008$	26,2±1,9 $P_{K1}=0,002$	28,8±3,9 $P_{K1}=0,02$	21,9±0,6 $P_{K1}=0,001$	33,4±3,9 $P_{K1}=0,01$ $P_{O3}=0,04$	30,3±3,5 $P_{K1}=0,006$	20,8±1,1 $P_{K1}=0,003$ $P_{O4}=0,04$

Из приведенных в таблице 9 данных можно сделать вывод, что 5-дневное введение ОЭС, ЭСНП и ПГ либо ПГ+ЭСНП способствует существенной активации реакции ГЗТ в ответ на сенсибилизацию эритроцитами барана.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в результате скрининговых исследований была показана наибольшая эффективность ЭСНП в дозах 50 и 200 мг/кг. Препарат стимулирует гуморальный иммунный ответ (функциональную активность АОК в селезенке), макрофагальное и Т-клеточное звенья иммунитета.

При сочетанном применении препаратов (ПГ+ЭСНП) происходит стимуляция неспецифического (ФАПМ), Т-клеточного и гуморального иммунного ответа. При этом было выявлено угнетение функциональной активности клеток — антителопродуцентов, что выразилось в достоверном снижении суммарного титра антител в сыворотке крови.

ЦИТИРУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Буреш Я, Бурешова О., Хьюстон Дж. П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Пер. с англ. Под ред. Проф. А.С. Батуева. — М.: Высшая школа, 1991. — 398 с.
2. Добряков Ю.И. Скрининговый метод оценки антистрессорного действия препаратов // Стресс и адаптация: Тез. Всесоюз. Симпоз. — Кишинев: Штиинца, 1978. — с. 172

3. Dunhan N.W., Miya T.S. The social behavior of laboratory rats // Science. — 1957. — V. 200. — p. 234.
4. Walsh R.N., Cummins R.A. The open-field test: a critical review.// Psychol. Bull. — 1976. — V. 83. — p. 482-504.
5. Winter C., Risley E., Nuss G — «Proc. Soc. Exp. Biol. Med» — 1962. — Vol. III — p. 544
6. Методические указания по изучению иммуотропной активности фармакологических веществ // В кн.: «Руководства по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ». — М., 2000. — 398 с.
7. Методические указания по оценке иммуотоксического действия фармакологических веществ // В кн.: «Руководства по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ». — М., 2000. — 398 с.
8. Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Шахов В.П. Методы культуры ткани в гематологии. — Томск, 1992. — 264 с.
9. Cuningham A.I.//Nature. — 1965. — V. 207. — p. 4313.
10. Vrav B., Hobeke J., Saint-Guillain M. e.a. // Scand. J. Immunol. — 1980. — Vol.11 — p. 147-153.

Список исполнителей:

1. Першина О.В., к.м.н., н.с. лаборатории патологической физиологии и экспериментальной терапии с группой психофармакологии
2. Суслов Н.И., д.м.н., в.н.с. лаборатории патологической физиологии и экспериментальной терапии с группой психофармакологии
3. Провалова Н.В., к.м.н., с.н.с. лаборатории патологической физиологии и экспериментальной терапии с группой психофармакологии
4. Скурихин Е.Г., к.м.н., с.н.с. лаборатории патологической физиологии и экспериментальной терапии с группой психофармакологии
5. Чурин А.А., к.м.н., н.с. лаборатории иммунофармакологии и токсикологии противоопухолевых препаратов
6. Шерстобоев Е.Ю., д.м.н., в.н.с., и.о. зав. лабораторией иммунофармакологии и токсикологии противоопухолевых препаратов
7. Масная Н.В., к.м.н., н.с. лаборатории иммунофармакологии и токсикологии и противоопухолевых препаратов
8. Борсук О.С., м.н.с. лаборатории иммунофармакологии и токсикологии противоопухолевых препаратов



ПантоПроект

Таблица 1. Влияние пантогематогена и препаратов из солодки голой на показатели ориентировочно-исследовательского поведения в «открытом поле» у беспородных мышей-самцов, перенесших 22-часовой иммобилизационный стресс ($X \pm m$)

Группы наблюдения	Суммарная двигательная активность	Горизонтальная активность	Вертикальная активность	Норковый рефлекс	Груминг	Дефекация	Коэффициент асимметрии
Интактный контроль	50,5±5,1	27,4±3,2	4,5±1,1	17,3±1,9 *P<0,05	0,7±0,6	0,6±0,5	53,7±2,7 *P<0,05
Стресс-контроль	45,9±5,4	28,8±4,1	5,8±1,1	9,9±1,2	1,4±0,8	0±0	61,3±2,5
Солодка 50 мг/кг (официальный препарат)	51,9±3,7	31,4±3,2	4,7±1,0	14,5±1,1 *P<0,05	1,3±1,2	0±0	59,7±3,1
ЭСНП 10 мг/кг	43,6±6,3	25,6±5,3	4,2±1,3	9,7±1,8	4,0±1,3 *P<0,05	0,1±0,1	54,4±6,2
ЭСНП 50 мг/кг	51,4±7,4	33,4±5,0	5,2±1,0	11,7±2,4	1,1±0,6	0±0	63,3±4,1
ЭСНП 200 мг/кг	49,6±8,7	33,9±5,0	6,8±1,4	11,2±1,9	3,3±2,0	0±0	60,2±3,5
ЭСНП 50 мг/кг + Пантогематоген 50 мг/кг	53,4±5,3	34,6±4,5	4,6±0,8	11,2±1,7	3,0±1,7	0±0	63,8±2,9
ЭСНП 25 мг/кг + Пантогематоген 25 мг/кг	51,0±7,8	32,4±5,2	6,2±1,4	13,4±1,8	4,6±1,8	0±0	52,3±6,5
Пантогематоген 50 мг/кг	47,8±8,3	28,6±5,9	4,5±1,1	11,3±1,9	3,4±1,4	0±0	55,9±4,2

Примечание: * - различия достоверны по отношению к животным группы стресс-контроля.

Таблица 2. Влияние пантогематогена и препаратов из солодки голой на состояние внутренних органов у беспородных мышей-самцов после 22-часового иммобилизационного стресса ($X \pm m$, n=10)

Группа, препарат	Масса селезенки, мг	Масса тимуса, мг	Масса надпочечников, мг	Количество лейкоцитов ($\times 10^9/\text{л}$)	Выраженность стресса в баллах
Интактный контроль	108,3±17,6 *P<0,05	35,9±2,1 *P<0,05	4,8±0,6	8,0±0,5	0
Стресс-контроль	52,8±15,3	21,5±2,3	3,7±0,4	6,7±0,6	15
Солодка 50 мг/кг (официальный препарат)	63,7±13,5	16,3±0,9 *P<0,05	4,4±0,3	7,6±0,9	11
ЭСНП 10 мг/кг	84,3±15,6	22,0±2,5	5,1±0,6	9,3±0,9 *P<0,05	9
ЭСНП 50 мг/кг	78,7±12,9	19,0±0,9	4,1±0,5	7,2±0,6	12
ЭСНП 200 мг/кг	60,6±10,9	19,9±1,7	4,5±0,4	15,3±6,4 *P<0,05	11
ЭСНП 50 мг/кг + Пантогематоген 50 мг/кг	66,1±12,3	26,2±2,5	5,7±0,5 *P<0,05	10,4±1,2 *P<0,05	7
ЭСНП 25 мг/кг + Пантогематоген 25 мг/кг	55,7±9,5	24,7±2,6	5,8±0,4 *P<0,05	12,4±1,8 *P<0,05	9
Пантогематоген 50 мг/кг	90,3±11,4 *P<0,05	20,0±1,1	3,9±0,4	9,5±0,7 *P<0,05	10

Примечание: * - различия достоверны по отношению к животным группы стресс-контроля.

Таблица 3. Влияние пантогематогена и препаратов из солодки голой на состояние слизистой оболочки желудка у беспородных мышей-самцов после 22-часового иммобилизационного стресса ($X \pm m$, n=10)

Группа, препарат	Процент животных с язвами	Общее количество язв	Точечные язвы	Полосовидные язвы	Крупные язвы	Индекс Паулса
Интактный контроль	0	0,0±0,0 *P<0,05	0,0±0,0 *P<0,05	0,0±0,0 *P<0,05	0,0±0,0	0
Стресс-контроль	100	4,8±0,7	3,9±1,1	0,6±0,3	0,3±0,2	6,0
Солодка 50 мг/кг (официальный препарат)	100	2,9±0,5 *P<0,05	2,7±0,6	0,1±0,1	0,1±0,1	3,2
ЭСНП 10 мг/кг	90	4,8±1,1	4,4±1,0	0,2±0,1	0,2±0,1	5,4
ЭСНП 50 мг/кг	90	4,1±0,9	3,7±0,9	0,2±0,1	0,2±0,1	4,7
ЭСНП 200 мг/кг	80	3,7±0,8	2,8±0,8	0,2±0,2	0,7±0,3	5,3
ЭСНП 50 мг/кг + Пантогематоген 50 мг/кг	80	2,4±0,8 *P<0,05	2,4±0,8	0±0 *P<0,05	0±0	2,4
ЭСНП 25 мг/кг + Пантогематоген 25 мг/кг	70	3,3±1,3	2,6±1,3	0,1±0,1	0,1±0,1	3,1
Пантогематоген 50 мг/кг	100	3,7±0,8	3,3±0,8	0,1±0,1	0,3±0,2	4,4

Примечание: * - различия достоверны по отношению к животным группы стресс-контроля.

Таблица 4. Влияние пантогематогена и препаратов из солодки голой на развитие каррагенинового воспаления у беспородных мышшей-самцов ($X \pm m$, $n=10$)

Группа, препарат	Средний прирост массы лапы, %	% угнетения отека
Контроль	64,0±7,0	0
Солодка 50 мг/кг (официальный препарат)	53,7±5,5	16,1
ЭСНП 10 мг/кг	57,0±4,2	10,9
ЭСНП 50 мг/кг	47,4±6,4	25,9
ЭСНП 200 мг/кг	53,2±6,0	16,8
ЭСНП 50 мг/кг + Пантогематоген 50 мг/кг	47,2±5,8	26,2
ЭСНП 25 мг/кг + Пантогематоген 25 мг/кг	37,1±7,1 *P<0,05	42,0
Пантогематоген 50 мг/кг	41,6±3,0 *P<0,05	35,0

Примечание: * - различия достоверны по отношению к животным группы стресс-контроля.

Таблица 5. Влияние препаратов из солодки голой и пантогематогена на показатели периферической крови ($\times 10^9/l$) у беспородных мышшей-самцов на фоне каррагенинового воспаления ($X \pm m$, $n=10$)

Группа, препарат	Общее количество лейкоцитов	Палочкоядерные нейтрофильные гранулоциты	Сегментоядерные нейтрофильные гранулоциты	Эозинофильные гранулоциты	Моноциты	Лимфоциты
Интактный контроль	7,4±0,6 &P<0,05	0,2±0,03	2,9±0,3 &P<0,05	0,1±0,03	0,07±0,02 &P<0,05	4,1±0,4
Контроль-воспаление	10,9±1,3	0,3±0,05	5,2±0,8	0,2±0,04	0,2±0,05	4,9±0,7
Солодка 50 мг/кг (официальный препарат)	11,3±1,7 *P<0,05	0,4±0,05	4,5±0,7	0,2±0,04	0,4±0,09 &P<0,05	5,8±1,0
ЭСНП 10 мг/кг	13,2±1,1 *P<0,05	0,2±0,08	6,6±0,5 *P<0,05	0,05±0,04 &P<0,05	0,07±0,04 &P<0,05	6,3±0,7 *P<0,05
ЭСНП 50 мг/кг	11,2±0,9 *P<0,05	0,5±0,07 &P<0,05	6,0±0,4 *P<0,05	0,2±0,04	0,2±0,04	4,3±0,6
ЭСНП 200 мг/кг	10,0±0,7	0,1±0,04	4,8±0,6	0,04±0,03 &P<0,05	0,08±0,05 &P<0,05	5,0±0,4
ЭСНП 50 мг/кг + Пантогематоген 50 мг/кг	12,7±0,7 *P<0,05	0,3±0,09	6,1±0,4 &P<0,05	0,09±0,03 &P<0,05	0,1±0,04	6,3±0,5 *P<0,05
ЭСНП 25 мг/кг + Пантогематоген 25 мг/кг	11,8±1,8 *P<0,05	0,7±0,16 &P<0,05	4,2±0,6	0,3±0,1	0,5±0,17	6,1±1,0
Пантогематоген 50 мг/кг	10,2±1,1 *P<0,05	0,2±0,07	5,3±0,7	0,05±0,04 &P<0,05	0,1±0,05	4,5±0,7

Примечание: * - различия достоверны по отношению к интактному контролю; & - различия достоверны по отношению к группе контроль-воспаление.

ПантоПроект