

6. Гельмбольдт В. О. Розчинність у воді «онієвих» гексафторосилікатів з гетероциклічними катіонами — потенційних антикарієсних і біоцидних препаратів / В. О. Гельмбольдт, Л. В. Короєва // Одеський медичний журнал. — 2011. — № 6. — С. 11–13.

7. Тестирование компьютерной системы предсказания спектра биологической активности PASS на выборке новых химических соединений / Т. А. Глоріозова, Д. А. Филимонов, В. В. Пороиков [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. — 1998. — Т. 32, № 12. — С. 32–39.

8. Гельмбольдт В. О. Перспективы создания фармацевтических препаратов на основе соединений кремнефтороводородной кислоты: взаимосвязь строения и растворимости / В. О. Гельмбольдт // Одеський медичний журнал. — 2010. — № 6. — С. 10–12.

9. Effects of ammonium hexafluorosilicate concentration on dentin tubule occlusion and composition of the precipitate / T. Suge, A. Kawasaki, K. Ishikawa [et al.] // Dent. Mater. — 2010. — Vol. 26, N 1. — P. 29–34.

10. Induction and morphology of hydroxyapatite, precipitated from metastable simulated body fluids on sol-gel prepared silica / P. Li, K. Nakanishi, T. Kokubo [et al.] // Biomaterials. — 1993. — Vol. 14, N 13. — P. 963–968.

11. Ammonium hexafluorosilicate elicits calcium phosphate precipitation and shows continuous dentin tubule occlusion / T. Suge, A. Kawasaki, K. Ishikawa [et al.] // Dent. Mater. — 2008. — Vol. 24, N 2. — P. 192–198.

12. Fox P. C. Salivary enhancement therapies / P. C. Fox // Caries Res. — 2004. — Vol. 38, N 3. — P. 241–246.

13. Московский А. В. Оценка иммунного статуса пациентов с кариесом и его осложнениями в сочетании с пародонтитом / А. В. Московский, А. В. Шумский // Стоматология. — 2008. — Т. 87, № 4. — С. 24–28.

#### REFERENCES

1. Maksimovskaya L.N., Roshchina P.I. Drugs in Dentistry: Manual. Moscow, Meditsina Publishers, 2000. 240 p.

2. Rosenblatt A., Stamford T.C.M., Niederman R. Silver diamine fluoride: a caries “silver-fluoride bullet”. *J. Dent. Res.* 2009; 88(2): 116-125.

3. Kawasaki A., Suge T., Ishikawa K. et al. Ammonium hexafluorosilicate increased acid resistance of bovine enamel and dentine. *J. Mat. Sci. Mat. Med.* 2005; 16: 461-466.

4. Shibata S., Suge T., Ishikawa K., Matsuo T. Occlusion of dentin tubules with antibacterial ammonium hexafluorosilicate solution for the prevention of dentin caries. *Am. J. Dent.* 2011; 24(3): 148-152.

5. Shibata S., Suge T., Kimura T., Ishikawa K., Matsuo T. Antibacterial activity of ammonium hexafluorosilicate solution with antimicrobial agents for the prevention of dentin caries. *Am. J. Dent.* 2012; 25(1): 31-34.

6. Gelmboldt V.O., Koroyeva L.V. Solubility in water of hexafluorosilicates with heterocyclic “onium” cations — potential anticariogenic biocide drugs. *Odessa Medical Journal* 2011; 6: 11-13.

7. Glorіozova T., Filimonov D., Lagunin A., Poroikov V. Testing of the computer system of the predictions spectrum of biological activity PASS on a sample of new chemical compounds. *Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal* 1998; 32(12): 32-39.

8. Gelmboldt V.O. The perspectives of creating pharmaceuticals based on compounds of fluorosilicic acid: the relationship between structure and solubility. *Odes. Med. Zhurnal* 2010; 6: 10-12.

9. Suge T., Kawasaki A., Ishikawa K., Matsuo T., Ebisu S. Effects of ammonium hexafluorosilicate concentration on dentin tubule occlusion and composition of the precipitate. *Dent. Mater.* 2010; 26(1): 29-34.

10. Li P., Nakanishi K., Kokubo T., de Groot K. Induction and morphology of hydroxyapatite, precipitated from metastable simulated body fluids on sol-gel prepared silica. *Biomaterials* 1993; 14(13): 963-968.

11. Suge T., Kawasaki A., Ishikawa K., Matsuo T., Ebisu S. Ammonium hexafluorosilicate elicits calcium phosphate precipitation and shows continuous dentin tubule occlusion. *Dent. Mater.* 2008; 24(2): 192-198.

12. Fox P.C. Salivary enhancement therapies. *Caries Res.* 2004; 38(3): 241-246.

13. Moskovskii A.V., Shumskii A.V. Immunological status of patients with caries and its complications in combination with parodontitis. *Stomatologiya* 2008; 87(4): 24-28.

Поступила 12.10.2012

УДК 615.015:615.33:612.017:615.37

Є. П. Москвичов, Я. В. Рожковський

## ПОРІВНЯЛЬНИЙ ВПЛИВ ІМУНОКОРЕКТОРІВ НА СТАН ФАКТОРІВ ПРОТИІНФЕКЦІЙНОГО ІМУНІТЕТУ В УМОВАХ ДОКСОРУБІЦИНОВОЇ МОДЕЛІ ІМУНОСУПРЕСІЇ

Одеський національний медичний університет, Одеса, Україна

УДК 615.015:615.33:612.017:615.37

Є. П. Москвичов, Я. В. Рожковський

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ВЛИЯНИЕ ИММУНОКОРЕКТОРОВ НА СОСТОЯНИЕ ФАКТОРОВ ПРОТИВОИНФЕКЦИОННОГО ИММУНИТЕТА В УСЛОВИЯХ ДОКСОРУБИЦИНОВОЙ МОДЕЛИ ИММУНОСУПРЕССИИ

Одеський національний медичний університет, Одеса, Україна

В опытах на животных изучали сравнительное влияние иммуномодуляторов амиксина, иммунофана и полиоксидония на состояние факторов противоинфекционного иммунитета в условиях доксорубициновой модели иммуносупрессии, которая воспроизводилась путем 4-разового еженедельного введения доксорубицина в дозе 5,0 мг/кг. Установлено, что указанные иммуномодуляторы уменьшают негативное влияние доксорубицина на клеточные и гуморальные факто-



ры антивирусной резистентности, сохраняют реактивность организма к вирусной инфекции, усиливая интерференообразование и реакцию NK-клеток крови в ответ на инфицирование вирусом гриппа А, и существенно снижают летальность животных от вирусной инфекции. Установлены индивидуальные особенности влияния указанных иммуномодуляторов на факторы антивирусной резистентности.

**Ключевые слова:** амиксин, имунофан, полиоксидоний, доксорубициновая иммуносупрессия, противоинфекционный иммунитет.

**UDC 615.015:615.33:612.017:615.37**

**Ye. P. Moskvichov, Ya. V. Rozhkovsky**

### **COMPARATIVE EFFECTS OF IMMUNOMODULATORS ON THE FACTORS OF ANTIINFECTION IMMUNITY IN DOXORUBICIN-INDUCED IMMUNOSUPPRESSIVE MODEL**

*The Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine*

A progressive direction of modern pharmacotherapy is search for effective and safe way to reduce immunotoxic effect of doxorubicin without weakening its specific activity. The central role is given to oxidative stress in the mechanisms of cytotoxic and immunotoxic doxorubicin effect, it was logical to study means of prevention immunotoxic effects of this drug among immunomodulators with membranoprotector and antioxidant activity. In animal there were examined the relative influence of immunomodulators amixin, imunofan, polyoxidonium and the state of antiinfection immunity factors in doxorubicin immunosuppressive model that was presented by four-times weekly administration of doxorubicin at a dose of 5.0 mg/kg. It was found that after 4-time introduction doxorubicin develops most profound immunosuppression, which is accompanied by a profound inhibition of effector activity of NK-cells of blood, almost complete loss of the ability of the body to respond interferon-induced in response to its infectioning with a sublethal dose of influenza A and 100% mortality of virus-infected animals within first 5 days of observations. It is shown that immunomodulators amixin, imunofan and polyoxidonium with different efficiency reduce the negative impact of doxorubicin on cellular and humoral factors of antiviral resistance, retain reactivity to viral infection, increasing interferonogenesis and NK-cell responses of blood in response to infectioning with influenza A and significantly reduce animals mortality from viral infection.

**Key words:** amixin, imunofan, polyoxidonium, doxorubicin-induced immunosuppression, antiinfection immunity.

Антибіотики з групи антрациклінів широко застосовують у лікуванні гемобластозів і злоякісних новоутворень різної локалізації. Більшість схем комбінованого лікування містить протипухлинний антибіотик доксорубіцин, який, нарівні з високою ефективністю та широким спектром протипухлинної дії, характеризується чималою системною токсичністю [1; 2]. Одним із найменш вивчених об'єктів токсичної дії доксорубіцину є імунна система, яка відіграє ключову роль у забезпеченні загальної резистентності організму та генетичної незмінності його внутрішнього середовища. У зв'язку з цим перспективним напрямом сучасної фармакотерапії є пошук ефективних і безпечних шляхів зниження імунотоксичної дії доксорубіцину без послаблення його специфічної активності.

З огляду на провідну роль оксидативного стресу в механізмах цитотоксичної дії доксорубіцину, цілком логічним був пошук засобів профілактики імунотоксичних ефектів цього препарату серед імунотуля-

торів із мембранопротекторною й антиоксидантною активністю. Особливу увагу привернув вітчизняний індуктор ендогенного інтерферону аміксин — високоактивний засіб у профілактиці та лікуванні вірусних захворювань і вторинних імунодефіцитів, імунотулюючі властивості якого пов'язані насамперед із регуляцією секреторної активності клітин імунної системи [3; 4]. Також цікавими є сучасні імунотулятори пептидної структури з протипухлинною та детоксуючою активністю — імунофан і поліоксидоній, останнім часом більш активно використовувані з метою «прикриття» імунотоксичних ефектів хімотерапії [5–8].

**Метою** дослідження став порівняльний аналіз впливу аміксину, імунофану та поліоксидонію на стан факторів протинфекційного імунітету в умовах курсового застосування доксорубіцину й обґрунтування доцільності їхнього застосування для профілактики інфекційних ускладнень в умовах експериментальної доксорубіцин-індукованої імуносупресії.

### **Матеріали та методи дослідження**

Дослідження проводили на нелінійних мишах масою 18–20 г. Вибір доз запропонованих препаратів здійснювали, виходячи з даних літератури про їх токсичність і ефективність як імунотропних засобів: доксорубіцин-КМП «ARTERIUM» (Україна) дозою 5,0 мг/кг, внутрішньом'язово; аміксин-ІС «Інтерхім» (Україна) дозою 2,0 мг/кг, внутрішньоочеревинно; імунофан «Біонокс» (Росія) — 20,0 мкг/кг, внутрішньоочеревинно; поліоксидоній «Біонокс» (Росія) — 0,3 мг/кг, внутрішньоочеревинно. Усі лікарські засоби вводилися профілактично протягом терміну відтворення доксорубіцинової імуносупресії. Контрольна група тварин отримувала відповідно по 0,5 мл води для ін'єкцій.

Доксорубіцинову імуносупресію на тваринах моделювали внутрішньом'язово введенням доксорубіцину дозою 5,0 мг/кг один раз на тиждень протягом 4 тиж. [9]. Стан протівірусної резистентності організму оцінювали за функціональ-



ною активністю NK-клітин крові та вірусіндукованим інтерфероноутворенням. Оскільки цитотоксична функція NK-клітин є антитілозалежною, для її оцінки як клітин-мішеней використовували еритроцити барана, оброблені антисироваткою різного розведення. Завис мононуклеарних клітин, виділених із периферичної крові, змішували в розчині Хенкса з клітинами-мішенями у співвідношенні 5 : 1, інкубували протягом 3,5 год при температурі 37 °С, центрифугували при 400 g протягом 15 хв і в надосадовій рідині спектрофотометричним методом при  $\lambda = 414$  нм вивчали оптичну густину отриманих супернатантів. Процент гемолізу вираховували за формулою:

$$(E_e - E_k) : E_{\max} \cdot 100 \%,$$

де  $E_e$  — оптична густина експерименту;  $E_k$  — оптична густина контролю (суміш ефекторних клітин з еритроцитами барана, не оброблених антисироваткою);  $E_{\max}$  — оптична густина за умов максимального гемолізу відповідної кількості еритроцитів.

Вірусіндуковане інтерфероноутворення моделювали шляхом інтраназального зараження тварин сублетальною дозою патогенного штаму вірусу грипу А 3,5 lg ED<sub>50</sub> (0,2 мл). Відповідна доза вірусу грипу А була визначена серією попередніх дослідів із зараженням піддослідних тварин різними дозами збудника інфекції з подальшою реєстрацією загибелі заражених мишей протягом 14 діб. Зараження кожної групи тварин здійснювали через 6 діб після уведення доксорубіцину.  $\alpha$ -Інтерферон у сироватці крові визначали через 2, 4 і 7 діб після інфікування шляхом титрування його протівірусної активності загальноприйнятим методом [10]. Летальність оцінювали за процентом загиблих тварин протягом 14 діб після їх зараження. Тварин виводили з експерименту

через 6 діб після останнього уведення доксорубіцину шляхом декапітації під легким ефірним наркозом. Статистичну обробку результатів дослідження здійснювали за допомогою t-критерія Стьюдента.

### Результати дослідження та їх обговорення

Установлено, що у сироватці крові інтактних тварин через 2 доби після зараження сублетальною дозою вірусу грипу А титр  $\alpha$ -інтерферону становив 1 : 140, через 4 доби він зменшувався до 1 : 70, через 7 діб — до 1 : 45. Ефекторна активність NK-клітин крові інтактних тварин через 2 доби після інфікування зростала з (34,1 ± 3,6) до (40,1 ± 3,9) % ( $P > 0,05$ ), через 4 доби — до (55,8 ± 5,5) % ( $P < 0,05$ ), через 7 діб — до (38,0 ± 3,6) % ( $P > 0,05$ ). Протягом двотижневого періоду спостережень летальність становила всього 25,0 %.

Одноразове уведення доксорубіцину достовірно не змінювало активності досліджуваних факторів резистентності після зараження мишей сублетальною дозою вірусу грипу А. Летальність інфікованих

після уведення цитостатика тварин, порівняно із зараженими мишами інтактною групи, не змінювалась і залишалася на рівні 25,0 %. Тварини, які після одноразового уведення доксорубіцину отримували імунокоригувальні засоби, відповідали на вірусне інфікування більш посиленним і пролонгованим інтерфероноутворенням і суттєвим збільшенням цитопатогенної активності NK-клітин порівняно з нелікованою групою. Зокрема, під впливом аміксіну титри інтерферону після зараження мишей у всі періоди спостережень значно перевищували відповідні показники інтактною групи (через 2 доби — в 1,78 разу; через 4 доби — у 3,28 разу; через 7 діб — у 2,88 разу), а летальність інфікованих тварин знижувалася до 0 %. Водночас під впливом імунофану та поліоксидонію активація NK-клітинної цитотоксичності була більш вираженою, порівняно з аміксином, відбувалася вже на ранніх етапах після зараження тварин і тривала протягом більшого терміну, ніж у тварин контрольної групи, які імунокоректорів не отримували (табл. 1).

Таблиця 1

#### Вплив імунокоригувальних засобів на титри $\alpha$ -інтерферону в сироватці крові та рівень летальності мишей, заражених сублетальною дозою вірусу грипу А в умовах курсового застосування доксорубіцину, $M \pm m, n=10-12$

Група тварин	Титри $\alpha$ -інтерферону після зараження через			Летальність, %
	2 доби	4 доби	7 діб	
Інтактні тварини	1 : 140	1 : 70	1 : 45	25,0
Одноразове уведення доксорубіцину				
Без корекції	1 : 145	1 : 75	1 : 40	25,0
Аміксин	1 : 250	1 : 230	1 : 130	0
Імунофан	1 : 165	1 : 100	1 : 70	8,3
Поліоксидоній	1 : 150	1 : 110	1 : 80	8,3
Дворазове уведення доксорубіцину				
Без корекції	1 : 100	1 : 50	1 : 35	33,3
Аміксин	1 : 250	1 : 220	1 : 115	0
Імунофан	1 : 140	1 : 90	1 : 70	8,3
Поліоксидоній	1 : 150	1 : 100	1 : 85	8,3



Закінчення табл. 1

Група тварин	Титри $\alpha$ -інтерферону після зараження через			Летальність, %
	2 доби	4 доби	7 діб	
Триразове уведення доксорубіцину				
Без корекції	1 : 65	1 : 30	1 : 25	83,3
Аміксин	1 : 160	1 : 145	1 : 75	0
Імунофан	1 : 100	1 : 70	1 : 50	16,6
Поліоксидоній	1 : 95	1 : 55	1 : 30	8,3
Чотириразове уведення доксорубіцину				
Без корекції	1 : 30	1 : 25	—	100,0*
Аміксин	1 : 125	1 : 80	1 : 70	20,0
Імунофан	1 : 70	1 : 45	1 : 50	58,3
Поліоксидоній	1 : 70	1 : 50	1 : 40	50,0

Примітка. \* — усі тварини загинули через 5 діб після зараження.

Таблиця 2

**Вплив імунокоригувальних засобів на активність НК-клітин крові мишей (у % гемолізу) після зараження сублетальною дозою вірусу грипу А в умовах курсового введення доксорубіцину,  $M \pm m$ , n=10–12**

Група тварин	Цитопатогенна активність НК-клітин крові після зараження через			Летальність, %
	2 доби	4 доби	7 діб	
Інтактні тварини	34,1 $\pm$ 3,6	40,1 $\pm$ 3,9	55,8 $\pm$ 5,5	38,0 $\pm$ 3,6
Одноразове уведення доксорубіцину				
Контроль (H <sub>2</sub> O)	35,2 $\pm$ 3,7	40,4 $\pm$ 2,8	57,0 $\pm$ 4,0	40,8 $\pm$ 6,4
Аміксин	38,8 $\pm$ 3,0	52,0 $\pm$ 5,0**	65,0 $\pm$ 4,3	48,7 $\pm$ 4,0*
Імунофан	44,1 $\pm$ 3,9*	74,7 $\pm$ 3,8**	76,4 $\pm$ 4,2**	66,8 $\pm$ 2,9**
Поліоксидоній	42,2 $\pm$ 3,2*	77,3 $\pm$ 5,3**	75,4 $\pm$ 5,4**	70,2 $\pm$ 5,5**
Дворазове уведення доксорубіцину				
Контроль (H <sub>2</sub> O)	28,2 $\pm$ 3,0	37,4 $\pm$ 2,5	40,0 $\pm$ 3,6*	30,8 $\pm$ 2,4*
Аміксин	35,8 $\pm$ 3,0	50,2 $\pm$ 4,0#	60,0 $\pm$ 5,6#	40,7 $\pm$ 4,5#
Імунофан	44,9 $\pm$ 3,2**	66,6 $\pm$ 3,4**	74,4 $\pm$ 5,8**	60,9 $\pm$ 3,6**
Поліоксидоній	40,8 $\pm$ 3,9**	77,0 $\pm$ 5,9**	70,9 $\pm$ 6,4**	63,3 $\pm$ 5,8**
Триразове уведення доксорубіцину				
Контроль (H <sub>2</sub> O)	25,1 $\pm$ 3,0*	20,2 $\pm$ 3,3*	21,2 $\pm$ 2,7*	18,3 $\pm$ 3,4*
Аміксин	31,1 $\pm$ 4,5	40,3 $\pm$ 4,1#	42,1 $\pm$ 1,9**	30,6 $\pm$ 3,1**
Імунофан	39,6 $\pm$ 4,0#	51,1 $\pm$ 4,4#	50,3 $\pm$ 4,1#	47,0 $\pm$ 4,2#
Поліоксидоній	34,1 $\pm$ 4,1#	44,2 $\pm$ 4,0#	47,0 $\pm$ 3,0**	40,4 $\pm$ 3,6#
Чотириразове уведення доксорубіцину				
Контроль (H <sub>2</sub> O)	18,6 $\pm$ 2,2*	11,1 $\pm$ 1,2*	10,4 $\pm$ 1,7*	—
Аміксин	26,4 $\pm$ 2,0**	24,9 $\pm$ 2,4**	26,0 $\pm$ 4,1**	26,8 $\pm$ 3,0*
Імунофан	31,0 $\pm$ 3,0#	35,3 $\pm$ 4,1#	40,2 $\pm$ 3,7**	39,0 $\pm$ 4,0
Поліоксидоній	36,2 $\pm$ 2,8#	38,0 $\pm$ 2,8#	44,0 $\pm$ 3,0**	44,5 $\pm$ 3,2

Примітка. \* — зміни достовірні порівняно з показниками інтактних тварин; # — зміни достовірні порівняно з контрольною групою (P<0,05).

Зараження мишей, яке здійснювалося після дворазового уведення доксорубіцину, виявило тенденцію до зниження інтенсивності інтерфероутворення. Через дві доби спостережень титри  $\alpha$ -інтерферону в сироватці крові заражених мишей достовірно знижувалося відповідно до показників інтактної групи в 1,4 рази, через 4 доби — в 1,4 рази, через 7 діб — в 1,28 рази. Смертність тварин зростала з 25,0 до 33,3 %. Профілактичне уведення імунокоректорів повністю усувало виявлене нами пригнічення інтерфероутворення. Найвиразнішим захисним впливом характеризувався аміксин, який збільшував титри інтерферону через 2 доби після зараження до 1 : 250, через 4 доби — до 1 : 220, через 7 діб — до 1 : 115, що відповідно у 2,5; 4,4 і 3,3 рази перевищували титри інтерферону у тварин, які імунокорекції не отримували.

Зміни функціональної активності НК-клітин після дворазового уведення доксорубіцину були несуттєвими, проте характерна для інтактних тварин стимуляція їхньої активності у відповідь на зараження була дещо зниженою (табл. 2). Імунофан і поліоксидоній найактивніше коригували функціональну активність НК-клітин у цьому періоді, сприяли активації даних клітин уже з 2-ї доби після зараження тварин і зберігали цю активність на рівні, який у різні терміни спостережень у 1,5–2,0 рази (P<0,05) перевищував відповідний показник контрольної групи. Усі імунокоректори знижували смертність інфікованих вірусною інфекцією тварин: аміксин — до 0 %, а імунофан і поліоксидоній — до 8,3 %.

Після триразового уведення доксорубіцину вірусіндуковане інтерфероутворення суттєво пригнічувалося. Через 2 доби після зараження мишей, які попередньо протягом 3 тиж. отримували цитостатик, титр  $\alpha$ -інтерферону в сироватці їх



крові знижувався до 1 : 65, через 4 доби — до 1 : 30, через 7 діб — до 1 : 25, що відповідно на 53,6, 57,1 і 44,4 % було меншим, аніж в інтактній групі. Летальність зростала до 83,3 %, що вказує на глибокі розлади гуморальної ланки протівірусного імунітету. Як і в умовах попередньої моделі, профілактика імуномодуючими засобами виявила виразну стимуляцію інтерфероноутворення після зараження тварин у всі терміни спостережень. Зокрема, титри інтерферону через 2 доби після зараження мишей при профілактичному застосуванні аміксину залишалися на рівні 1 : 160, імунофану — на рівні 1 : 100, поліоксидонію — на рівні 1 : 95, тимчасом як у нелікованих тварин титри інтерферону у цьому терміні спостережень знижувалися до показника 1 : 65. Через 4 доби після зараження, коли інтенсивність вірусіндукованого інтерфероноутворення у тварин без корекції знижувалася більш ніж удвічі і становила 1 : 30, на фоні профілактичного застосування аміксину титри інтерферону зберігалися на рівні 1 : 145; імунофану — на рівні 1 : 70; поліоксидонію — на рівні 1 : 55. Отже, в умовах імуносупресії, яка викликана триразовим введенням доксорубіцину, засоби імунокорекції не лише запобігали зниженню інтенсивності вірусіндукованого інтерфероноутворення, але й суттєво збільшували його тривалість, що зазвичай позитивно впливало на показники летальності від вірусної інфекції, яка знижувалася у різних дослідних групах з 83,3 до 0 % (аміксин), 16,6 % (імунофан) і 8,3 % (поліоксидоній).

Позитивний вплив супровідної імунокоригувальної терапії на фоні триразового введення доксорубіцину був виявлений і щодо корекції порушень клітинної ланки протівірусної резистентності. Якщо під впливом цитостатика НК-клітинна цитотоксичність у незаражених

мишей, порівняно з інтактними, знижувалася у 1,36 разу — з  $(34,1 \pm 3,6 \pm 3,3)$  до  $(25,1 \pm 3,0 \pm 3,0)$  % ( $P < 0,05$ ), то в усіх групах тварин, які профілактично отримували імунокоригувальні засоби, даний показник залишався незмінним. Нами також встановлено, що триразове введення доксорубіцину усуває характерну компенсаторну активацію НК-клітинної цитотоксичності у відповідь на вірусне інфікування, яке максимально проявляється через 4 доби після зараження тварин інтактної групи (див. табл. 2). Таким чином, за даних умов експерименту клітинні фактори протівірусної резистентності не відповідали своєю додатковою активацією у відповідь на вірусне інфікування, яке спостерігалось після зараження інтактних тварин. Імовірно, це один із проявів імунодепресивної дії доксорубіцину. Як наслідок, під впливом доксорубіцину функціональна активність НК-клітин після зараження тварин у всі терміни спостережень залишалася на рівні, майже удвічі нижчому, ніж у тварин інтактної групи. Профілактичне застосування імунокоректорів не лише сприяло збереженню функціональної активності НК-клітин, але й відновлювало їх активацію вже на ранніх етапах після інфікування, зберігаючи підвищену активність НК-клітин протягом усього експерименту. Найбільш вдала корекція НК-клітинної цитотоксичності в інфікованих після триразового введення доксорубіцину тварин спостерігалася на фоні застосування імунофану і поліоксидонію, завдяки якому активність НК-клітин через 2 доби після вірусного інфікування переважала аналогічний показник нелікованої групи (контроль  $H_2O$ ) відповідно у 2,53 і 2,19 разу; через 4 доби — у 2,37 і 2,22 разу; через 7 діб — у 2,57 і 2,21 разу ( $P < 0,05$ ).

Отже, в умовах імуносупресії, викликаної триразовим введенням цитостатика доксорубі-

цину, імунопротекторний вплив супровідної імунокоригувальної терапії проявлявся збільшенням інтенсивності й тривалості вірусіндукованого інтерфероноутворення (переважно аміксин) й активації вже на ранніх етапах після інфікування функціональної активності НК-клітин (переважно імунофан і поліоксидоній).

Але найвиразніші патологічні зміни досліджуваних факторів резистентності були встановлені після четвертого (один раз на тиждень) введення доксорубіцину: рівень  $\alpha$ -інтерферону в сироватці крові мишей через 2 доби після їх зараження знижувався до 21,4 %, а через 4 доби — до 35,7 % порівняно з аналогічними показниками в інтактній групі ( $P < 0,05$ ). Тобто курсове (протягом 4 тиж.) введення доксорубіцину викликає майже повну втрату здатності організму відповідати інтерфероноутворенням у відповідь на його інфікування вірусом, що, ймовірно, може розглядатися як один із можливих механізмів генералізації вірусної інфекції та розвитку інфекційних ускладнень. За даних умов майже удвічі — з  $(34,1 \pm 3,6)$  до  $(18,6 \pm 2,2)$  % знижується активність НК-клітин крові ( $P < 0,05$ ) (див. табл. 2).

При цьому зараження мишей сублетальною дозою вірусу викликало парадоксальне, ще більше пригнічення ефektorної активності цих клітин: через 2 доби після зараження вона з  $(18,6 \pm 2,2)$  % знижувалася до  $(11,1 \pm 1,2)$  % ( $P < 0,05$ ), через 4 доби — до  $(10,4 \pm 1,7)$  % ( $P < 0,05$ ). На відміну від інших термінів експерименту, вірусне інфікування тварин після чотириразового введення їм доксорубіцину не тільки не стимулює, але й додатково пригнічує функціональну активність НК-клітин. І як наслідок, зараження цієї групи мишей супроводжувалося їх 100-процентною загибеллю вже протягом перших 5 діб спостережень. В інфікованих тварин, які на фоні



курсів уведення доксорубіцину отримували імунокоригувальну терапію, титри  $\alpha$ -інтерферону зберігалися на більш високому рівні, а зниження ефекторної активності НК-клітин було значно меншим, ніж у тварин без імунокорекції.

Слід зазначити, що запропонована модель імуносупресії дозволила не лише більш чітко встановити виразність захисного впливу, але й виявити особливості імуномодуючої дії окремих імунокоригувальних засобів. Зокрема, аміксин як індуктор інтерферону більш ефективно, порівняно з іншими препаратами, коригував порушення вірусіндукованого інтерферонуутворення й утримував титри інтерферону у заражених мишей на рівні, який за своєю інтенсивністю і тривалістю продукції максимально наближався до інтактної групи. Так, на фоні профілактичного впливу аміксину титри інтерферону через 2 доби після зараження тварин були вищими від показників контрольної групи у 4,16 разу; через 4 доби — у 3,20 разу, фактично досягаючи відповідних показників продукції інтерферону в інтактній групі (рис. 1).

Тимчасом у заражених тварин, які на фоні доксорубіцину профілактично отримували імунофан і поліоксидоній, депресія кілерної активності була найнижчою, а стабілізація функціональної активності НК-клітин більш прискореною порівняно з тваринами, які отримували аміксин. Отже, імунокорекція даними засобами сприяє збереженню чутливості клітинних факторів протівірусної резистентності до дії інфекційних агентів. Виразний протективний вплив імунофану та поліоксидонію на фактори клітинної резистентності, ймовірно, пояснюється наявністю антиоксидантних ефектів у цих препаратів і їх можливою здатністю до нормалізації структурно-функціонального стану мембран імунокомпетентних клітин,

у тому числі й тих, що виконують ефекторну функцію [6; 7]. Як наслідок стабілізації клітинних і гуморальних факторів протиінфекційного імунітету, рівень летальності тварин, які профілактично отримували аміксин після зараження сублетальною дозою вірусу знижувався до 20,0 %; імунофан знижував цей показник до 58,3 %; поліоксидоній — до 50,0 %, тимчасом як без імунокорекції 100-процентна загибель мишей спостерігалася вже протягом перших 5 діб після їх зараження. Слід зазначити, що імунокоригувальна терапія «прикриття» не лише знижувала летальність, але й збільшувала тривалість життя інфікованих тварин: загибель частини таких мишей на фоні імунокорекції фіксувалася не раніше 8 діб після їх зараження.

### Висновки

Проведені дослідження дозволяють зробити такі висновки:

1. Одноразове уведення доксорубіцину дозою 5,0 мг/кг не впливає на природні меха-

нізми протівірусного захисту і не змінює летальності мишей після їх вірусного інфікування, тимчасом як уведення цитостатика одночасно із засобами імуномодуляції додатково посилює вірусіндуковану стимуляцію гуморальних і клітинних факторів протівірусної резистентності, зменшуючи в різних групах летальність інфікованих тварин з 25,0 до 8,3 і 0 %.

2. Дворазове уведення доксорубіцину дозою 5,0 мг/кг з тижневим інтервалом виявило тенденцію до зниження інтенсивності інтерферонуутворення та пригнічення природної активації функціональної активності НК-клітин після вірусного інфікування тварин сублетальною вірусною інфекцією.

3. Триразове щотижневе уведення доксорубіцину дозою 5,0 мг/кг супроводжується депресією показників протівірусного імунітету, втратою організмом здатності відповідати активацією протівірусних механізмів захисту у відповідь на вірусне інфікування та збільшенням летальності тварин після їх зараження сублетальною ві-

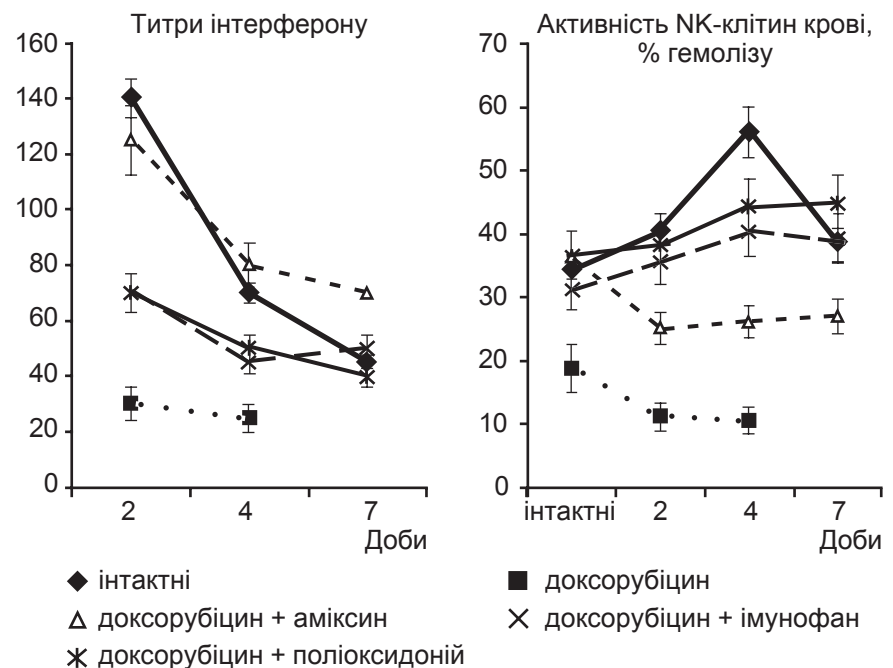


Рис. 1. Порівняльний вплив імунокоректорів на динаміку зміни гуморальних і клітинних факторів протівірусного захисту у мишей, заражених сублетальною дозою вірусу грипу А після курсового чотириразового щотижневого уведення доксорубіцину дозою 5,0 мг/кг



русною інфекцією. Захисний вплив імунomodуючих засобів полягає у посиленні інтенсивності та тривалості вірусіндукованого інтерфероноутворення (переважно аміксин) й активації вже на ранніх етапах після інфікування функціональної активності НК-клітин (імунофан і поліоксидоній), що суттєво зменшує летальність інфікованих тварин.

4. Чотириразове щотижневе уведення доксорубіцину дозою 5,0 мг/кг супроводжується найбільш глибокою імуносупресією та 100-процентною летальністю заражених тварин протягом перших 5 днів спостережень. Вірусне інфікування в умовах відтворення цієї моделі не лише не стимулює, але й викликає парадоксальне додаткове пригнічення активності як клітинних, так і гуморальних факторів протівірусної резистентності, що супроводжується глибоким пригніченням ефекторної активності НК-клітин, майже повною втратою здатності організму відповідати інтерфероноутворенням на його інфікування вірусом і може розглядатися як один із можливих механізмів генералізації вірусної інфекції та розвитку інфекційних ускладнень під час хіміотерапії цим засобом. Імунomodуючі засоби послаблюють негативний вплив доксорубіцину на клітинні та гуморальні фактори протівірусної резистентності, запобігають втраті реактивності організму до вірусної інфекції, підсилюючи інтерфероноутворення і реакцію НК-клітин крові у відповідь на інфікування вірусом грипу А та суттєво зменшуючи летальність тварин від вірусної інфекції.

5. Встановлені індивідуальні відмінності впливу імунomodуютьорів на фактори протівірусної резистентності, ймовірно, базуються на особливостях молекулярних механізмів імунотропної дії кожного з препаратів, з'ясування яких визначає напрям подальших досліджень.

## ЛІТЕРАТУРА

1. *Индукцированная антрациклинами кардиотоксичность: механизмы развития и клинические проявления* / М. Г. Матяш, Т. Л. Кравчук, В. В. Высоцкая [и др.] // *Сибирский онкологический журнал*. – 2008. – № 6 (30). – С. 66–76.

2. *Anthracycline-induced cardiotoxicity: overview of studies examining the roles of oxidative stress and free cellular iron* / T. Simunek, M. Stérba, O. Popelová [et al.] // *Pharmacol. Rep.* – 2009. – Vol. 61, N 1. – P. 154–171.

3. *Вивчення впливу інтерферонотропу «Аміксин-ІС» на інтерферонотропність і цитотоксичну активність НК-клітин у хворих на хронічний гепатит С* / С. В. Нікітін, К. Л. Сервецький, К. М. Усиченко, О. О. Буйко // *Досягнення біології та медицини*. – 2008. – № 2 (12). – С. 4–8.

4. *Synthetic and natural immunomodulators acting as interferon inducers* / D. S. Silin, O. V. Lyubomska, F. I. Ershov [et al.] // *Current Pharmaceutical Design*. – 2009. – Vol. 15. – P. 1238–1247.

5. *The effect of immunofan on the immunity system characteristics and lipid peroxidation parameters upon acute chemical poisoning* / P. F. Zabrodskii, V. G. Germanchuk, M. L. Nodel' [et al.] // *Eksp. Klin. Farmakol.* – 2004. – Vol. 67, N 5. – P. 28–30.

6. *Gein O. N. Influence of polyoxidonium on IL-1 beta, TNF-alpha and IL-6 production by mononuclears and monocytes under the dexamethasone effect* / O. N. Gein, K. G. Gorshkova, S. V. Gein // *Patol. Fiziol. Eksp. Ter.* – 2010. – N 1. – P. 10–13.

7. *Дьяконова В. А. Изучение механизма взаимодействия иммуномодулятора полиоксидония с клетками иммунной системы периферической крови человека in vitro* : автореф. дис. на соискание ученой степени канд. мед. наук : 14.00.36 — алергология и иммунология / В. А. Дьяконова. – М., 2004. – 20 с.

8. *Матвеева О. Н. Оптимизация режима иммунотерапии сопровождения у больных диссеминированным раком молочной железы, получающих системную иммунотерапию* : дис. на соискание ученой степени канд. мед. наук : 14.00.14 — онкология / О. Н. Матвеева. – Уфа, 2005. – 157 с.

9. *Трофимова Т. С. Экспериментальные исследования эффективности тиотриазолину за умов доксорубіцинової кардіоміопатії* : автореф. дис. на здобуття наукового ступеня канд. мед. наук : 14.03.05 — фармакологія. – Одеса, 2008. – 20 с.

10. *Гончаров А. Г. Основы клинической иммунологии и методологические подходы к оценке иммунного*

статуса : практикум / А. Г. Гончаров, И. С. Фрейдлин, В. С. Смирнов. – Калининград : Изд-во КГУ, 1997. – 73 с.

## REFERENCES

1. Matyas M.G., Kravchuk T.L., Vyotskaya V.V., Chernov V.I., Goldberg V.E. Anthracycline-induced cardiotoxicity: mechanisms and clinical implications of development. *Siberian Oncol. Zhurnal* 2008; 6 (30): 66-76.

2. Simunek T., Stérba M., Popelová O., Adamcová M., Hrdina R., Gersl V. Anthracycline-induced cardiotoxicity: overview of studies examining the roles of oxidative stress and free cellular iron. *Pharmacol. Rep.* 2009; 1(61): 154-171.

3. Nikitin E.V., Servetsky K.L., Usichenko K.M., Buyko O.O. Study of the effect interferonogen "Amixin-IC" on interferonogenesis and cytotoxic activity of NK-cells in patients with chronic hepatitis C. *Dosyagnennya biol. ta med.* 2008; 2(12): 4-8.

4. Silin D.S., Lyubomska O.V., Ershov F.I., Frolov V.M., Kutsyna G.A. Synthetic and natural immunomodulators acting as interferon inducers. *Current Pharmaceutical Design* 2009; 15: 1238-1247.

5. Zabrodskii P.F., Germanchuk V.G., Nodel' M.L., Vasilenko O.A., Are-dakov A.N. The effect of immunofan on the immunity system characteristics and lipid peroxidation parameters upon acute chemical poisoning. *Eksp. Klin. Farmakol.* 2004; 5(67): 28-30.

6. Gein O.N., Gorshkova K.G., Gein S.V. Influence of polyoxidonium on IL-1 beta, TNF-alpha and IL-6 production by mononuclears and monocytes under the dexamethasone effect. *Patol. Fiziol. Eksp. Ter.* 2010; 1: 10-13.

7. Dyakonova V.A. Study of the mechanism of interaction of immunomodulator polyoxidonium with immune cells in human peripheral blood in vitro: avtoref. dis. kand. med. nauk: 14.00.36: alergol. and immunol. Moscow, 2004: 20.

8. Matveeva O.N. Immunotherapy optimization in patients with metastatic breast cancer receiving systemic immunotherapy: dis. cand. med. nauk: 14.00.14: oncology. Ufa, 2005: 157.

9. Trofimova T.S. Experimental study of the Thiotriazoline efficacy under doxorubicin-induced cardiomyopathy: avtoref. dis. kandidata med. nauk: 14.03.05: pharmacology. Odessa, 2008: 20.

10. Goncharov A.G., Freidlin I.S., Smirnov V.S. *Fundamentals of Clinical Immunology and methodological approaches to the assessment of the immune status: Workshop*. Kaliningrad, KGU, 1997: 73.

Надійшла 6.11.2012

