

ские и неспецифические механизмы адаптации во время стресса и физической нагрузки» — Гомель, 2014. — С. 92–94.

8. Детская спортивная медицина/ авт.-сост. Т. Г. Авдеева [и др.]; под ред. Т. Г. Авдеевой, И. И. Бахраха. — 4-е изд., исправ. и доп. — Ростов и/Д: Феникс, 2007. — С. 5–23.

9. Возрастное развитие системных мышц и физической работоспособности / И. А. Корниенко [и др.] // Физиология развития ребенка: теоретические и прикладные аспекты. — М.: Образование от А до Я, 2000. — С. 209–230.

10. Алгоритм диагностического применения программно-аппаратного комплекса «Омега-С» в спортивной медицине: монография / Ю. Э. Питкевич [и др.]. — Гомель: ГомГМУ, 2010. — 160 с.

11. Перспективы диагностического применения программно-аппаратных комплексов «Омега» для оценки функционального

состояния организма учащихся и спортсменов / Э. С. Питкевич [и др.]. — Гомель: ГомГМУ, 2011. — 216 с.

12. Котельников, С. А. Вариабельность сердечного ритма: представление о механизмах / С. А. Котельников, А. Д. Ноздрачев, М. М. Одинак // Физиология человека. — 2003. — № 28 — С. 130–143.

13. Кудря, О. Н. Реакция сердечно-сосудистой системы спортсменов 15–16 лет на дозированную физическую нагрузку / О. Н. Кудря // Совершенствование системы физического воспитания, спортивной тренировки и оздоровления различных категорий населения: Материалы VI Всероссийской научной конференции / под ред. С. И. Логинова. — Сургут: СурГУ, 2007. — С. 131–134.

14. Душанин, С. А. Система многофакторной экспресс-диагностики функциональной подготовленности спортсменов при текущем и оперативном врачебно-педагогическом контроле / С. А. Душанин. — М.: ФиС, 1986. — 24 с.

Поступила 28.08.2015

УДК 615.385:623.33

## ВЛИЯНИЕ СУБСТАНЦИЙ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ФРУГЛЮМИН А И ФРУГЛЮМИН Б НА Т-КЛЕТОЧНЫЙ И В-КЛЕТОЧНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ У МЫШЕЙ В НОРМЕ И ПРИ ИММУНОДЕФИЦИТНЫХ СОСТОЯНИЯХ

С. И. Кривенко

9-я городская клиническая больница, г. Минск

Представлены результаты исследования иммуномодулирующих свойств группоспецифических полисахаридов А и группоспецифических полисахаридов Б, являющихся субстанциями лекарственных средств Фруглюмин А и Фруглюмин Б. Установлено, что группоспецифические полисахариды *in vivo* обеспечивают усиление иммунологического ответа Т-лимфоцитов на вводимый антиген при нормальном иммунном статусе экспериментальных животных и в условиях вторичного иммунодефицита. ПА и ПБ не обладают иммуностимулирующим действием на В-клеточное звено иммунной системы экспериментальных животных при нормальной реактивности иммунной системы. В условиях вторичного иммунодефицитного состояния у мышей субстанции группоспецифических полисахаридов обеспечивают восстановление нормальных значений показателей количества АОК селезенки и титров антиэритроцитарных антител, что свидетельствует о стимуляции антителообразующей функции В-лимфоцитов.

**Ключевые слова:** Т-клеточный и В-клеточный иммунитет, вторичный иммунодефицит, группоспецифические полисахариды, Фруглюмин.

## EFFECTS OF DRUG SUBSTANCES FRUGLYUMIN A AND FRUGLYUMIN B ON T-CELL AND B-CELL-MEDIATED IMMUNE RESPONSE IN MICE IN NORMAL AND WITH IMMUNODEFICIENCY

S. I. Krivenko

9th Municipal Clinical Hospital, Minsk

The results of investigation of immunomodulatory properties of the group-specific polysaccharides A and group-specific polysaccharides B, which are the substances of drugs Fruglyumin A and Fruglyumin B, are presented. It is found that *in vivo* the group-specific polysaccharides provide increased immunological response of T lymphocytes to the antigen in experimental animals with normal immune status and with secondary immunodeficiency. FA and FB do not possess immunostimulating effect on B-cell immunity in experimental animals with normal immune system reactivity. In mice with secondary immunodeficiency substances of group-specific polysaccharides ensure restoration of normal value of the spleen antibody-forming cells and antierythrocyte antibody titers, indicating stimulation of antibody formation function of B-lymphocytes.

**Keywords:** T-cell and B-cell immunity, secondary immunodeficiency, group-specific polysaccharides, Fruglyumin.

### Введение

При разработке новых лекарственных средств (ЛС) проведение доклинических (медико-биологических) испытаний позволяет не только оценить их безопасность, но и на различных модельных системах *in vitro* и *in vivo* всесторонне исследовать целевые свойства но-

вой фармакологической субстанции. Экспериментальное изучение специфической фармакологической активности иммуномодуляторов проводится на модели здоровых половозрелых животных, иммунизированных антигеном внутривенно или внутрибрюшинно в оптимальной и субоптимальной дозах, количественно харак-

теризующих действие испытуемых препаратов на основные звенья иммунитета, функционирование которых обеспечивает развитие реакций клеточного и гуморального типа.

Фругломин А (Фр А) и Фругломин Б (Фр Б) представляют собой иммуномодулирующие ЛС, субстанциями для которых при изготовлении готовых лекарственных форм являются группоспецифические полисахариды А (ПА) и Б (ПБ). Фр А и Фр Б помимо присущей им способности специфически связывать изогемагглютинины  $\alpha$  и  $\beta$  плазмы крови человека обладают способностью умеренно стимулировать лимфоцитопоз, усиливать цитотоксическую активность ЕК-клеток [1] и хемотаксис полиморфноядерных лейкоцитов за счет повышения экспрессии молекул адгезии (CD18) и рецепторов ИЛ-8 преимущественно II типа (CXCR2) [2].

#### Цель работы

Изучить влияние группоспецифических ПА и ПБ — субстанций иммуномодулирующих лекарственных средств Фр А и Фр Б — на Т-клеточный и В-клеточный иммунный ответ у мышей в норме и при вторичных иммунодефицитных состояниях в экспериментах *in vivo*.

#### Материалы и методы

Оценку влияния исследуемых препаратов на В-клеточный (гуморальный) иммунный ответ проводили по их способности изменять численность антителообразующих клеток (АОК) в селезенке и титры гемагглютининов (РГА) в сыворотке крови мышей, иммунизированных антигеном (эритроцитами барана, ЭБ) по общепринятым методикам [3]. Исследование проводили на половозрелых самках весом 18–20 г двух оппозиционно реагирующих на ЭБ линий мышей: низкореагирующей — линия C57Bl/6 и высокореагирующей — линия СВА. Число АОК определяли по методу A. G. Cunningham [4]. Результаты РГА представлены в обратных значениях  $\log_2$  титра гемагглютининов, где титром считали наибольшее разведение сыворотки крови, дающее положительную реакцию.

Влияние на Т-клеточный иммунный ответ исследовали на самках мышей-гибридов  $F_1$  (СВА  $\times$  C57Bl/6) в реакции гиперчувствительности за-

медленного типа (ГЗТ) по методу P. N. Lagrange et al. [5] и реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) по методу W. L. Ford et al. [6]. Результаты ГЗТ представлены в виде индекса реакции, который вычисляли для каждой мыши по формуле:  $ИР (\%) = \{T (\text{опыт}) - T (\text{контроль}) / T (\text{контроль})\} \times 100$ , где Т — толщина подушечки лапы в мм. Индекс РТПХ вычисляли по формуле:  $ИР = \text{вес лимфоузла «опытной» лапы} / \text{вес лимфоузла «контрольной» лапы}$ .

Вторичное иммунодефицитное состояние у мышей вызывали введением циклофосфана (ЦФ) в дозе 150 мг/кг массы однократно внутривенно за 1 сутки до иммунизации ЭБ в субоптимальной дозе ( $2 \times 10^7$  в 100 мкл).

Для снятия иммунодепрессивного состояния растворы субстанций ПА и ПБ вводили экспериментальным животным внутримышечно 3-кратно ежедневно в дозах, эквивалентных расчетным суточной (6 мкг/мышь) и курсовой (6 мкг/мышь). Первое введение препаратов выполняли через 24 часа после инъекции циклофосфана. Оценку эффективности применения ПА и ПБ на фоне вторичного иммунодефицита производили по изменению титров гемагглютининов в сыворотке крови и количества АОК в селезенках мышей линии СВА, а также по реакции ГЗТ у мышей-гибридов  $F_1$  (СВА  $\times$  C57Bl/6).

Количество экспериментальных животных во всех сериях экспериментов составило не менее 4–5 мышей на каждую точку.

Результаты обрабатывали методами вариационной статистики с использованием пакета программ статистической обработки «Origin» и «Microsoft Excel». Так как полученные количественные данные исследований подчинялись закону нормального распределения (критерий Шапиро-Уилка  $> 0,9$  при  $P > 0,05$ ), достоверность различий между сравниваемыми величинами определяли с помощью t-критерия Стьюдента. Различия считали достоверными при значении  $P < 0,05$ .

#### Результаты и обсуждение

Результаты изучения влияния группоспецифических ПА и ПБ на АОК селезенки и реакцию агглютинации представлены в таблице 1.

Таблица 1 — Влияние группоспецифических ПА и ПБ на количество АОК селезенки мышей и титры антиэритроцитарных антител

Варианты, доза препарата, мкг/мышь	Число АОК на 1 млн. спленоцитов	Индекс действия	$\log_2$ обратных величин титров антител	Индекс действия
<b>СВА</b>				
Контроль	46,7 $\pm$ 8,7	—	6,3 $\pm$ 0,33	—
ПА, 6	34,4 $\pm$ 2,4	0,74	4,6 $\pm$ 0,33	0,73
ПА, 60	37,0 $\pm$ 5,0	0,79	5,3 $\pm$ 0,33	0,84
<b>C57Bl/6J</b>				
Контроль	40,0 $\pm$ 3,9	—	4,7 $\pm$ 0,33	—
ПА, 6	34,2 $\pm$ 5,2	0,85	4,3 $\pm$ 0,33	0,91
ПА, 60	39,1 $\pm$ 4,7	0,98	4,0 $\pm$ 0	0,85

Окончание таблицы 1

Варианты, доза препарата, мг/мышь	Число АОК на 1 млн. спленоцитов	Индекс действия	Log2 обратных величин титров антител	Индекс действия
<b>СВА</b>				
Контроль	55,9 ± 4,3	—	6 ± 0	—
ПБ, 6	46,6 ± 3,2	0,83	6,3 ± 0,33	1,05
ПБ, 60	48,9 ± 3,0	0,87	5,7 ± 0,33	0,95
<b>С57В1/6J</b>				
Контроль	38 ± 3,2	—	3,7 ± 0,33	—
ПБ, 6	19,4 ± 4,0*	0,5	4,5 ± 0,9	1,2
ПБ, 60	19,5 ± 1,3*	0,5	4,0 ± 0	1,08

\* Достоверность отличий по отношению к контролю при уровне значимости  $p < 0,05$

Как видно из данных таблицы 1, при нормальном иммунном статусе мышей линий СВА и С57В1/6J исследуемые полисахариды в дозах, эквивалентных расчетным суточной и курсовой для готовых лекарственных форм иммуномодулирующих ЛС Фруглюмин А и Фруглюмин Б, вызывали незначительное снижение числа АОК селезенки. Лишь у мышей низкореагирующей на иммунизацию ЭБ линии С57В1/6J, получавших ПБ, количество АОК селезенки статистически значимо отличалось от значений в группе контроля и составило для суточной и курсовой дозировок  $19,4 \pm 4,0$  и  $19,5 \pm 1,3$  соответственно по сравнению с  $38 \pm 3,2$  в контрольной группе ( $p < 0,05$ ).

В реакции гемагглютинации на обеих линиях экспериментальных животных в ответ на введение ПА и ПБ статистически значимых изменений титра антиэритроцитарных антител

не отмечено. Полученные данные показывают, что исследуемые субстанции в суточной и курсовой дозах не обладают иммуностимулирующим действием на В-клеточное звено при нормальном состоянии иммунной системы.

Влияние группоспецифических ПА и ПБ на Т-клеточное звено иммунитета было изучено на двух моделях — гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) и реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ). По степени регуляции ГЗТ в экспериментах на мышах можно судить о способности применяемого препарата активировать ответ Т-лимфоцитов на вводимый антиген, РТПХ дает возможность оценить действие испытуемого препарата на эффекторную способность Т-лимфоцитов в реакции трансплантационного иммунитета.

Сами по себе ПА и ПБ в курсовой дозе не вызывали формирования реакции ГЗТ (таблица 2).

Таблица 2 — Влияние группоспецифических ПА и ПБ на формирование реакции ГЗТ

Препарат	Вариант постановки				
	интактные животные	контроль (ЭБ)	препарат (60 мг/мышь)	ЭБ + препарат (6 мг/мышь)	ЭБ + препарат (60 мг/мышь)
ПА	10,7 ± 3,4	28,1 ± 8,7	16,7 ± 0,5	52,5 ± 1,4*	52,6 ± 2,6*
ПБ	10,7 ± 3,4	28,1 ± 8,7	13,4 ± 4,2	46,3 ± 7,9	44,4 ± 5,8

\* Достоверность различий по отношению к контролю (ЭБ) при уровне значимости  $p < 0,05$

Оба полисахарида активировали ответ Т-лимфоцитов на вводимый антиген и на фоне иммунизации ЭБ в субоптимальной дозе оказывали стимулирующее действие на формирование реакции ГЗТ у мышей, причем для ПА данная тенденция приобретала характер статистически значимой зависимости.

На модели РТПХ, позволяющей оценить действие исследуемых препаратов на эффекторную функцию Т-лимфоцитов, было установлено, что обе исследуемые субстанции при их введении экспериментальным животным как в суточной, так и в курсовой дозах обеспечивали усиление иммунологической реакции (таблица 3).

Таблица 3 — Влияние ПА и ПБ на реакцию «трансплантат против хозяина» у мышей-гибридов

Серии эксперимента	ПА (индекс реакции)	ПБ (индекс реакции)
Интактные мыши	0,57 ± 0,07	0,57 ± 0,07
Спленоциты СВА(контроль)	1,2 ± 0,1	1,2 ± 0,1
Спленоциты СВА + группоспецифические полисахариды (6 мг/мышь)	1,9 ± 0,06*	1,7 ± 0,03*
Спленоциты СВА + группоспецифические полисахариды (60 мг/мышь)	2,1 ± 0,07*	2,3 ± 0,03*

\* Достоверность отличий от контроля (спленоциты СВА) при уровне значимости  $p < 0,05$

Так, для ПА индекс реакции статистически значимо превышал аналогичный показатель в контрольной группе ( $1,2 \pm 0,1$ ) и составил  $1,9 \pm 0,06$  и  $2,1 \pm 0,07$  для суточной и курсовой доз соответственно ( $p < 0,05$ ). Сходные данные получены и в постановках с введением экспериментальным животным ПБ. Данный эффект носил дозозависимый характер, что проявлялось более высокими индексами реакции при введении курсовых доз субстанций группоспецифических полисахаридов по сравнению с показателями в соответствующих группах животных, получавших суточные дозы исследуемых препаратов.

С целью изучения возможности применения данных препаратов для коррекции вторичных иммунодефицитов использовали модельные постановки на животных с индуцированной иммунологической недостаточностью. В качестве индуктора использовали циклофосфан, который угнетает пролиферацию клеток и синтез антител.

Введение циклофосфана вызывало снижение реакции Т-лимфоцитов экспериментальных животных на антиген (ЭБ) в соответствующих группах контроля на 39,4 и 56,8 % (таблица 4).

Таблица 4 — Влияние группоспецифических ПА и ПБ на формирование реакции ГЗТ при экспериментальной иммуносупрессии (индекс реакции)

Вариант	Интактные животные	Контроль (ЭБ)	ЦФ + ЭБ	ЦФ + ЭБ + препарат (6 мкг)	ЦФ + ЭБ + препарат (60 мкг)
ПА	$14,8 \pm 4,3$	$50,0 \pm 3,9$	$30,3 \pm 1,3^*$	$56,9 \pm 1,0^{***}$	$56,1 \pm 1,8^{**}$
ПБ	$14,8 \pm 4,3$	$54,4 \pm 3,5$	$23,5 \pm 0,0^*$	$55,0 \pm 3,5^{**}$	$60,0 \pm 0,0^{**}$

\* Достоверность различий по отношению к контролю (ЭБ) при уровне значимости  $p < 0,05$ ; \*\* достоверность различий по отношению к циклофосфану при уровне значимости  $p < 0,05$

Трехкратное ежедневное введение субстанций группоспецифических полисахаридов экспериментальным животным полностью восстанавливало у них индекс реакции ГЗТ до уровня данного показателя в контрольных группах животных, не получавших ЦФ. Введение ПА животным на фоне вторичного иммунодефицита в суточной и курсовой дозах увеличивало индекс реакции, соответственно, до  $56,9 \pm 1,0$  и  $56,1 \pm 1,8$  по сравнению с  $30,3 \pm 1,3$  в группе животных, получавших только циклофосфан ( $p < 0,05$ ). Такие же результаты были получены и для ПБ, что позволило сделать вывод о наличии у исследуемых

субстанций иммуномодулирующего действия, проявляющегося стимуляцией Т-клеточного звена иммунной системы на фоне вторичного иммунодефицитного состояния.

При оценке эффективности иммунокоррекции нарушений В-клеточного звена иммунной системы на фоне моделируемой иммуносупрессии было установлено, что применение субстанций иммуномодулирующих препаратов повышало число АОК селезенки до значений, статистически значимо превышавших данный показатель в контрольных группах животных, не получавших ЦФ (таблица 5).

Таблица 5 — Влияние группоспецифических ПА и ПБ на количество АОК селезенки мышей и титры антиэритроцитарных антител в условиях вторичного иммунодефицитного состояния

Варианты	Число АОК на 1 млн. спленоцитов	Индекс действия (относительно контроля)	Log <sub>2</sub> обратных величин титров антител	Индекс действия (относительно контроля)
Контроль	$40,5 \pm 13,0$	—	$4,0 \pm 0$	—
ЦФ	$8,2 \pm 2,4^*$	0,2	$3,5 \pm 0,3^*$	0,88
ЦФ + ПА	$94,3 \pm 8,4^{***}$	2,3	$4,5 \pm 0,3^{**}$	1,12
Контроль	$28,7 \pm 2,9$	—	$3,0 \pm 0$	—
ЦФ	$5,9 \pm 0,6^*$	0,2	$2,0 \pm 0^*$	0,66
ЦФ + ПБ	$52,4 \pm 3,7^{***}$	1,8	$3,0 \pm 0^{**}$	1

\* Достоверность отличий от исходных данных при уровне значимости  $p < 0,05$ ; \*\* достоверность отличий по сравнению с циклофосфаном при уровне значимости  $p < 0,05$

Так, введение ПА животным на фоне вторичного иммунодефицита в суточной и курсовой дозах обеспечивало соответственно повышение количества АОК до  $56,9 \pm 1,0$  и  $56,1 \pm 1,8$  по сравнению с  $30,3 \pm 1,3$  в группе животных,

получавших только циклофосфан ( $p < 0,05$ ). Аналогичные результаты получены и для ПБ. В ответ на введение ПА и ПБ также наблюдалось восстановление уровня антиэритроцитарных антител, сниженного под влиянием ЦФ.

**Выводы**

1. Группоспецифические ПА и ПБ в суточной и курсовой дозах *in vivo* обеспечивают усиление иммунологического ответа Т-лимфоцитов на вводимый антиген при нормальном иммунном статусе экспериментальных животных и в условиях вторичного иммунодефицита.

2. ПА и ПБ не обладают иммуностимулирующим действием на В-клеточное звено при нормальной реактивности иммунной системы экспериментальных животных.

3. В условиях вторичного иммунодефицитного состояния у мышей субстанции ПА и ПБ обеспечивают восстановление нормальных значений показателей количества АОК селезенки и титров антиэритроцитарных антител, что свидетельствует о стимуляции антителообразующей функции В-лимфоцитов.

**БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК**

1. Влияние группоспецифических полисахаридов животного происхождения на цитотоксическую активность естественных киллерных клеток крови человека / В. Н. Гапанович [и др.] // Медицинский журнал. — 2005. — № 4. — С. 37–38.
2. Кривенко, С. И. Регуляция экспрессии хемокиновых рецепторов CXCR1 и CXCR2 нейтрофильных лейкоцитов периферической крови человека под действием иммуномодулирующих препаратов на основе полисахаридов животного происхождения / С. И. Кривенко, М. В. Белевцев, В. Н. Гапанович // Известия НАНБ. Серия медицинских наук. — 2007. — № 3. — С. 49–51.
3. Методические материалы по экспериментальному (фармакологическому) и клиническому испытанию иммуномодулирующего действия фармакологических средств. — М., 1984. — 37 с.
4. Cunningham, A. G. A method of increasing sensitivity for detecting single antibody-forming cells / A. G. Cunningham // Nature. — 1965. — Vol. 207. — P. 1106–1107.
5. Lagrange, P. N. Influence of dose and route of antigen injection on the immunological induction of T cell / P. N. Lagrange, C. B. Mackaness, T. E. Miller // J. Exp. Med. — 1974. — Vol. 139, № 3. — P. 528–539.
6. Ford, W. L. A lymph node weight assay for graft versus — host activity on rat lymphoid cells / W. L. Ford, W. Burr, M. Simonsen // Transplantation. — 1970. — Vol. 10. — P. 258–266.

Поступила 03.08.2015

## ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДОРОВЬЕ И ЗДРАВООХРАНЕНИЕ, ГИГИЕНА

УДК 616.12-008.46-036.12(476)

### ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ: ФАКТОРЫ РИСКА ВОЗНИКНОВЕНИЯ И СТРУКТУРА

*О. П. Ревтович, О. В. Зотова, Т. Л. Денисевич, Е. К. Курлянская*

Республиканский научно-практический центр «Кардиология», г. Минск

В статье представлены данные поперечного эпидемиологического исследования взрослой популяции населения г. Минска с целью определения распространенности хронической сердечной недостаточности (ХСН).

Распространенность ХСН в исследуемой популяции на 01.12.2012 г. составила 13,2 %. Из факторов риска развития ХСН наибольшее значение имеют возраст старше 55 лет, курение, сопутствующая сердечно-сосудистая патология в анамнезе и наличие сердечно-сосудистых заболеваний у родственников. В структуре этиологии ХСН преобладают ишемическая болезнь сердца и артериальная гипертензия.

**Ключевые слова:** хроническая сердечная недостаточность, распространенность, факторы риска.

### THE EPIDEMIOLOGICAL ASPECTS OF CHRONIC HEART FAILURE IN THE REPUBLIC OF BELARUS: RISK FACTORS AND STRUCTURE

*O. P. Revtovich, O. V. Zotova, T. L. Denisevich, E. K. Kurlyanskaya*

Republican Scientific and Practical Center «Cardiology», Minsk

This article presents the data of the cross-epidemiological study of adult population of Minsk aimed at the determination of the prevalence of chronic heart failure (CHF).

The prevalence of chronic heart failure in the studied population on December 1, 2012 was 13.2 %. The most important risk factors for chronic heart failure are age over 55, smoking, concomitant cardiovascular pathology in the past medical history, and the presence of cardiovascular disease in relatives. Coronary heart disease and hypertension are prevalent in the structure of CHF.

**Key words:** chronic heart failure, prevalence, risk factors.

**Введение**

ХСН в современном обществе является медико-социальной проблемой. Несмотря на зна-

чительные достижения в кардиологии, широкое внедрение во врачебную практику новых эффективных средств терапии, ХСН по-прежнему