

Отечественный препарат Лизак как местное антисептическое средство широко применяется в отоларингологии и стоматологии. Одним из опосредованных механизмов его эффективного действия при инфекционно-воспалительной патологии ротоглотки является нейтральное или стимулирующее влияние на факторы врожденного иммунитета (Марушко Ю.В. и соавт., 2010; Мельников О.Ф. и соавт., 2013). Вместе с тем для рационального комплексного лечения воспалительных процессов необходимы знания о более широком спектре иммуномодулирующих эффектов препарата. Наиболее четкие данные получены в исследованиях *in vitro*, когда клетки освобождены от всей гаммы возможных негативных влияний, что наблюдается при исследовании *in vivo* (Мельников О.Ф., 1981).

О.Ф. Мельников, Т.А. Заяц, М.Д. Тимченко, Б.Н. Биль, Т.Б. Земляк,
ГУ «Институт отоларингологии им. А.И. Коломийченко НАМН Украины», г. Киев

Исследование влияния препарата Лизак на клеточные и гуморальные факторы иммунитета в условиях *in vitro*

Материалы и методы

На основании этих предпосылок нами было изучено влияние препарата Лизак на уровень концентрации в ротоглоточном секрете (РС) защитных гуморальных факторов: секреторного IgA (sIgA), α - и γ -интерферонов при инкубации *in vitro* различных концентраций препарата Лизак с РС от 10 детей с диагнозом гипертрофии глоточной миндалины II-III степени, которым по медицинским показаниям была проведена аденотомия, и от 10 практически здоровых детей в возрасте 8-12 лет. Ротоглоточный секрет получали и обрабатывали в соответствии с методическими рекомендациями Института отоларингологии им. А.И. Коломийченко НАМН Украины (2008). Использовали две концентрации препарата. ВД – высокая доза: 1 таблетка препарата, измельченная в 10 мл раствора Хенкса и профильтрованная через стерилизующий фильтр Millipore (Чехия). МД – малая доза: раствор препарата, полученный при омывании таблетки в течение 5 мин в 10 мл раствора Хенкса с последующими аналогичными манипуляциями с жидкой фазой.

Обе дозы использовали по 0,2 мл, смешивая их с 0,2 мл РС и выдерживая в течение различных промежутков времени в условиях термостата при 37°C. Время контакта – от 0,5 до 2 ч. Гуморальные факторы определяли с помощью иммуноферментного метода (анализатор LabLine, Австрия).

Кроме того, изучали влияние препарата Лизак на активность цитотоксических клеток глоточной миндалины в отношении ксеногенных эритроцитарных мишеней в условиях *in vitro*. Растворы препарата добавляли к клеткам глоточных миндалин по 0,1 мл раствора на 1 мл инкубационной среды (бесцветный раствор Хенкса с добавками – L-глутамин, 5% эмбриональная телячья сыворотка RPMI-1640) и инкубировали в течение 18 ч с эндотелиальными клетками. Степень разрушения определяли спектрофотометрически по содержанию гемоглобина в надосадочной жидкости и оценивали уровень деструкции мишеней согласно рекомендациям О.Ф. Мельникова и Т.А. Заяц (1999). Всего выполнено 11 проб с клетками глоточных миндалин, удаленных по причине их гипертрофии. Кроме того, в ряде проб (n=7) определяли влияние препарата на продукцию провоспалительного цитокина – интерлейкина-1 β (ИЛ-1) и противовоспалительного цитокина – интерлейкина 10 (ИЛ-10). Время инкубации в условиях *in vitro* при температуре 37°C и 5% атмосфере CO₂ (термостат Nuve-EC 160, Турция) составляло 18 ч, после чего в надосадочной жидкости определяли содержание интерлейкинов с помощью набора реактивов. Результаты статистически обработаны с применением непараметрического критерия «U» (Гублер Е.В., 1978).

Результаты и обсуждение

Установлено, что препарат Лизак в исследованных концентрациях и во всех временных интервалах инкубации с РС не изменял концентрации sIgA (рис. 1), α - и γ -интерферонов (табл.) по сравнению с исходным уровнем, т.е. не оказывал негативного влияния на гуморальные защитные факторы РС.

Таблица. Влияние препарата Лизак в различных дозах на содержание α - и γ -интерферонов в РС детей с гипертрофией глоточной миндалины								
Группы	Концентрация интерферонов в пг/мл							
	α -интерферон				γ -интерферон			
	М	ПК	n	p	М	ПК	n	p
К	10,0	7-11,2	11	–	41,6	22-54,0	11	–
ВД	9,6	6,5-12,0	11	>0,05	39,6	24-55,0	11	>0,05
МД	10,2	7-11,0	11	>0,05	42,5	22,0-56,0	11	>0,05

Примечание: М – среднее значение, ПК – пределы колебаний значений (мин. – макс.); n – количество постановок; p – достоверность различий по отношению к контролю (К).

На фоне применения препарата в ВД не отмечены существенные изменения уровня исходной цитолитической активности клеток миндалин, а при использовании МД значительно (в 2,5 раза, $p < 0,01$) повышалась их деструктивная активность (рис. 2), что может свидетельствовать в пользу иммуностимулирующего действия МД препарата Лизак на клеточные факторы противовирусного иммунитета. В аналогичных условиях культивирования препарат Лизак в обеих применяемых концентрациях снижал уровень провоспалительного цитокина ИЛ-1 и не влиял на содержание в культуре клеток миндалин противовоспалительного цитокина ИЛ-10 (рис. 3).

Таким образом, в исследованиях *in vitro*, посвященных оценке влияния препарата Лизак на количество секреторного IgA и интерферонов в РС, показано отсутствие воздействия на структуру этих субстанций даже в условиях увеличенного временного контакта с препаратом – 1 и 2 ч.

Выводы

1. Препарат Лизак в высоких и низких дозах не изменял уровень концентрации секреторного IgA, интерферонов при культивировании *in vitro* образцов РС с препаратом в течение от 0,5 до 2 ч.
2. Низкие дозы препарата Лизак стимулировали естественную цитотоксическую активность клеток глоточных миндалин.

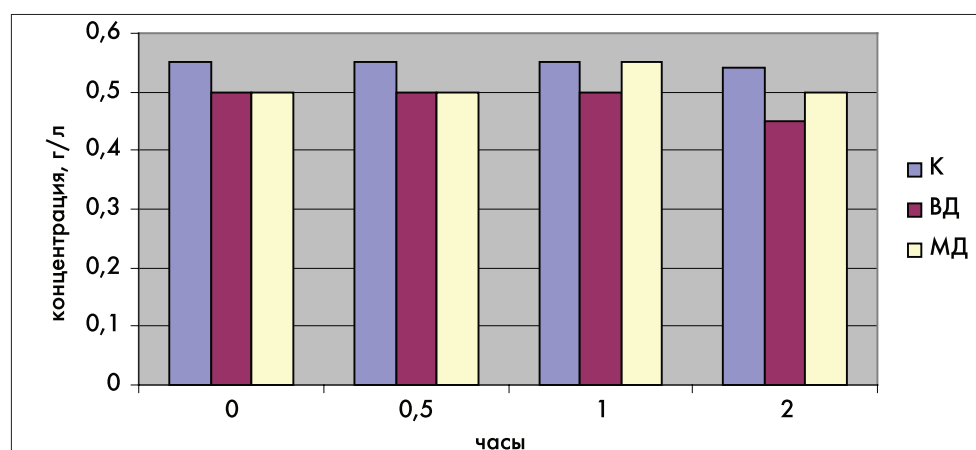


Рис. 1. Влияние различных доз препарата Лизак на уровень секреторного IgA в РС в условиях контакта *in vitro*

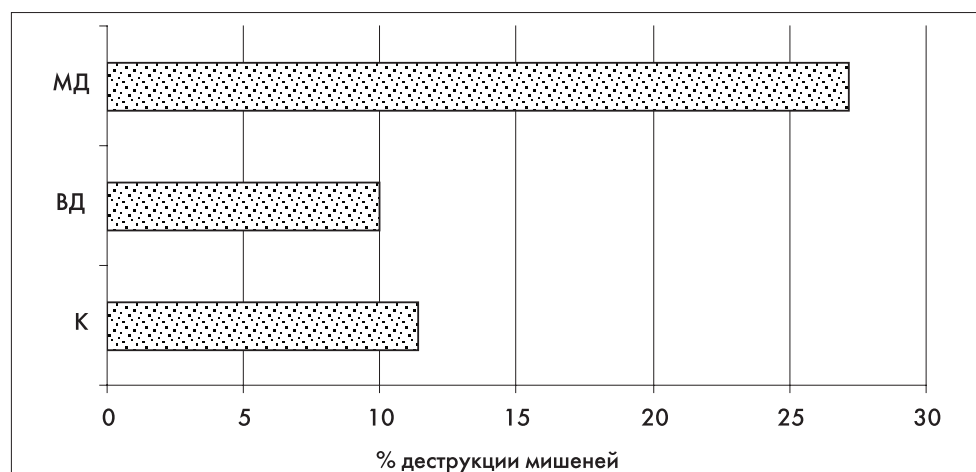


Рис. 2. Влияние различных доз препарата Лизак на активность цитотоксических клеток глоточных миндалин *in vitro*

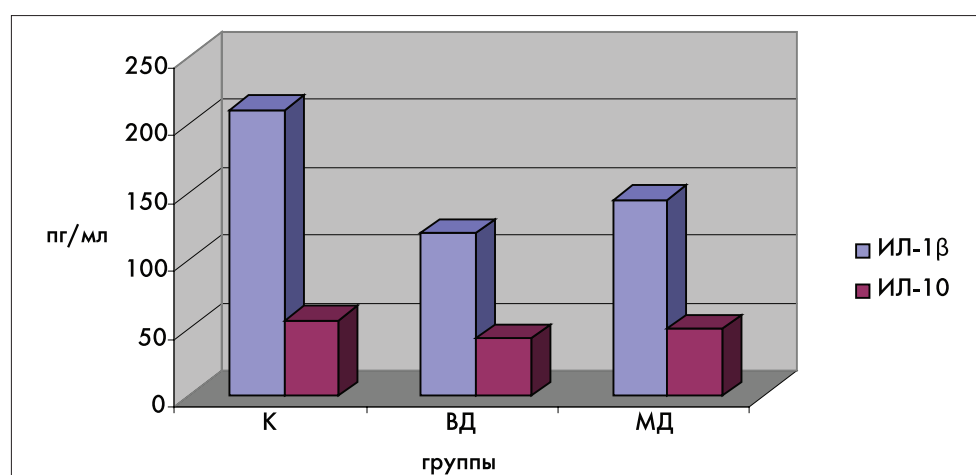


Рис. 3. Влияние различных доз препарата Лизак на содержание в культуре клеток глоточных миндалин *in vitro* интерлейкинов 1 и 10

3. В обеих дозах препарат Лизак снижал содержание провоспалительного цитокина – интерлейкина-1 β (ИЛ-1) и не влиял на уровень противовоспалительного цитокина ИЛ-10 в культуре клеток миндалин.

Литература

1. Гублер Е.В. Математические методы анализа и распознавания патологических процессов. – Л.: Медицина, 1978. – 294 с.
2. Лайко А.А. Гипертрофия лимфаденоидной ткани глотки / А.А. Лайко, Д.І. Заболотний, А.Л. Косаковский, В.В. Березнюк, Д.Д. Заболотна та ін. – К.: Логос, 2009. – 175 с.
3. Дослідження ротоглоткового секрету у хворих на хронічні запальні та алергічні захворювання верхніх дихальних шляхів: метод. рекомендації / Д.І. Заболотний, О.Ф. Мельников, С.В. Тимченко, Д.Д. Заболотна. – К., 2008. – 28 с.
4. Мельников О.Ф. Иммунологические аспекты генеза хронического тонзиллита и регуляции функциональной активности небных миндалин: дисс. д-ра мед.наук: 14.00.16. – К.: Ин-т физиологии АН УССР, 1981. – 294 с.
5. Мельников О.Ф., Заяц Т.А. Сравнительная оценка радиоизотопного и спектрофотометрического методов регистрации цитолиза // Лаб. диагностика. – 1999. – № 2. – С. 32-34.
6. Мельников О.Ф., Марушко Ю.В., Тимченко М.Д., Добриди М.Г. Оценка состояния местного иммунитета в ротоглотке у детей с хроническим тонзиллитом и острым фарингитом при терапии с использованием препарата Лизак: материалы традиционной весенней сессии общества оториноларингологов Украины, Севастополь, 2013 // Журн. вушн., нос. та горл. хвороб. – 2013. – № 6. – С. 180-181.
7. Marushko Yu., Melnikov O., Movchan O., Lysovet O. Content of antimicrobial peptides in oropharyngeal secretions of children suffering from acute respiratory diseases / X Anniversary Ukrainian-Polish-Belorussian Conference «Physiology and Pathology of Respiration: Advances in basic research and clinical applications». – Kiev, 2013 // Фізіологічний журнал. – 2013. – Т. 59. – № 4. – С. 22.