

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ АНТИМИКРОБНОГО И ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕГО ЭФФЕКТА НОВОГО ВИДА СЫРЬЯ МАКЛЕЙИ МЕЛКОПЛОДНОЙ – *FOLIA MACLEAYAE*

ФРОЛОВА А.В., КОСИНЕЦ А.Н., БУЛАВКИН В.П.

*УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»*

**Резюме.** Проведен сравнительный анализ *in vitro* и *in vivo* антимикробной активности раствора сангвиритрина, раствора берберина и настоев из листьев и травы маклейи мелкоплодной в отношении возбудителей хирургической инфекции. Показано, что выраженной антимикробной активностью обладают раствор сангвиритрина и настой листьев маклейи мелкоплодной. Очень слабый антимикробный эффект проявил раствор берберина. При сравнительном изучении *in vitro* иммуномодулирующей активности различных извлечений маклейи мелкоплодной установлено, что настой из листьев растения восстанавливает до нормального уровня ослабленную бактерицидную активность нейтрофилов у больных с гнойно-воспалительными заболеваниями и осложнениями. Экспериментальным исследованием показана перспективность нового вида сырья (листья) для производства эффективных лекарственных средств на его основе. Благодаря выраженному антимикробному и иммуномодулирующему эффекту настой из листьев маклейи мелкоплодной может быть рекомендован для использования в I фазе раневой инфекции с целью ускорения процессов очищения ран от патогенной микрофлоры и созревания грануляционной ткани.

**Ключевые слова:** маклейя мелкоплодная, антимикробный эффект.

**Abstract.** The comparative analysis *in vitro* and *in vivo* antimicrobial activity of a solution sanguiritrini, a solution berberini and infusum from leaves and a herba of *Macleayae microcarpaе* concerning activators of a surgical infection is lead. It is shown, that the expressed antimicrobial activity possess a solution sanguiritrini and infusum from leaves of *Macleayae microcarpaе*. Very weak antimicrobial effect has shown a solution berberini. At comparative studying *in vitro* immunomodulation activity of various extraction of *Macleayae microcarpaе* it is established, that infusum from leaves of a plant restores up to a normal level the weakened bactericidal activity neutrophyles at patients with pyoinflammatory diseases and complications.

By the experimental research perspective of a new kind of raw material (leaves) for manufacture of effective medical products on its basis is shown. Owing to expressed antimicrobial and immunomodulation effects infusum from leaves of *Macleayae microcarpaе* can be recommended for use in I phase of wound infection with the purpose of acceleration of processes of clarification of wounds from pathogenic microflora and maturing.

**Адрес для корреспонденции:** Республика Беларусь, 210023, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, Витебский государственный медицинский университет

Вряд ли для какой-либо другой цели в медицинской практике было предложено большее число как отдельных средств и их сочетаний (рецептов), так и целых методов и систем, чем для лечения ран [1-7]. Но даже самые эффективные лекарственные средства в процессе их применения снижают свою активность и начинают вызывать неожиданные побочные эффекты. Мутагенное действие антибиотиков на патогенную микрофлору обусловило изменение как этиологической структуры гнойной хирургической инфекции, так и биологических свойств микробной клетки с появлением антибиотикорезистентных штаммов. Следствием этих изменений явилось прогрессирующее снижение эффективности антибиотикотерапии на фоне растущей аллергизации населения.

Исход хирургического лечения во многом зависит не только от местных факторов в очаге поражения, но и от общего состояния макроорганизма [8, 9]. Поэтому в последние десятилетия все больше признается необходимость применения в комплексном лечении больных с гнойно-воспалительными осложнениями иммунокорригирующей терапии.

При ежегодно отмечаемом росте гнойно-воспалительных заболеваний и послеоперационных осложнений, в большинстве своем тяжело протекающих и не поддающихся традиционному лечению, и значительных финансовых затратах на длительную и эффективную антибактериальную терапию, система здравоохранения заинтересована в экономически выгодных лекарственных средствах, в том числе растительного происхождения.

Включение фитотерапии в комплекс профилактических и лечебных мероприятий на различных стадиях заболеваний становится не только экономически выгодным, но и патогенетически оправданным и полезным, особенно при хронических процессах [10, 11].

В 1964 г. во Всесоюзном научно-исследовательском институте лекарственных растений Б.К. Ростоцким из трех видов хохлаток *Corydalis Sewerzowii* Regel., *Corydalis stricta* Steph. и *Corydalis Ledebouriana* Kaz. et Kir. (сем. Papaveraceae Juss.) был выделен алкалоид сангвинарин, на основе которого впоследствии был разработан антимикробный препарат «Сангвинарин» [12]. В 1967-1968 гг. сотрудниками Пятигорского фармацевтического института В.А. Челомбитко и Д.А. Муравьевой было предложено использовать в качестве сырьевой базы для его промышленного производства надземную часть восточно-азиатских видов сем. Маковых – маклейи сердцевидной (*Macleaya cordata* (Willd.) R. Br.) и маклейи мелкоплодной (*Macleaya microcarpa* (Maxim.) Fedde) [13, 14]. Дальнейшее изучение химического состава этих растений послужило основанием для разработки в середине 70-х годов нового антимикробного препарата «Сангвиритрин», состоящего из суммы двух близких по структуре и свойствам бисульфатов четвертичных бензо[с]фенантридиновых алкалоидов сангвинарина и хелеритрина.

Большинство клиницистов отметили хорошую переносимость лекарственных форм этого препарата, отсутствие раздражающего действия при длительном лечении заболеваний кожи и слизистых оболочек [15-18]. Одним из новых научно-практических направлений работы по борьбе с хирургической инфекцией является создание и внедрение в медицинскую практику материалов

и изделий с антимикробным эффектом (средства личной гигиены, пластыри, бинты, шовные материалы) [199-266]. Наличие широкого спектра и высокой антимикробной активности действующих веществ – одно из основных требований к этим изделиям. Сущность самого направления заключается в создании длительно действующих иммобилизованных антисептиков, из которых активное вещество в необходимой дозе непрерывно поступает в рану. Сегодня, помимо таблеток по 0,005 г, 1% линимента, 0,2% водно-спиртового раствора, разработаны и рекомендованы к производству мазь сангвиритрина, свечи, коллагеновые пленки, губки, гели, дезинфицирующие растворы для пропитывания салфеток, детского белья, спецодежды и обработки оборудования [12].

В Республике Беларусь этот препарат не зарегистрирован и с начала 90-х годов отсутствует в аптечной сети.

Целью нашей работы явилось изучение антимикробной и иммуномодулирующей активности различных извлечений из маклей мелкоплодной, чтобы предложить альтернативу антимикробному препарату «Сангвиритрин».

### **МЕТОДЫ**

Объектами исследования антимикробной активности и сравнения *in vitro* явились:

- 1) раствор сангвиритрина,
- 2) раствор берберина,
- 3) настой травы маклей мелкоплодной,
- 4) настой листьев маклей мелкоплодной

Объектами исследования антимикробной активности и сравнения *in vivo* явились:

- 1) ткань атравматичная, пропитанная смесью бисульфатов четвертичных бензо[с]фенантридиновых алкалоидов сангвинарина и хелеритрина (сангвиритрин),
- 2) ткань атравматичная, пропитанная настоем из листьев маклей мелкоплодной,
- 3) ткань атравматичная, пропитанная настоем из травы маклей мелкоплодной,
- 4) ткань атравматичная, пропитанная раствором фурацилина,
- 5) ткань атравматичная без носителей.

Алкалоиды получены из уксуснокислого экстракта маклей мелкоплодной, их содержание в объектах составляло 0,1-0,2 ммоль/г ткани.

В качестве ткани атравматичной использовано полотно трикотажное сетчатое медицинское ТУ РБ 300031282.004\_2000.

Антимикробная активность образцов *in vitro* изучена в отношении музейных штаммов *S. aureus* ATCC 25923, *B. subtilis* ATCC 6633, *E. coli* ATCC 026, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853 и референс-штаммов, изолированных из патологического материала пациентов с гнойно-воспалительными

заболеваниями, находящихся на лечении в Республиканском научно-практическом центре «Инфекция в хирургии».

На чашку Петри с мясопептонным агаром (МПА) вносили взвесь  $10^9$  колониеобразующих единиц (КОЕ) суточной культуры исследуемого штамма микроорганизма. Настой (раствор) испытуемого образца, стерильный физиологический раствор (контроль) в объеме 20 мкл вносили в лунки, и после суточной инкубации в термостате при  $t=37^\circ\text{C}$  измеряли размеры зон задержки роста микроорганизмов. При отсутствии зоны задержки роста считали, что антимикробная активность отсутствует.

Антимикробная активность образцов *in vivo* изучена на модели гнойной раны у крыс. В асептических условиях под эфирным наркозом в лопаточной области крысы иссекались кожный лоскут и подкожная клетчатка до подлежащей фасции площадью  $552\pm 0,8 \text{ мм}^2$ . Края и дно раны подвергались размозжению при помощи зажима Кохера. Для моделирования гнойной раны использовали микробные взвеси штаммов *S. aureus* ATCC 25923 и *E. coli* ATCC 25922, содержащие 1 млрд. микробных тел в 1 мл, которыми контаминировали раны. Инфицирующая доза составляла 2 мл на 200 г массы крысы [277]. С целью изолирования раны от попадания микрофлоры из окружающей среды животным под кожу вшивали полиэфирные кольца, которые после введения суточной культуры микроорганизма закрывались крышечками.

Животные были разделены на следующие группы.

В первую группу вошли крысы, на раневую поверхность которых накладывали ткань атравматичную, пропитанную раствором сангвиритрина (позитивный контроль).

Во второй (опытной) группе на раневую поверхность накладывали ткань атравматичную, пропитанную настоем листьев маклей мелкоплодной.

В третьей группе (опытной) накладывали ткань атравматичную, пропитанную настоем травы маклей мелкоплодной.

В четвертой (контрольной) на раневую поверхность накладывали ткань атравматичную, пропитанную раствором фурацилина.

В пятой группе (негативный контроль) на раневую поверхность накладывали ткань атравматичную без носителей.

Переязки проводились 1 раз в сутки ежедневно.

Каждая группа состояла из двух подгрупп: в первую входили животные с ранами, инфицированными *S. aureus*, во вторую – с ранами, инфицированными *E. coli*.

Антимикробную активность исследуемого образца выявляли в ходе бактериологического исследования раневого содержимого и количественного контроля за его микрофлорой (метод исследования микробной обсемененности раневой поверхности по Радоману В.Е., 1991). С этой целью стерильной стандартной бактериологической петлей диаметром 3 мм брали соскоб с раневой поверхности и осторожно высевали (40 штрихов с одного забора) на чашку Петри с кровяным агаром в сектор А (рис. 1). Петлю обжигали и проводили 4 раза по поверхности агара из сектора А в сектор I, затем снова обжигали и проводили через сектор I в сектор II четыре раза. Процедуру повторяли еще раз из сектора

II в III. Затем чашку с кровяным агаром ставили в термостат на сутки при 37°C. По тому, в каком секторе и в какой степени происходит рост колоний, судили о микробной обсемененности. Зависимость между числом колоний в секторе чашки и интенсивностью обсемененности находилась по таблице [28].



Рис. 1. Диаметры зон подавления роста *S. aureus*

Условные обозначения:

1 – раствор сангвиритрина, 2 – настой травы маклейи мелкоплодной, 3 – настой листьев маклейи мелкоплодной, 4 – раствор берберина, к – стерильный физиологический раствор

Для изучения иммуномодулирующего эффекта маклейи мелкоплодной *in vitro* были использованы клетки иммунной системы пациентов с гнойными послеоперационными осложнениями. Изучены различия в показателях иммунного статуса до и после инкубации клеток с раствором сангвиритрина, настоем из листьев маклейи мелкоплодной и раствором полисахаридов этого растения.

Иммунный статус пациентов с гнойно-воспалительными заболеваниями и осложнениями оценивали по количеству лимфоцитов, Т-лимфоцитов и их субпопуляций, В-лимфоцитов, фагоцитарной и метаболической активности нейтрофилов в спонтанном и стимулированном НСТ-тесте [29].

### **РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

Учитывая, что в растениях рода *Macleaya* помимо четвертичных бензо[с]фенантридиновых алкалоидов сангвинарина и хелеритрина, накапливаются и другие алкалоиды группы протоберберина (берберин, коптисин), а также третичные алкалоиды (протопин, аллокриптопин), обеспечивающие различный фармакологический эффект, актуальным явилось провести сравнительный анализ антимикробной активности алкалоидов растения.

При сравнительном изучении растворов алкалоидов нами установлены выраженный антимикробный эффект раствора сангвиритрина и низкая антимикробная активность раствора берберина, несмотря на то, что он также относится к группе четвертичных алкалоидов. Возможно, это связано со значительными различиями в физико-химических свойствах и с различной химической структурой четвертичных бензо[с]фенантридиновых (сангвинарин и хелеритрин) и протобербериновых (берберин) алкалоидов.

Диаметры зон подавления роста *S. aureus* и *E. coli* образцами приведены на рисунках 1-2.

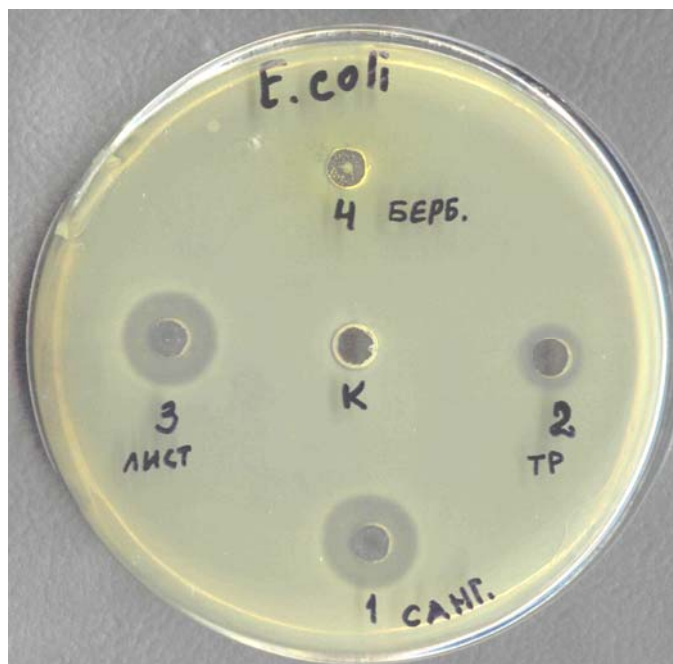


Рис. 2. Диаметры зон подавления роста *E. coli*

Условные обозначения:

1 – раствор сангвиритрина, 2 – настой травы маклейи мелкоплодной, 3 – настой листьев маклейи мелкоплодной, 4 – раствор берберина, к – стерильный физиологический раствор.

Поскольку нашей задачей явилось предложить альтернативу препарату «Сангвиритрин» (смеси очищенных алкалоидов сангвинарина и хелеритрина), а настой помимо этих алкалоидов содержит другие действующие вещества, целесообразным стало изучить взаимодействие между ними.

Из рисунков 1-2 видно, что настой из листьев обладает антимикробной активностью, достоверно более выраженной, чем настой из травы ( $p < 0,001$ ), но не отличающейся от раствора сангвиритрина ( $p < 0,001$ ). Эти данные позволяют сделать вывод об индифферентности сопутствующих веществ маклейи мелкоплодной, поскольку, в отличие от «Сангвиритрина», настой, помимо сангвинарина и хелеритрина, содержит и другие действующие вещества, например, флавоноиды, органические кислоты. В случае обнаружения изменения размера зоны задержки роста микроорганизмов настоем маклейи мелкоплодной в сравнении с раствором сангвиритрина, необходимо было бы признать усиление или ослабление эффекта сопутствующими веществами.

Изучение их взаимосвязи является целесообразным при разработке анти-микробных лекарственных средств на основе маклейи.

При экспериментальном изучении антимикробной активности образцов на модели гнойной раны были получены следующие результаты.

В день операции микробная обсемененность ран во всех группах животных составила  $10^5$  -  $10^6$  (десятичный логарифм равен  $5,2 \pm 0,04$ ), значение рН среды в них было равно 3,5. На следующий день происходил рост микробной обсемененности до  $10^6$  -  $10^7$  (десятичный логарифм составил  $6,9 \pm 0,02$ ). Лечение начинали на вторые сутки после заражения. К этому моменту у всех животных выявлялись признаки гнойного воспаления: отек и гиперемия краев раны и окружающих тканей, наличие гноя и некротических масс. Животные становились малоподвижными, вялыми, наблюдалась тахикардия, потеря массы составляла до 10%.

Наблюдения показали, что в первых трех группах в процессе лечения происходило быстрое снижение микробной обсемененности ран и исчезновение микрофлоры. Однако в зависимости от вида инфицирующего агента наблюдались различия в подгруппах.

При сравнительном изучении течения раневого процесса в подгруппах животных, раны которых контаминированы *S. aureus*, нами отмечено следующее.

В первых двух подгруппах через сутки от начала лечения воспалительная реакция была слабо выраженной, отмечались незначительный отек и гиперемия краев раны. Отделяемое из раны было скудным, микробная обсемененность составляла  $10^4$  -  $10^5$  (средний десятичный логарифм –  $4,1 \pm 0,16$ ). В третьей подгруппе микробная обсемененность ран составила  $10^5$  -  $10^6$  (десятичный логарифм равен  $5,2 \pm 0,12$ ), что достоверно отличалось от картины в первых двух ( $p < 0,001$ ).

В четвертой подгруппе, в которой лечение проводили раствором фурацилина, при этом микробная обсемененность равнялась  $10^6$  -  $10^7$  (десятичный логарифм составил  $6,6 \pm 0,13$ ), а в пятой – наблюдалось бурное развитие гнойно-воспалительного процесса, сопровождавшееся обильным гнойным отделяемым, микробная обсемененность продолжала нарастать и составляла  $10^7$  -  $10^8$  (десятичный логарифм –  $7,5 \pm 0,1$ ).

На 2-е сутки от начала лечения микробная обсемененность в первых двух подгруппах составила  $10^2$  (десятичный логарифм равен  $2 \pm 0,09$ ), раны очистились от патологического содержимого, шел активный процесс заживления. В третьей подгруппе бактериологические исследования подтверждали снижение обсемененности, она составила  $10^4$  -  $10^5$  (десятичный логарифм равен  $4,4 \pm 0,11$ ). При визуальном осмотре установлено, что произошло уменьшение отека и гиперемии краев раны; гнойное отделяемое значительно уменьшилось, тенденции к распространению некроза не отмечено.

В четвертой подгруппе животных увеличилось количество гноя и некротических масс, микробная обсемененность составила  $10^7$  -  $10^8$  (десятичный логарифм равен  $7,6 \pm 0,16$ ), а в пятой – помимо нарастания микробной обсемененности до  $10^8$  (десятичный логарифм составил  $8,1 \pm 0,11$ ), была отмечена генерали-

зация инфекции. В контрольных подгруппах значение рН среды раневого содержимого равнялось 3,0-3,5, а в опытных – 7,3.

У животных первых двух подгрупп отмечено исчезновение раневого отделяемого к третьим суткам (5-е сутки после операции), полное заживление ран наступало к 5 суткам лечения. Пятые сутки после операции характеризовались значительным уменьшением раневого отделяемого, снижением микробной обсемененности до  $10^2$  (десятичный логарифм равен  $2,1 \pm 0,06$ ) в третьей подгруппе. рН среды оставался слабо-щелочным.

В четвертой подгруппе раневое отделяемое имело по-прежнему кислую среду, края ран оставались гиперемизированными и отечными, по видовому составу микрофлора приобрела полиморфный характер, помимо *S. aureus* высевался *P. vulgaris*. Микробная обсемененность составляла  $10^7$  (десятичный логарифм равен  $7,5 \pm 0,1$ ). У животных пятой подгруппы к этому моменту микробная обсемененность составляла  $10^{8-9}$  (десятичный логарифм равнялся  $8,3 \pm 0,11$ ), раневой процесс продолжал прогрессировать, характеризуясь обильным отделяемым, некрозом окружающих рану тканей и присоединением *P. vulgaris*, *E. coli*.

На шестые сутки после операции в третьей подгруппе раны были очищены от патогенной микрофлоры, микробная обсемененность отсутствовала, грануляции имели сочный вид. В четвертой подгруппе шел интенсивный воспалительный процесс, микробная обсемененность составляла  $10^{5-6}$  (десятичный логарифм равен  $5,8 \pm 0,08$ ), в пятой подгруппе прогрессировала генерализация инфекции, сопровождавшаяся некрозом тканей.

На восьмые сутки в ранах у крыс четвертой подгруппы количество гноя и некротических масс несколько уменьшилось, хотя края оставались инфильтрированными, воспалительная реакция в ране сохранялась, среда была кислой (рис. 3).

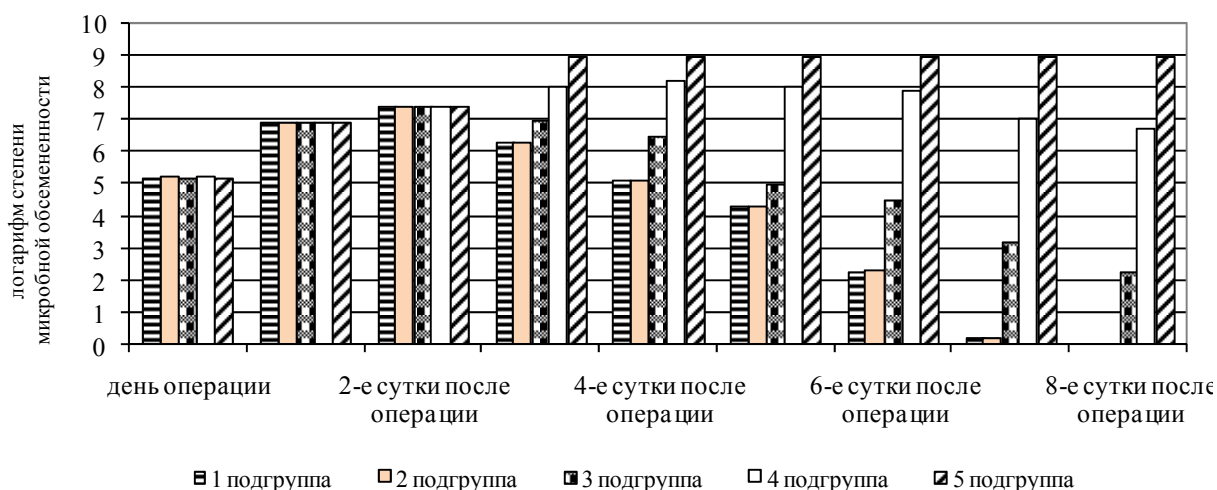


Рис. 3. Степень микробной обсемененности ран животных, инфицированных *S. aureus*.

Несколько отличалось течение раневого процесса у животных, раны которых были контаминированы *E. coli*.



В первых двух подгруппах отмечено незначительное снижение выраженности воспалительной реакции через двое суток от начала лечения. До этого времени микробная обсемененность ран составляла  $10^6-10^7$  (десятичный логарифм равен  $6,3 \pm 0,14$ ). Края ран были отечны, гиперемизированы, раневое отделяемое обильное, гнойное, имело резкий запах. В третьей подгруппе микробная обсемененность составила  $10^7$ .

В четвертой и пятой подгруппах микробная обсемененность составляла  $10^9$ , рН среды раневого содержимого был равен 3,5. Края ран имели сильную отечность, вокруг ран прослеживались участки некроза.

После третьих суток лечения наблюдалось незначительное уменьшение гиперемии и отечности ран, микробная обсемененность составляла  $10^5-10^6$  (десятичный логарифм равен  $5,1 \pm 0,12$ ). В четвертой и пятой подгруппах животные были вялыми, мало подвижными. Раневое отделяемое приобрело грязно-серый оттенок, резкий неприятный запах, микробная обсемененность составляла  $10^9$ , рН среды имел выраженный сдвиг в кислую сторону. У 72% животных отмечена генерализация инфекции. При этом у них появилось обильное отделяемое из глаз и носа, нарастала одышка, ректальная температура достигала  $43^\circ\text{C}$ .

Пятые сутки лечения характеризовались интенсивным очищением ран в первой и второй подгруппах, в третьей этот процесс был несколько замедлен. Раневое отделяемое становилось скудным, исчезал резкий неприятный запах, микробная обсемененность составляла  $10^4-10^5$  (десятичный логарифм равен  $4,3 \pm 0,13$ ). В контрольной подгруппе происходила дальнейшая генерализация инфекции, отмечен полиморфизм микрофлоры (присоединение *P. vulgaris*).

На шестые сутки у животных первых двух подгрупп отмечен процесс выздоровления. Микробная обсемененность ран составляла  $10^2$  (десятичный логарифм равен  $2,3 \pm 0,09$ ). Полное заживление ран завершилось на восьмые сутки после операции (рис. 4).

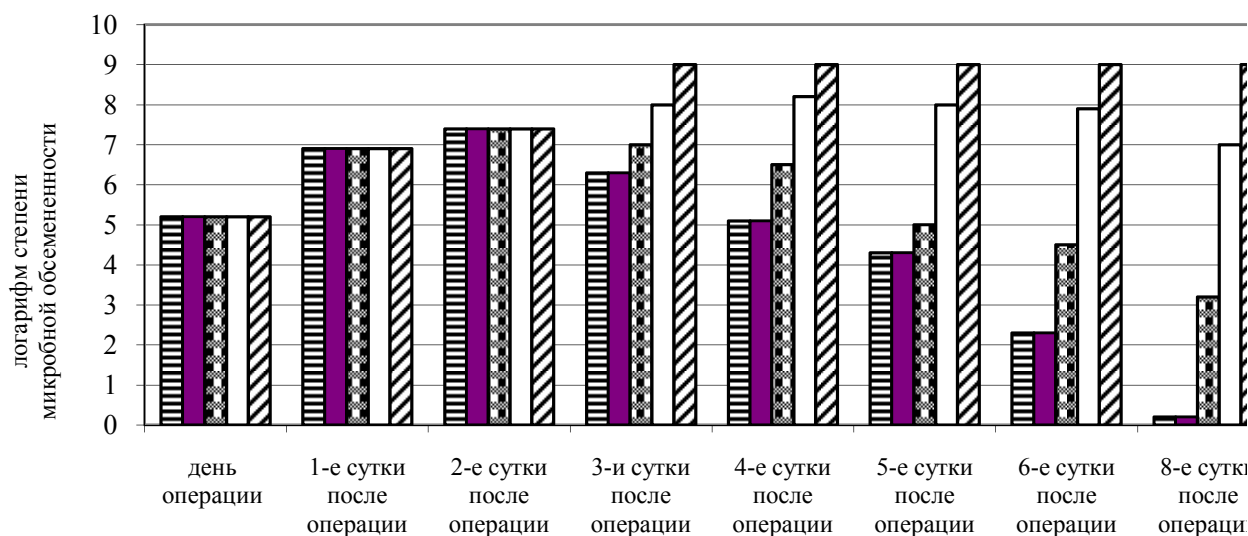


Рис. 4. Степень микробной обсемененности ран животных, инфицированных *E. coli*

Учитывая, что в патогенезе развития гнойных осложнений в хирургии значительное место отводится нарушениям в иммунной системе и неспецифической резистентности организма, желательным условием при разработке лекарственных средств выступает наличие иммунокорректирующего эффекта.

Сравнительная характеристика показателей иммунитета до и после инкубации клеток иммунной системы пациентов с раствором сангвиритрина, настоем из листьев маклей мелкоплодной и раствором полисахаридов этого растения приведена в таблице 1.

Таблица 1

**Показатели иммунитета до и после инкубации клеток иммунной системы пациентов с раствором сангвиритрина, настоем из листьев маклей мелкоплодной и раствором полисахаридов**

Показатель	Лимфоциты больных				Лимфоциты доноров
	До инкубации	После инкубации			
		с раствором сангвиритрина	с настоем маклей	с раствором полисахаридов	
лимфоциты	18,6±0,13			29,6±0,28	30,9±0,21
Т-общие	37,5±0,20 <sup>2,3,4,5</sup>	55,1±0,32 <sup>1,4,5</sup>	55,7±0,44 <sup>1,4,5</sup>	56,1±0,36 <sup>1,2,3,5</sup>	57,3±0,22 <sup>1,2,3,4</sup>
Т-активные	18,9±0,07 <sup>2,3,4,5</sup>	20,1±0,07 <sup>1,5</sup>	20,7±0,1 <sup>1,5</sup>	21±0,14 <sup>1,5</sup>	22,1±0,3 <sup>1,2,3,4</sup>
Т-хелперы	33,3±0,43 <sup>2,3,4,5</sup>	36,6±0,26 <sup>1,3,4,5</sup>	39,7±0,26 <sup>1,2,5</sup>	39,8±0,3 <sup>1,2,5</sup>	42±0,34 <sup>1,2,3,4</sup>
Т-супрессоры	23,9±0,66 <sup>2,3,4,5</sup>	19,7±0,11 <sup>1,3,4,5</sup>	17,1±0,14 <sup>1,2</sup>	17,2±0,02 <sup>1,2</sup>	16,6±0,19 <sup>1,2</sup>
ИРИ	1,39 <sup>2,3,4,5</sup>	1,85 <sup>1,3,4,5</sup>	2,32 <sup>1,2,5</sup>	2,31 <sup>1,2,5</sup>	2,53 <sup>1,2,3,4</sup>
В-лимфоциты	16,2±0,8 <sup>2,3,4,5</sup>	10,9±0,16 <sup>1,4,5</sup>	11,1±0,23 <sup>1,5</sup>	11,9±0,22 <sup>1,2,5</sup>	8,15±0,08 <sup>1,2,3,4</sup>

Примечание. <sup>1</sup> различия достоверности показателей до инкубации, <sup>2</sup> различия достоверности показателей после инкубации с раствором сангвиритрина, <sup>3</sup> различия достоверности показателей после инкубации с настоем маклей мелкоплодной, <sup>4</sup> различия достоверности показателей после инкубации с полисахаридами маклей мелкоплодной, <sup>5</sup> различия достоверности показателей у доноров.

Как видно из таблицы 1, при сопоставлении показателей иммунитета до и после инкубации клеток с извлечениями различных действующих веществ маклей мелкоплодной отмечается ее способность проявлять иммуномодулирующий эффект в отношении клеточного звена иммунитета.

При сопоставлении показателей иммунитета также отмечены некоторые различия в силе их иммуномодулирующего эффекта.

Так, после инкубации клеток с настоем маклей мелкоплодной отмечено достоверное повышение количества Т-лимфоцитов с 37,5±0,20% до 55,7±0,44% (p<0,001), но оно оказалось достоверно ниже, чем у доноров (57,3±0,22%) (p<0,001). При этом сила иммунокорректирующего эффекта у настоя достоверно не отличалась от раствора полисахаридов (56,1±0,36%) (p>0,05).

Под влиянием настоя отмечено повышение количества Т-хелперов с  $33,3 \pm 0,43\%$  до  $39,7 \pm 0,26\%$  после инкубации ( $p < 0,001$ ), что достоверно превосходило показатели после инкубации клеток с раствором сангвиритрина  $36,6 \pm 0,26\%$  ( $p < 0,001$ ), но не достоверно отличалось от показателя после инкубации с раствором полисахаридов ( $39,8 \pm 0,3\%$ ) ( $p > 0,05$ ).

Настой маклей мелкоплодной достоверно снижал количество Т-супрессоров до  $17,1 \pm 0,14\%$  по сравнению с первоначальным значением ( $23,9 \pm 0,66\%$ ) ( $p < 0,001$ ). При этом не отмечено достоверных различий в действии настоя и раствора полисахаридов ( $17,2 \pm 0,02\%$ ) ( $p > 0,05$ ), а раствор сангвиритрина был достоверно слабее настоя маклей –  $19,7 \pm 0,11\%$  и  $17,1 \pm 0,14\%$  соответственно ( $p < 0,001$ ).

В связи с различиями в хелперно-супрессорной системе получены различные показатели иммунорегуляторного индекса, который после инкубации с настоем маклей был равен 2,32, что не отличалось от показателя после инкубации с полисахаридами маклей (2,31), но было выше значений до инкубации (1,39) ( $p < 0,001$ ) и ниже, чем у доноров (2,53) ( $p < 0,001$ ).

Инкубация клеток с извлечениями маклей мелкоплодной оказала положительное влияние и на содержание В-лимфоцитов. После инкубации с настоем оно достоверно снизилось в сравнении с первоначальным значением ( $16,2 \pm 0,8\%$ ) до  $11,1 \pm 0,23\%$  ( $p < 0,001$ ), но было достоверно выше, чем у доноров ( $8,15 \pm 0,08\%$ ) ( $p < 0,001$ ). Нами не отмечено достоверных различий в иммунокорригирующей активности в отношении В-лимфоцитов у настоя маклей и раствора сангвиритрина ( $10,9 \pm 0,16\%$ ) ( $p > 0,05$ ) и у раствора полисахаридов ( $11,9 \pm 0,22\%$ ) ( $p > 0,05$ ).

Особенно выраженное влияние извлечений маклей мелкоплодной прослеживается в отношении системы неспецифической резистентности организма (табл. 2).

Таблица 2

**Фагоцитарная и метаболическая активность нейтрофилов больных до и после инкубации с раствором сангвиритрина, настоем из листьев маклей мелкоплодной и раствором полисахаридов**

Показатель	Лимфоциты больных				Лимфоциты доноров
	До инкубации	После инкубации			
		с раствором сангвиритрина	с настоем маклей	с раствором полисахаридов	
НСТсп	$26,7 \pm 0,22^{2,3,4,5}$	$12 \pm 0,18^{1,4}$	$12,4 \pm 0,13^{1,4,5}$	$13,3 \pm 0,22^{1,2,3,5}$	$11,5 \pm 0,36^{1,3,4}$
НСТст	$58,1 \pm 0,23^{2,3,4,5}$	$34,1 \pm 0,12^{1,4,5}$	$34,8 \pm 0,25^{1,4,5}$	$36,5 \pm 0,5^{1,2,3}$	$37,1 \pm 0,13^{1,2,3}$
ФЧ	$3,1 \pm 0,35^{2,3,4,5}$	$8,7 \pm 0,05^1$	$8,5 \pm 0,02^{1,4,5}$	$8,0 \pm 0,03^{1,2,5}$	$9,4 \pm 0,3^{1,3,4}$
ФИ	$40,1 \pm 0,1^{2,3,4,5}$	$72,9 \pm 0,03^{1,4,5}$	$72,7 \pm 0,2^{1,4,5}$	$71,3 \pm 0,23^{1,2,3,5}$	$82,1 \pm 0,01^{1,2,3,4}$

Примечание. <sup>1</sup> различия достоверности показателей до инкубации, <sup>2</sup> различия достоверности показателей после инкубации с раствором сангвиритрина, <sup>3</sup> различия достоверности показателей после инкубации с настоем маклей мелкоплодной, <sup>4</sup> различия достоверности показателей после инкубации с полисахаридами маклей мелкоплодной, <sup>5</sup> различия достоверности показателей у доноров.

Как видно из таблицы 2, под влиянием всех извлечений установлена тенденция к увеличению фагоцитарной и поглотительной функции нейтрофилов.

Фагоцитарный индекс после инкубации клеток с настоем увеличился с  $40,1 \pm 0,1\%$  до  $72,7 \pm 0,2\%$  ( $p < 0,001$ ), что достоверно не отличалось от фагоцитарного индекса, полученного после инкубации клеток с раствором сангвиритрина ( $72,9 \pm 0,03\%$ ) ( $p > 0,05$ ), и после инкубации с раствором полисахаридов –  $71,3 \pm 0,23$  ( $p > 0,05$ ). Фагоцитарное число под влиянием извлечений достоверно увеличивалось с  $3,1 \pm 0,35$  до  $8,7 \pm 0,05$  ( $p < 0,001$ ) – после инкубации с раствором сангвиритрина, до  $8,5 \pm 0,02$  (после инкубации с настоем) ( $p < 0,001$ ), до  $8,0 \pm 0,03$  (после инкубации с раствором полисахаридов), но было достоверно ниже, чем у доноров ( $9,4 \pm 0,3$ ) ( $p < 0,001$ ).

Что касается микробицидной активности нейтрофилов, то выявлена достоверность различий при сравнении данных НСТсп теста до инкубации –  $26,7 \pm 0,22\%$  и после инкубации с настоем маклей мелкоплодной ( $12,4 \pm 0,13\%$ ) ( $p < 0,001$ ), после инкубации с раствором сангвиритрина ( $12 \pm 0,18\%$ ) ( $p < 0,001$ ), после инкубации с раствором полисахаридов ( $13,3 \pm 0,22\%$ ) ( $p < 0,001$ ), что приближалось к показателям у доноров  $11,5 \pm 0,36\%$  ( $p < 0,001$ ).

Характеризуя НСТст тест до и после инкубации, необходимо отметить супрессивный эффект маклей мелкоплодной в отношении его показателей. Если до инкубации значение НСТст было равно  $58,1 \pm 0,23\%$ , то после инкубации с настоем оно снизилось до  $34,8 \pm 0,25\%$  ( $p < 0,001$ ), что достоверно не отличалось от показателей после инкубации с раствором сангвиритрина ( $34,1 \pm 0,12\%$ ) ( $p > 0,05$ ) и было ниже, чем после инкубации с раствором полисахаридов ( $36,5 \pm 0,5\%$ ) ( $p > 0,01$ ). Показатели НСТст, полученные после инкубации с настоем маклей мелкоплодной, были достоверно ниже, чем у доноров ( $37,1 \pm 0,13\%$ ) ( $p < 0,001$ ).

### **Заключение**

1) Алкалоиды маклей мелкоплодной (сангвинарин и хелеритрин) и настой листьев маклей мелкоплодной, проявляют антимикробный эффект *in vitro* и *in vivo* в отношении исследованной грамположительной (*S. aureus*, *B. subtilis*) и грамотрицательной (*E. coli*, *P. aeruginosa*) микрофлоры. Антимикробная активность настоя из листьев маклей мелкоплодной достоверно не отличается от таковой у раствора сангвиритрина.

2) В отношении грамположительной микрофлоры антимикробный эффект маклей мелкоплодной достоверно выше, чем в отношении грамотрицательной.

3) Раствор фурацилина не проявляет антимикробной активности, достаточной для подавления раневой инфекции.

4) Благодаря выраженному антимикробному и иммуномодулирующему эффекту настоя из листьев маклей мелкоплодной может быть рекомендован для использования в I фазе раневой инфекции с целью ускорения процессов очищения ран от патогенной микрофлоры и созревания грануляционной ткани.

## *Литература*

1. Даценко, Б.М. Теория и тактика местного лечения гнойных ран / Б.М. Даценко. – Киев: Здоров'я, 1995. – 380 с.
2. Современные перевязочные средства для лечения ран во второй фазе раневого процесса: материалы Междунар. конф., Москва, 23-25 июня 2005 г. / под ред. С.В. Добыш [и др.]. – М. – 2005. – 115 с.
3. Мелехов, П.А. Тридцатилетний опыт применения первомура в хирургической практике по методу автора / П.А. Мелехов // Вестн. хир. – 2000. – Т. 159, №3. – С. 87–91.
4. Моргон, Д.А. Современные средства для лечения ран. Обзор [статьи из Великобритании] / Д.А. Моргон // Биосовместимость. – 1993. – Т. 1, №3. – С. 161–173.
5. Палкин, Н.Д. Гипохлорит натрия в профилактике гнойных осложнений послеоперационных ран / Н.Д. Палкин // Хир. – 2000. – №4. – С. 56–58.
6. Потий, В.В. Аппликации иммуномодуляторов в комплексном лечении гнойных ран мягких тканей / В.В. Потий // Клин. хир. – 2000. – №10. – С. 15–16.
7. Русаков, В.И. Некоторые общие проблемы хирургии / В.И. Русаков // Вестн. хир. им. И.И. Грекова. – 2000. – Т. 159, №4. – С. 99–101.
8. Белобородова, Н.В. Иммунологические аспекты послеоперационного сепсиса / Н.В. Белобородова, Е.Н. Бачинская // Анестезиол. и реаниматол. – 2000. – № 1. С. 59–66.
9. Винницкий, Л.И. Иммунная терапия сепсиса – миф или реальность / Л.И. Винницкий [и др.] // Анест. и реаним. – 1997. – № 3. – С. 89–97.
10. Егоров, В.А. Организационно-экономические исследования по обоснованию создания и внедрения в медицинскую практику новых отечественных фитопрепаратов антимикробного действия / В.А. Егоров, Л.В. Мошкова // Человек и лекарство: тез. докл. Рос. нац. конгр.. – М., 2004. – С. 562.
11. Чейшвили, А.М. Лечение гнойных долго незаживающих ран и язв препаратами дальневосточной пихты: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.27 / А.М. Чейшвили; Сиб. мед. акад. – Владивосток, 1996. – 25 с.
12. Абизов, Е.А. Сангвиритрин / Е.А. Абизов [и др.] // Медицинская помощь. – 2003. – № 4. – С. 41–46.
13. Быкова, О.А. Особенности акклиматизации многолетних интрадуктентов, накапливающих биологически активные вещества / О.А. Быкова. – Краснодар. – 1995. – С. 40–41.
14. Челомбитько, В.А. Фармакогностическое исследование маклейи (боккони) мелкоплодной *Macleaya microcarpa* (Maxim.) Fedde (*Vossonia microcarpa* Maxim.): автореф. дис. ... канд. фарм. наук / В.А. Челомбитько; Пягорск. фарм. акад. – Тарту, 1968. – 26 с.
15. Бортникова, Л.В. Сравнительное токсикологическое изучение лекарственных форм сангвиритрина, рекомендованных в педиатрии // Л.В. Бортникова, Л.В. Крепкова, А.А. Шкаренков // Человек и лекарство: тез. докл. Рос. нац. конгр.. – М., 2004. – С. 549.

16. Вичканова, С.А. Применение сангвиритрина для профилактики раневой инфекции у кардиохирургических больных / Н.И. Габриэлян, А.В. Чубарова, Н.М. Крутикова // Человек и лекарство: тез. докл. Рос. нац. конгр.. – М., 2004. – С. 221.
17. Крепкова, Л.В. Иммуностимулирующий эффект антимикробного фитопрепарата сангвиритрин / В.В. Бортникова, А.А. Шкаренков, Ю.Б. Кузнецов // Человек и лекарство: тез. докл. Рос. нац. конгр.. – М., 2004. – С. 580.
18. Быков, В.А. Биомедицинские технологии / В.А. Быков // Биомедицинские технологии: науч. тр. / Рос. науч.-иссл. центр; под ред. Л.Б. Реброва. – М., 2000. – Вып. 10. – С. 62–65.
19. Афиногенов, Г.Е. Антисептики в хирургии / Г.Е. Афиногенов. Л.: Медицина, 1987. – 144 с.
20. Лихачева, Н.П. Антимикробные шерстяные материалы как средство профилактики и лечения кожных заболеваний / Н.П. Лихачева [и др.] // Гигиена и санитария. – 1985. – №2. – С. 77–78.
21. Толстых, П.И. Новые перевязочные средства на основе природных и синтетических волокнистых материалов с ферментным и антимикробным действием / П.И. Толстых [и др.] // Эсперим. и клин. медицина. – 1990. – Т. 30. – №1. – С. 16–21.
22. Уманский, С.Ш. Бактерицидная активность различных тканей одежды и перевязочных материалов / С.Ш. Уманский // Гигиена и санитария. – 1982. – №1. – С. 87–88.
23. Хаджай, Я.И. К вопросу об активности и токсичности лейкопластыря бактерицидного / Я.И. Хаджай [и др.] // Фармация. – 1988. – №1. – С. 56–59.
24. Юшков, С.Ф. Профилактика послеоперационных инфекционных осложнений с помощью шовных материалов, содержащих гентамицин / С.Ф. Юшков [и др.] // Антибиотики и химиотерапия. – 1999. – Т. 36. – №5. – С. 14–16.
25. Бочкарева, Л.А. Изучение эффективности применения антимикробных тканей в химико-фармацевтическом производстве / Л.А. Бочкарева [и др.] // Химико-фармац. журн. – 1978. – Т. 12. – №11. – С. 100–104.
26. Kuznetsova, L.P. Effect of some isoquinoline alkaloids on enzymatic activity of acetylcholinesterase and monoamine oxidase / Kuznetsova, L.P. // Ukr Biokhim Zh. – 2005. – 77(2) – P. 147–53.
27. Косинец, А.Н. Профилактика и лечение гнойно-воспалительных осложнений при экстренных операциях на органах брюшной полости: автореф. дис. ... докт. мед. наук: 14.00.27 / А.Н. Косинец; Витебск. мед. ин-т. – М., 1994. – 35 с.
28. Руководство Антибактериальная терапия в гнойной хирургии / под ред. А.Н. Косинца. – Витебск, 2002. – С. 95.
29. Сачек, М.Г. Иммунологические аспекты хирургической инфекции / М.Г. Сачек, А.Н. Косинец, Г.П. Адаменко; Витебск, 1994. – 138 с.