

УДК

Л.В. Квашнина, В.П. Чернышов, И.М. Матвиенко, Т.Б. Игнатова, Д.В. Осипчук

Влияние лекарственного средства "Резистол®" на гуморальный и клеточный иммунитет детей с рекуррентными и острыми вирусными респираторными заболеваниями: результаты исследования

ГУ "Институт педиатрии, акушерства и гинекологии имени академика А.Н. Лукьяновой НАМН Украины", г. Киев

НК-лимфоциты (natural killers) являются основными эффекторами врожденного иммунитета в преодолении вирусных инфекций: они участвуют в иммунной защите, непосредственно элиминируют вирусинфицированные и злокачественно трансформированные клетки, активируют другие клетки иммунной системы благодаря секреции цитокинов. Стимуляция TLRs, в частности TLR3, которые экспрессируются почти на всех НК-лимфоцитах, активирует их, что и приводит к секреции цитокинов, ИФН- γ и повышению клеточного лизиса вирусинфицированных и опухолевых клеток. То есть распознавание вирусов через TLR3 помогает НК-клеткам играть фундаментальную роль в первой линии защиты организма против вирусных инфекций.

Результаты научно-исследовательской работы по изучению влияния лекарственного средства "Резистол®" на активность иммунной защиты у детей с ОРВИ и рекуррентными инфекциями верхних дыхательных путей продемонстрировали, что на фоне использования "Резистол®" достоверно возросло количество НК-клеток, которые могут непосредственно распознавать вирусные патогены ($p < 0,05$). В то же время в группе детей с ОРВИ, которым не применялось ЛС "Резистол®", не происходило достоверных изменений процентного содержания в периферической крови активированных НК-клеток. В группе детей с ОРВИ, у которых применялся ЛС "Резистол®", наблюдались достоверно более высокие абсолютные показатели лейкоцитов и лимфоцитов по сравнению с группой детей, у которых "Резистол®" не применялся ($p < 0,05$), тогда как в начале лечения и наблюдения данные показатели не имели статистических различий между группами ($p > 0,05$).

Ключевые слова: дети, гуморальный иммунитет, клеточный иммунитет, острая респираторная вирусная инфекция, рекуррентные инфекции, *Pelargonium Sidoides*, ЛС "Резистол®".

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на достаточное количество внедренных клинических протоколов и руководств, ситуация с инфекционной заболеваемостью детей в мире в последние годы не улучшается: инфекции дыхательных путей занимают третье место в структуре смертности во всех возрастных и гендерных группах, уступая только сердечно-сосудистым и цереброваскулярным заболеваниям, а в мире ежегодно тратится около 35 млн долларов на решение проблем, связанных с инфекциями дыхательных путей (госпитализация, смертность, инвалидизация) [3]. В Украине ежегодно острыми респираторными вирусными инфекциями (ОРВИ) болеет около 6 млн населения, и наибольшее количество заболевших составляют дети. По данным литературы, постоянные выделения из носовых ходов, длительный кашель, отсутствие эффекта от стандартной терапии встречаются у 25-40% детей дошкольного и младшего школьного возраста преимущественно в осенне-весенний период года [3] на фоне роста резистентности вирусов к определенным группам лекарственных средств (противовирусные препараты). Именно поэтому продолжаются поиски методов и лекарств, которые не только уменьшат тяжесть течения респираторных инфекций, но и позволят организму ребенка повысить сопротивляемость к возбудителям заболевания.

Одним из альтернативных медикаментов может быть растительный препарат, изготовленный из корня *Pelargonium Sidoides*. Это лекарственное средство (ЛС) растительного происхождения широко используется в Германии, Великобритании, Турции, Бразилии, странах Балтики для лечения острых

инфекций дыхательных путей [17] и с целью профилактики в группе детей с рекуррентными респираторными инфекциями.

Экстракт содержит первичные полифенолы (катехин и галлокатехин, продельфинидин), протеины, минералы, а также, в меньших концентрациях, производные 7-кумарина (включая умкалин) [17], которые отличаются по структуре от хорошо известного антикоагулянта кумарина, и никак не связаны с антикоагулянтной активностью или взаимодействием с варфарином [14]. За счет своих биологически активных компонентов экстракт *Pelargonium Sidoides* имеет мультифакторное действие, включающее противовирусное и умеренное антибактериальное действие [7,8,13,15,16]. Исследования *in vitro* продемонстрировали способность экстракта активировать противоопухолевый фактор (α -TNF), стимулировать продукцию β -интерферона и повышать активность натуральных клеток-киллеров (NK); под действием экстракта улучшался фагоцитоз и подавлялась адгезия возбудителя к клеткам эпителия.

Экстракт *Pelargonium Sidoides* также продемонстрировал клиническую эффективность в уменьшении тяжести и продолжительности течения инфекций верхних дыхательных путей (ВДП) - бронхит, риносинусит, тонзиллофарингит. Метаанализ 2008 года (Cochrane Review), который содержит результаты лечения 3800 пациентов в слепом плацебо-контролируемом РКИ и 5400 пациентов в неинтервенционном открытом исследовании (пациенты в возрасте от 1 года жизни), продемонстрировал эффективность и безопасность экстракта.

Исследования, проведенные сотрудниками ГУ "ИПАГ имени академика А.М. Лукьяновой НАМН Украины" [1], продемонстрировали высокую клиническую эффективность экстракта *Pelargonium Sidoides* (ЛС "Резистол®", капли оральные, производства ПАО "Галичфарм", Украина) в ведении детей с острыми бронхитами и рино-синуситами, а также высокую активность по повышению уровней IgA, который играет наибольшую роль в защите респираторного тракта и легких от проникновения возбудителей в ткани путем агглютинации микроорганизмов и нейтрализации токсинов, ингибирует связывание вирусов и бактерий с поверхностью слизистых оболочек и блокирует репликацию возбудителя [4,21,22] (табл. 1).

Таблица 1.

Концентрация иммунных факторов в слюне детей с острым респираторным заболеванием до и после приема ЛС "Резистол®" [1]

Иммунные факторы (г/л)	Группа детей (n=15)	До приема ЛС	После приема ЛС	Контрольные показатели
IgA		0,16±0,01**	0,40±0,02*	0,41±0,06
IgG		0,050±0,002	0,080±0,002*	0,070±0,016
IgA		0,05±0,01	0,07±0,02	0,05±0,01
Лизоцим		0,013±0,006	0,010±0,001	0,010±0,002

Примечание: * - разница достоверна между показателями до и после приема препарата ($p<0,05$); ** - разница достоверна между показателями по сравнению с контролем ($p<0,05$).

В целом исследование, проведенное в ГУ "ИПАГ имени академика А.Н. Лукьяновой НАМН Украины" [1], продемонстрировало, что ЛС "Резистол®" способствует не только регрессии клинической симптоматики, но и эрадикации патогенов, имеет выразительные иммуномодулирующие свойства и повышает неспецифическую резистентность организма. Также исследование доказало безопасность использования ЛС "Резистол®" у детей - в течение курса лечения не было зарегистрировано ни одного осложнения. Эти результаты полностью совпадают с результатами анализа безопасности использования экстракта *Pelargonium Sidoides* в странах Европы: за период 1994-2006 гг. было реализовано 304 млн ежедневных доз EPs 7630, а частота осложнений/побочных эффектов составила 0,53 случая на 1 000 000 ежедневных доз [18]. Это означает, что только 1 из 189 000 пациентов имел побочную реакцию/осложнения: 0,27/1000000 доз реакции гиперчувствительности, 0,13/1000000

расстройства желудочно-кишечного тракта, 0,05/1000000 кровотечение из десен или носовые кровотечения.

Полученные результаты подтвердили, что ЛС "Резистол®" можно использовать как с лечебной, так и с профилактической целью для стимуляции неспецифической резистентности организма у детей с рекуррентными респираторными инфекциями. Учитывая вышеизложенное и полученные результаты о наличии иммуномодулирующего влияния ЛС "Резистол®" [1,4, 7,13, 16, 21,22], возникла необходимость углубленного изучения его противовирусного эффекта через Toll-подобные рецепторы 3 (англ. Toll-like receptors).

Идея исследования

Toll-подобные рецепторы (TLRs) - это класс клеточных рецепторов с одним трансмембранным доменом, которые играют одну из ключевых ролей в естественном иммунитете: именно они распознают структуры микроорганизмов и активируют против них иммунный ответ. Всего известно 13 TLRs млекопитающих, обозначаемых аббревиатурами (TLR1 - TLR13), у человека существует 10 TLRs (TLR1 - TLR10) - именно они связывают различные лиганды и представлены в организме человека на различных типах клеток (моноциты, макрофаги, нейтрофилы, тучные клетки, эозинофилы и др.).

TLRs обеспечивают идентификацию патогена с последующим включением важных компонентов наследственного иммунитета, и играют решающую роль в ранней защите организма от чужеродных структур. Функционируя на внешней мембране клеток, TLRs имеют характерное свойство распознавать молекулярные структуры микроорганизмов (определенные бактериальные, вирусные или грибковые), которые получили название PAMP (pathogen-associated molecular patterns - "структуры, которые связаны с патогеном") [10].

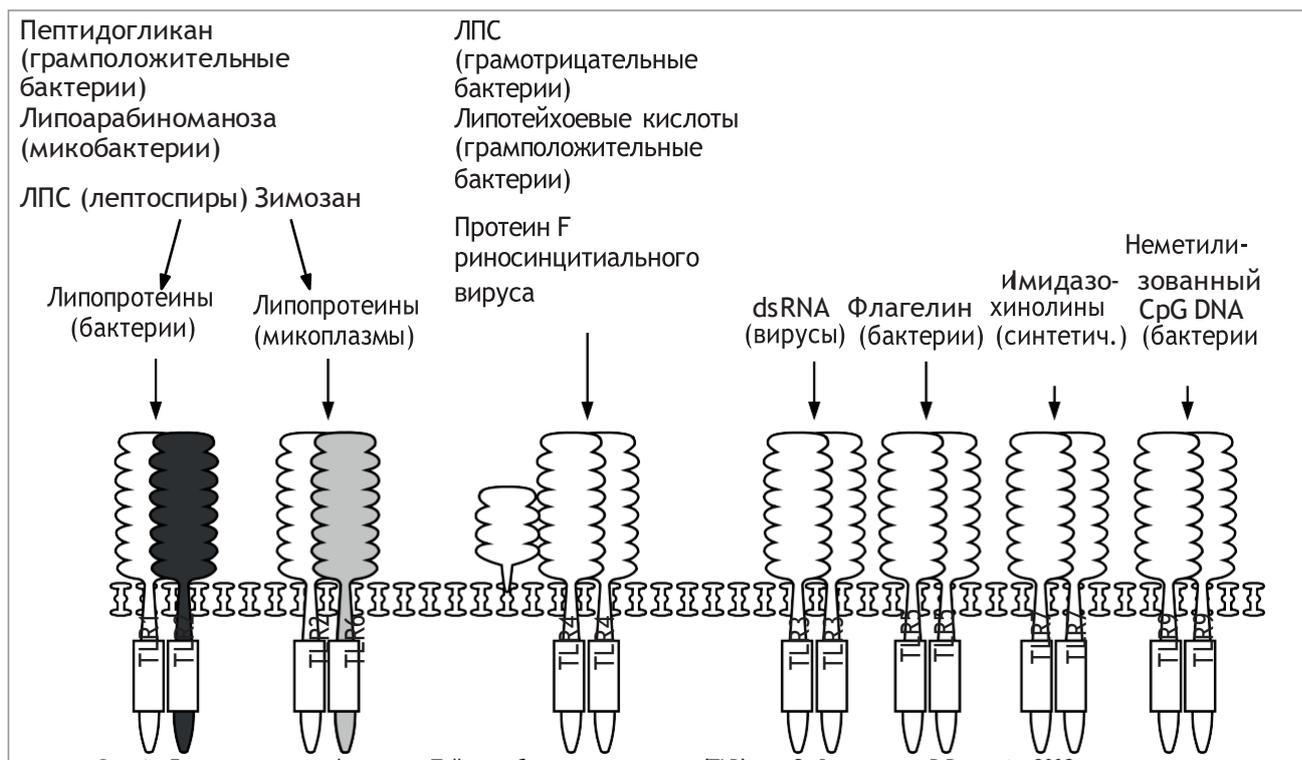


Рис. 1. Лигандная спецификация Toll-подобных рецепторов (TLR) по S. Janssens и R. Beyaert, 2003

Таблица 1

Распределение детей на группы исследования

1 группа: дети с ОРВИ		2 группа: дети с рекуррентными заболеваниями ВДП		3 группа: Здоровые дети
Группа 1а: без использования ЛС "Резистол®"	Группа 1б: с использованием ЛС "Резистол®"	Группа 2а: без использования ЛС "Резистол®"	Группа 2б: с использованием ЛС "Резистол®"	Контрольная группа
10 детей	10 детей	10 детей	10 детей	10 детей

С точки зрения иммунной защиты организма ребенка, определенный интерес вызывают TLR3 (рис. 1), которые "отвечают" именно за противовирусную защиту, имеют внутриклеточное расположение и действуют через дендритные клетки и β -лимфоциты. TLR3 распознает и связывается с двухцепочечной РНК (дцРНК), что является обязательным промежуточным продуктом репликации РНК-содержащих вирусов. Стимуляция TLRs активирует NK-лимфоциты, что приводит к секреции цитокинов, повышение клеточного лизиса вирусинфицированных и опухолевых клеток [6,11,19].

Известно, что NK-лимфоциты являются основными эффекторами врожденного иммунитета в преодолении вирусных инфекций. Они участвуют в иммунной защите, непосредственно элиминируют вирусинфицированные и злокачественно трансформированные клетки и активируют другие клетки иммунной системы благодаря секреции цитокинов [20]. На NK-лимфоцитах человека экспрессируются почти все TLR, в частности TLR3. Доказано, что стимуляция NK-лимфоцитов синтетическим аналогом дцРНК - poly I:C, который является лигандом TLR3, индуцирует секрецию ИФН- γ и ряда других провоспалительных цитокинов, которые являются важными регуляторами иммунного ответа. Также, в ответ на стимуляцию TLR3, NK-клетки повышают экспрессию маркера активации CD69 [5,12,23]. То есть распознавание вирусов через TLR3 помогает NK-клеткам играть фундаментальную роль в первой линии защиты организма против вирусных инфекций. Именно наличие этого эффекта при использовании ЛС "Резистол®" было интересно исследовать у детей как с острыми, так и рекуррентными респираторными заболеваниями.

Цель и задачи научно-исследовательской работы

Главной целью данной исследовательской работы было изучение влияния ЛС "Резистол®" на иммунитет детей с острыми и рекуррентными респираторными заболеваниями (стадия клинического благополучия) возрастной группы >1 год - 7 лет жизни. Во время проведения работы было запланировано:

- исследовать активационный ответ NK-клеток при стимуляции противовирусного рецептора TLR3 с помощью синтетического аналога дцРНК - poly I:C;
- исследовать процентное соотношение NK-клеток и Т-лимфоцитов;
- изучить уровни провоспалительных и противозапальных цитокинов (интерлейкин 6 и интерлейкин 8 - IL-6 и IL-8).

Дизайн и полнота исследования

В исследовании приняли участие 50 детей возрастной группы >1 года - 7 лет жизни, которые находились под наблюдением в отделении медицинских проблем здорового ребенка и премоурбидных состояний ГУ "ИПАГ имени академика А.Н. Лукьяновой НАМН Украины" и были разделены на три группы (табл. 1). Все дети полностью завершили исследование, то есть не было ни одного ребенка, который бы выбыл из исследования по каким-либо причинам. В соответствии с этическими требованиями, в 100% случаев обоими родителями были подписаны формы информированного согласия на участие ребенка в исследовании.

В группах детей, получавших ЛС "Резистол®" (20 детей) в течение 21 дня последовательно (как с лечебной, так и с профилактической целью), был соблюден следующий режим дозирования: 1-6 лет:

по 10 капель 3 раза в сутки; >6-7 лет: по 20 капель 3 раза в сутки. Во время исследования ни один ребенок не принимал ЛС, кроме симптоматических (деконгестанты, солевые растворы для промывания носовой полости, теплое питье), что полностью соответствует основным рекомендациям действующих клинических протоколов, утвержденных МЗ Украины.

Все дети 1 и 2 групп получили полный спектр клинических обследований - три последовательных клинических осмотра: в начале исследования, на 14-е сутки исследования, в конце исследования (21 день). Ни один исследуемый ребенок не нуждался во внеплановом клиническом осмотре в связи с ухудшением состояния или развитием побочных/нежелательных реакций.

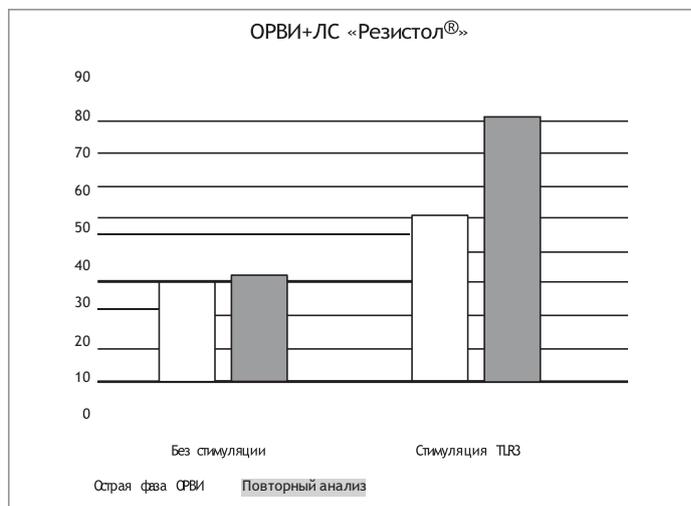
Всем детям с острыми и рекуррентными заболеваниями (40 детей) дважды проводился забор венозной крови в объеме от 500 мкл до 2 мл (подготовленным медицинским персоналом с соблюдением условий асептики) в начале и в конце (через 21 сутки) выполнения работы для изучения активационного ответа NK-клеток при стимуляции противовирусного рецептора TLR3 с помощью синтетического аналога дцРНК - poly I:C (Sigma-Aldrich, США) с соблюдением всех требований к хранению и использованию реактивов и оборудования (инкубатор Revco, Швейцария; проточный цитометр FACScan Becton Dickinson, США).

Обработка полученных результатов происходила с помощью программного обеспечения Cell Quest software (BD Biosciences, США). При проведении иммунологического исследования образцов венозной крови определялись:

- абсолютные и относительные показатели клеток крови (лейкоциты, лимфоциты, моноциты);
- уровни цитокинов (Interleukin-6 (IL-6); Interleukin-8 (IL-8));
- уровни активированных CD69+ NK-клеток:
 - CD69+ является маркером ранней активации NK-клеток и универсальным маркером для использования *in vitro* в лабораторно-функциональных тестах: он имеет низкую плотность экспрессии на мембране неактивированных клеток, быстро экспрессируется на стимулированных лимфоцитах, что обеспечивает непосредственное измерение ответа на стимул в эксперименте, уменьшая влияние любых факторов. Экспрессия CD69 в ответ на стимуляцию требует транскрипции новых молекул РНК и синтеза протеинов, является неотъемлемой частью активационного процесса и отражает функционально активную субпопуляцию NK-клеток [5,9];
- процентное содержание CD19+CD3-: В-лимфоциты, которые непосредственно отвечают за продукцию антител;
- процентное содержание CD8+: цитотоксические Т-лимфоциты, которые уничтожают инфицированные и злокачественно трансформированные клетки;
- процентное содержание CD4+: Т-лимфоциты, которые преимущественно выполняют иммунорегулирующую функцию, регулируют продукцию антител и участвуют в механизмах гиперчувствительности [21].

Результаты иммунологических исследований у детей с ОРВИ (1 группа детей)

В группе детей с ОРВИ, принимавших ЛС "Резистол®" (группа 1б), достоверно возросло ($p < 0,05$) количество NK-клеток, которые могут непосредственно распознавать вирусные патогены (рис. 2). Зато в группе детей с ОРВИ, которым не применялся ЛС "Резистол®" (группа 1а), не происходило достоверных изменений процентного содержания в периферической крови активированных NK-клеток.



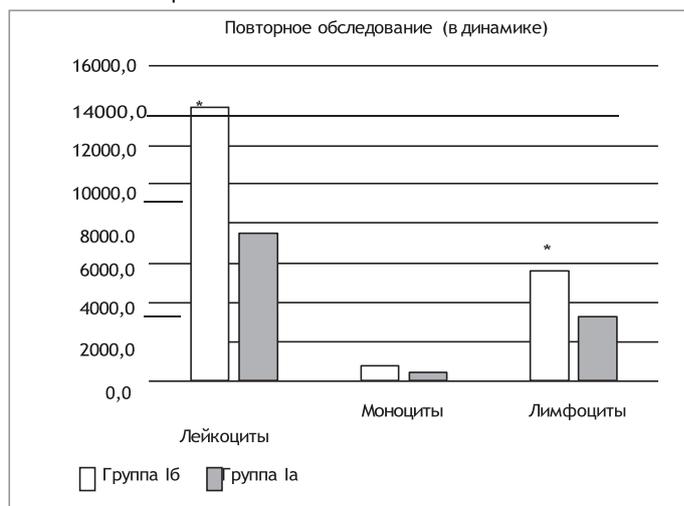
* $p < 0,05$ - по сравнению с острой фазой (начало заболевания).

Рис. 2. Изменение процентного содержания активированных CD69+ NK-клеток в группе детей с ОРВИ при применении ЛС "Резистол®": "без стимуляции" - это показатель, отражающий процентное содержание в периферической крови активированных NK-клеток (то есть экспрессирующих маркер активации CD69); "стимуляция" - показатель результата функционального теста, в основе которого лежит инкубация периферической крови с агонистом TLR-3 - poly I:C и последующая оценка процентного содержания активированных NK-клеток (CD69+). Именно этот показатель позволяет оценить функциональный противовирусный потенциал NK клеток, то есть способность этих клеток активироваться при взаимодействии через противовирусный рецептор TLR3

В группе детей с ОРВИ, которые применяли ЛС "Резистол®", при повторном обследовании наблюдали достоверно выше ($p < 0,05$) абсолютные показатели лейкоцитов и лимфоцитов по сравнению с группой детей, не принимавших ЛС (группа Ia), тогда как в начале лечения и наблюдения данные показатели не имели статистических отличий между группами ($p > 0,05$) (рис. 3, 4).

Анализ результатов исследования концентрации сывороточных цитокинов IL-6 и IL-8 в группах детей с ОРВИ (1a и 1б) не выявил достоверных различий выбранных показателей в динамике, как в группе Иб (рис. 5), так и в группе Ia (рис. 6).

Таким образом, можно утверждать, что основные изменения в группах детей с ОРВИ происходили в показателях клеточного иммунитета. У детей, которым проводилось лечение ОРВИ с использованием ЛС "Резистол®" капли оральные (ПАО "Галичфарм", Украина), достоверно увеличивалось абсолютное количество лейкоцитов за счет лимфоцитов - клеток, которые преимущественно вовлечены в элиминацию вирусных патогенов. Также в группе детей с ОРВИ, получавших ЛС "Резистол®", достоверно возрастало количество NK-клеток, способных активироваться при стимуляции TLR3 (то есть способны непосредственно распознать вирусные патогены), что можно отнести к действию активных веществ ЛС "Резистол®"



* $p < 0,05$ - по сравнению между группами 1a и 1б

Рис. 3. Абсолютные значения иммунных показателей крови при повторном обследовании (после 21-дневного курса лечения или наблюдения)

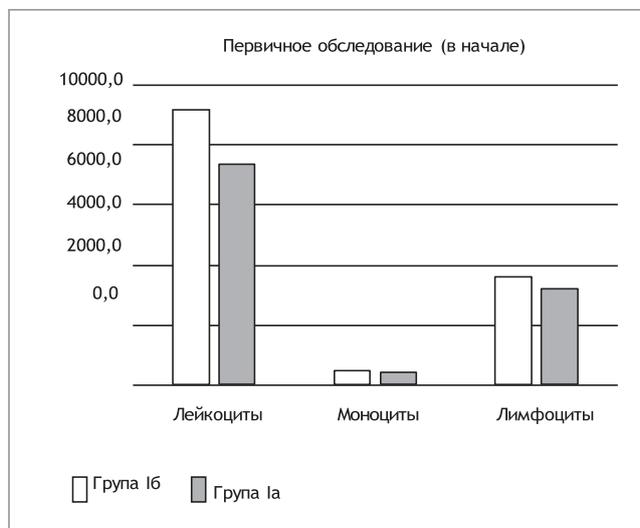


Рис. 4. Абсолютные значения иммунных показателей крови в начале исследования ($p > 0,05$ в сравнении между группами)

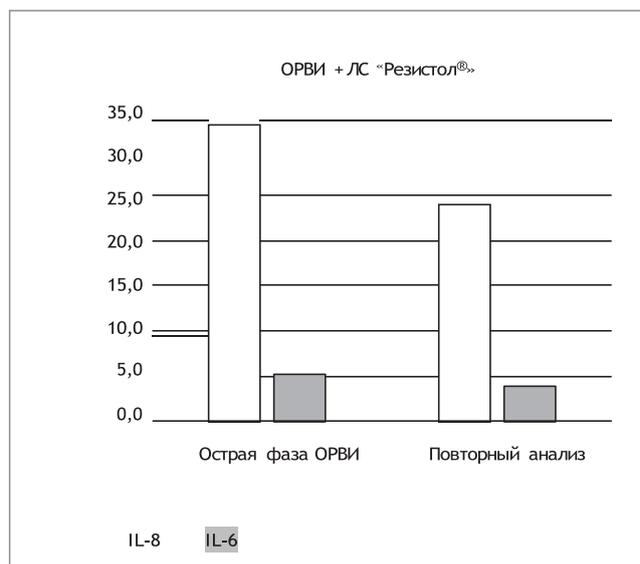


Рис. 5. Концентрации сывороточных цитокинов IL-8 и IL-6 в группе детей с ОРВИ, получавших ЛС "Резистол®" (группа 1б)

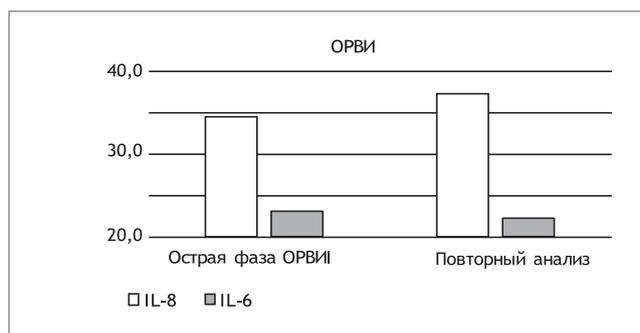


Рис. 6. Концентрации сывороточных цитокинов IL-8 и IL-6 в группе детей с ОРВИ, которые не получали ЛС "Резистол®" (группа 1a)

Применение ЛС "Резистол®" для профилактики рекуррентных инфекций

Респираторные инфекции в мире занимают первое место среди всех заболеваний, 85% этих инфекций приходится на детский возраст. К группе детей с рекуррентными инфекциями ВДП обычно относят детей, которые болеют повторные респираторные инфекции в течение одного года (6-12 эпизодов в год, по данным разных авторов и руководств). Интересно, что попытка найти причину частых заболеваний только в поле нарушений со стороны иммунной системы оказалась не совсем удачной. У детей с рекуррентными инфекциями ВДП действительно чаще отмечались сниженные показатели иммунитета, однако разница была несущественной - почти у половины детей с рекуррентными инфекциями иммунологические показатели крови были в пределах возрастной нормы или даже повышенными [2].

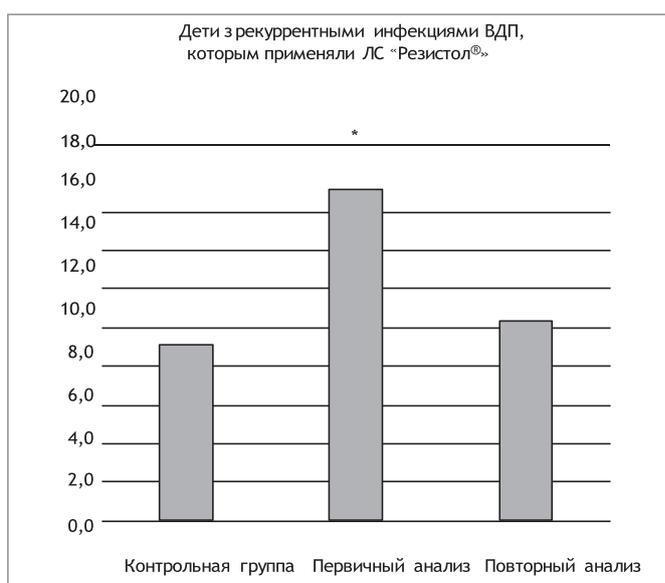
Как уже отмечалось, NK-лимфоциты являются основными эффекторами врожденного иммунитета в преодолении вирусных инфекций. Функциональный тест с оценкой экспрессии CD69 на NK-клетках отражает функционально активную субпопуляцию этих клеток и является актуальным для анализа не только при ОРВИ, но и в группах детей с рекуррентными инфекциями ВДП для выявления возможных нарушений, которые могут лежать в основе повышенной чувствительности к возбудителям респираторных инфекций.

Учитывая литературные данные об отсутствии существенных различий в иммунологических показателях между здоровыми детьми и детьми с рекуррентными инфекциями ВДП, в качестве дополнительного контроля также исследовали функциональное состояние звена NK-клеток в группе здоровых детей для дальнейшего анализа и сравнения этого параметра с группами детей с рекуррентными инфекциями ВДП.

Сравнительный анализ иммунологических исследований показал, что в группе детей с рекуррентными инфекциями ВДП, которым применяли ЛС "Резистол®" (группа 2б), процентное содержание NK-клеток было достоверно выше ($p < 0,05$) при первичном анализе по сравнению с контрольной группой (группа 3) (рис. 7).

В то же время процент NK-клеток с активационным фенотипом был достоверно сниженным ($p < 0,05$) при сравнении с контрольной группой (рис. 8), как при первичном, так и при повторном анализе. Такие данные могут быть проявлением компенсаторного механизма сниженной функциональности NK-клеток за счет роста их количественного показателя, который частично корректируется после применения ЛС "Резистол®" (рис. 7, 8) - прослеживается тенденция к снижению количественного показателя NK-клеток при одновременном росте процента клеток с активационным фенотипом без стимуляции и достоверного роста процентного содержания NK-клеток, способных активироваться при стимулировании TLR3, по сравнению с контролем (группа 3) (рис. 8).

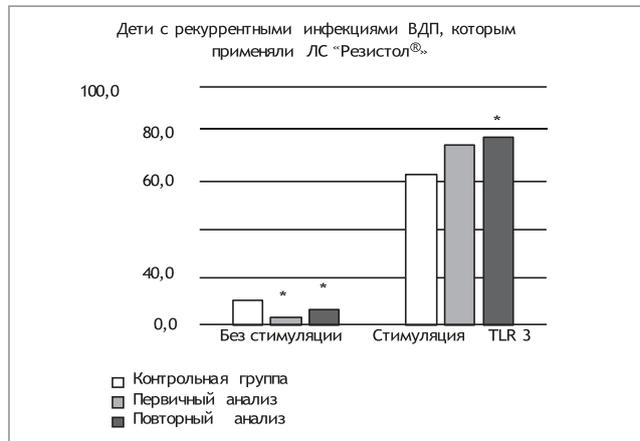
Для более детального понимания иммунологических процессов, которые происходили в группах, был проведен анализ иммунологических показателей в динамике. Исследования показали, что в группе детей с рекуррентными инфекциями ВДП, в которой с целью профилактики применяли ЛС "Резистол®" (группа 2б), основные иммунные показатели оставались без достоверных изменений (рис. 9).



* $p < 0,05$ - по сравнению с контрольной группой

Рис. 7. Показатели процентного содержания NK-клеток (в динамике) у детей с рекуррентными инфекциями ВДП, которым применяли ЛС

"Резистол®" (группа 26) по сравнению с контрольной группой (группа 3)



* $p < 0,05$ - по сравнению с аналогичным показателем в контрольной группе

Рис. 8. Изменения процентного содержания активированных CD69+ NK-клеток в группе детей с рекуррентными инфекциями ВДП, которым применяли ЛС "Резистол®" (группа 26), по сравнению с контрольной группой (группа 3)

Однако, в этой группе возрастало процентное содержание активированных NK-клеток (CD69+) после применения ЛС "Резистол®" (рис. 8).

В группе детей с рекуррентными инфекциями ВДП, которым не назначали профилактически Резистол®, исследование выявило динамику снижения процента NK-клеток по сравнению с контрольной группой здоровых детей (группа 3) (рис. 10) (разница не достоверна, $p > 0,05$).

Однако, в отличие от группы детей, которым назначали с профилактической целью Резистол® (группа 26), в данной группе (группа 2а) наблюдалось достоверное снижение ($p < 0,05$) процентного содержания NK-клеток с активационным фенотипом и снижение процента NK-клеток, способных активироваться при стимуляции TLR3 (рис. 11).

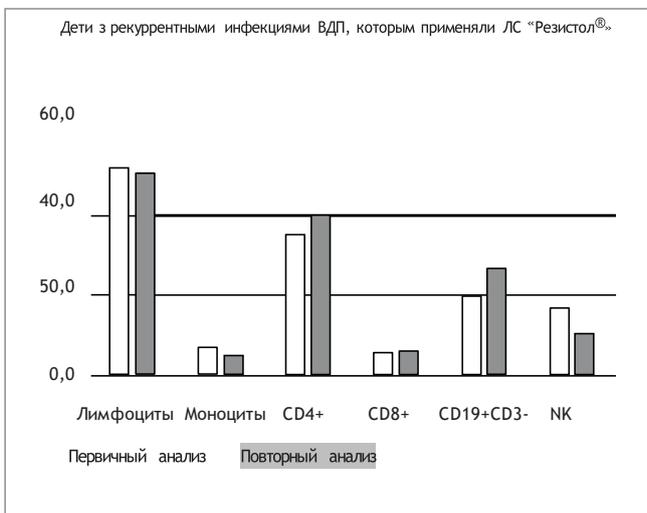


Рис. 9. Изменения иммунологических показателей в группе детей с рекуррентными инфекциями ВДП, которым применяли ЛС "Резистол®" (группа 26) с профилактической целью

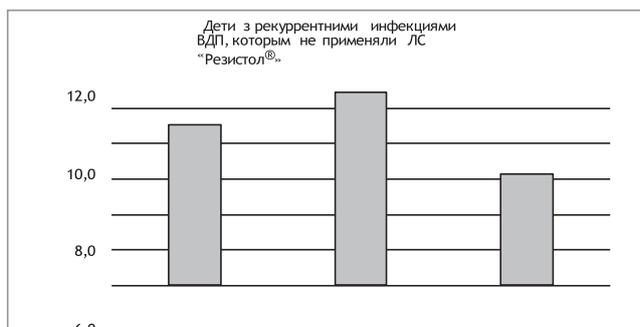
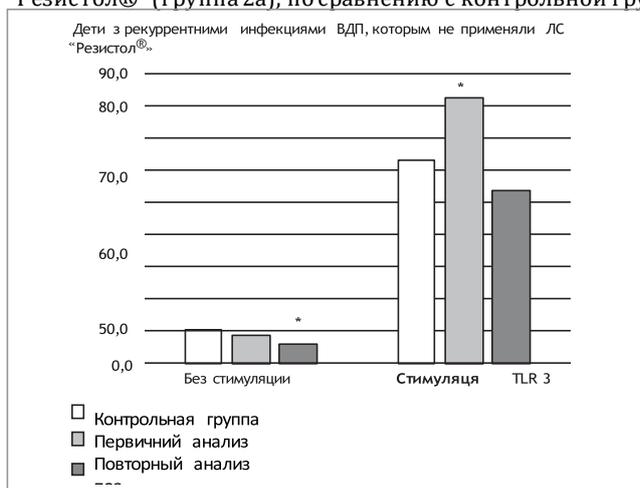


Рис. 10. Показатели процентного содержания NK-клеток (в динамике) у детей с рекуррентными инфекциями ВДП, которым не применяли ЛС "Резистол®" (группа 2а), по сравнению с контрольной группой (группа 3)



* $p < 0,05$ - по сравнению с аналогичным показателем в контрольной группе

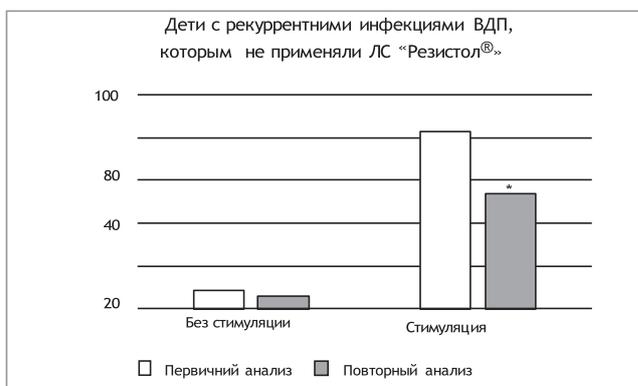
Рис. 11. Изменения процентного содержания активированных CD69+ NK-клеток при рекуррентных инфекциях ВДП в группе детей, которым не применяли ЛС "Резистол®" (группа 2а), по сравнению с контрольной группой (группа 3)

Анализ иммунологических показателей в динамике также выявил различия между группами. В группе детей, в которой не проводили профилактическое использование ЛС "Резистол®", достоверно снижалось как относительное содержание NK-клеток, так и процент этих клеток, способных активироваться при стимуляции противовирусным рецептором TLR3 (рис. 12, 13). Анализ иммунологических показателей в динамике также выявил различия между группами. В группе детей, в которой не проводили профилактическое использование ЛС "Резистол®", достоверно снижалось как относительное содержание NK-клеток, так и процент этих клеток, способных активироваться при стимуляции противовирусным рецептором TLR3 (рис. 12, 13). То есть у детей с рекуррентными инфекциями ВДП со временем снижался активационный потенциал противовирусного ответа. Такие изменения могут быть результатом функционального истощения иммунных клеток после перенесения инфекций, но одновременно такой сниженный активационный потенциал создает благоприятные условия для полных инфекций.



* $p < 0,05$ - по сравнению с первичным анализом

Рис. 12. Изменения иммунологических показателей в группе детей с рекуррентными инфекциями ВДП, которым не применяли ЛС "Резистол®" (группа 2а) с профилактической целью (группа 3)



* $p < 0,05$ - по сравнению с первичным анализом

Рис. 13. Изменение процентного содержания активированных CD69+ NK-клеток в группе детей с рекуррентными инфекциями ВДП, которым не применяли ЛС "Резистол®" (группа 2а) с профилактической целью

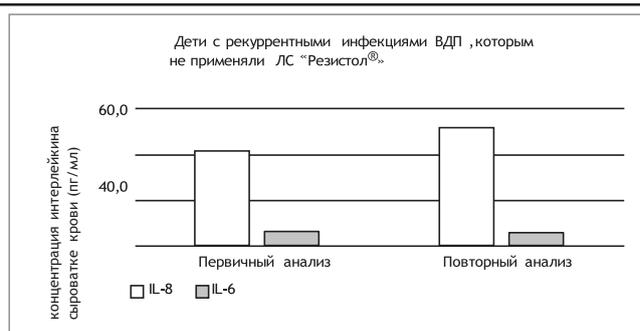


Рис.14 Концентрации сывороточных цитокинов IL-8 и IL-6 в группе детей с рекуррентными инфекциями ВДП, которым не применяли ЛС "Резистол®" (группа 2а)

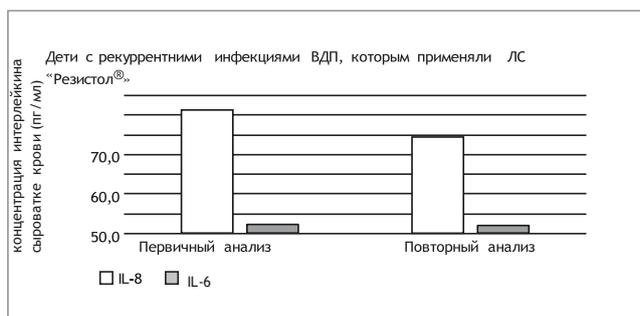


Рис.15. Концентрации сывороточных цитокинов IL-8 и IL-6 в группе детей с рекуррентными инфекциями ВДП, которым применяли ЛС "Резистол®" (группа 2б)

Как и в группах детей с ОРВИ, в группах детей с рекуррентными инфекциями ВДП сравнительный анализ концентрации сывороточных цитокинов не выявил достоверных изменений (рис. 14, 15).

Таким образом, у детей с рекуррентными инфекциями ВДП, которым назначался "Резистол®", процент NK-клеток, способных активироваться при стимуляции TLR-3, оставался постоянным, тогда как в группе детей, которые не получали препарат с профилактической целью, происходило снижение этого показателя и процентного содержания активированных NK-клеток.

Обсуждение результатов научно-исследовательской работы

Результаты научно-исследовательской работы по изучению состояния клеточного иммунитета у детей с ОРВИ и рекуррентными инфекциями ВДП, а также по изучению влияния ЛС "Резистол®", капли оральные (ПАО "Галичфарм", Украина) на активность иммунной защиты продемонстрировали, что существенные достоверные изменения в показателях клеточного

иммунитета происходили именно в группе детей, которые на момент проведения работы были больны ОРВИ: у детей, которым проводилось лечение ОРВИ с использованием ЛС "Резистол®", достоверно увеличивалось абсолютное количество лейкоцитов за счет лимфоцитов - клеток, которые преимущественно вовлечены в элиминацию вирусных патогенов; росло количество НК-клеток, способных активироваться при стимуляции TLR3 и которые могут непосредственно распознавать вирусные патогены. Сравнение результатов исследования клеточного иммунитета в группах детей с ОРВИ позволяет сделать вывод, что биологически активные составляющие ЛС "Резистол®" имеют иммуномодулирующие свойства для улучшения ответа клеточного иммунитета у детей с ОРВИ. Учитывая хорошую переносимость ЛС, отсутствие зарегистрированных в исследовании побочных реакций и осложнений, ЛС "Резистол®" можно считать действенным и безопасным иммуномодулирующим ЛС в условиях острого респираторного заболевания у детей.

Дети с рекуррентными инфекциями ВДП, у которых не использовался ЛС "Резистол®", демонстрировали достоверное снижение как относительного содержания НК-клеток, так и процента этих клеток, способных активироваться при стимуляции противовирусным рецептором TLR3. А вот в группе детей с рекуррентными инфекциями ВДП, которые получали 21-дневный курс ЛС "Резистол®", данное ЛС продемонстрировало способность поддерживать активационный потенциал НК-клеток, возможно, предупреждая таким образом функциональное истощение звена противовирусного иммунитета. Как было приведено выше, у детей с рекуррентными инфекциями ВДП зафиксировано снижение активационного потенциала противовирусного ответа, что может быть результатом функционального истощения иммунных клеток после перенесения инфекций. Но однозначным является то, что такой сниженный активационный потенциал противовирусного ответа создает благоприятные условия для развития повторных инфекций.

То есть наиболее активно свои иммуномодулирующие свойства и влияние на повышение способности "уничтожать" вирусы клеточным звеном иммунитета ЛС "Резистол®" продемонстрировал в условиях острого течения инфекционного заболевания. Детям с рекуррентными инфекциями ВДП 21-дневный курс ЛС "Резистол®" дает возможность поддержать активационный потенциал НК-клеток, вероятно, предупреждая таким образом функциональное истощение звена противовирусного иммунитета.

ЛИТЕРАТУРА

1. Квашнина ЛВ, Матвиенко ИН, Родионов ВП, Маковская ЮА, Игнатов ва ТБ. (2015). Применение лекарственного средства Резистолу детей с острыми и хроническими инфекциями дыхательных путей и носоглотки. Педиатрия. Восточная Европа. 3(11):2—15.
2. Чернишова ЛІ, Волоха АП. (2013). Дитяча імунологія. Київ: Медицина.
3. Bellomo R, Bagshaw SM. (2006). EvidenceBased medicine: classifying the evidence from clinical trials — the need to consider other dimensions. Crit Care. 10(5): 232.
4. Calvo M, Grob K, Bertoglio J et al. (1990). Secretory IgA deficiency in pediatric patients: clinical and laboratory followup. Allergol Immunol pathol (Madr.).18;3:149—153.
5. CD69 molecule (Homo sapiens (human)). (2006). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/969>.
6. Chew V, Tow C, Huang C et al. (2012). TollLike Receptor 3 Expressing Tumor Parenchyma and Infiltrating Natural Killer Cells in Hepatocellular Carcinoma Patients. J Natl Cancer Inst. 104:1796—1807.
7. Conrad A, Hansmann C, Engels I et al. (2007, March 5). Extract of Pelargonium sidoides (EPs® 7630) improves phagocytosis, oxidative burst, and intracellular killing of human peripheral blood phagocytes in vitro. Phytomedicine. 14;1:46—51.
8. Conrad A, Jung I, Tioua D et al. (2007). Extract of Pelargonium Sidoides (EPs7630) inhibits the interactions of group AStreptococci and host epithelia in vitro. Phytomedicine.14;VI:52—59.
9. Gonzales C, Williams C, Calderon V. et al. (2012). Antibacterial Role for Natural Killer Cells in Host Defense to Bacillus anthracis. Infect Immun. 80:234—242.
10. Gouloupoulou S, McCarthy C, Webb R. (2016). Tolllike Receptors in the Vascular System: Sensing the Dangers Within. Pharmacol Rev. 68:142—67.
11. Guillerey C, Chow M, Miles K et al. (2015). Tolllike receptor 3 regulates NK cell responses to cytokines and controls experimental metastasis. Oncoimmunology. 4:e1027468.
12. Guo Q, Zhang C. (2012). Critical role of Tolllike receptor signaling in NK cell activation. Chin. Sci. Bull. 57:3192.
13. Kayser O, Kolodziej H, Kiderlen AF. (2001). Immunomodulatory principles of Pelargonium Sidoides. Phytother Res. 15:122—126.
14. Koch E, Biber A. 2007 Treatment of rats with Pelargonium Sidoides extract EPs 7630 has no effect on blood coagulation parameters or on the pharmacokinetics of warfarin. Phytomedicine.14;VI:40—45.
15. Kolodziej H, Kayser O, Radtke OA, Kiderlen AF. (2003) Pharmacological profile of extracts of Pelargonium Sidoides and their constituents. Phytomedicine.10;VI:18—24.
16. Kolodziej H, Kiderlen AF. (2007). In vitro evaluation of antibacterial and immunoflammatory activities of Pelargonium reniforme, Pelargonium Sidoides and the related herbal drug preparation EPs 7630. Phytomedicine.14;VI:18—26.

17. Kolodziej H, Schulz V. (2003). EPs 7630: From traditional application to modern phytodrug. *Deutsche Apotheker Zeitung*. 143:55—64.
18. Lizogub VG, Riley DS, Heger M. (2007). Efficacy of a *Pelargonium sidoides* preparation in patients with the common cold: A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Explore*.3:573—584.
19. Moore T, Kumm P, Brown D, Petro T. (2014). Interferon Response Factor 3 is crucial to polyI:C induced NK cell activity and control of B16 melanoma growth. *Cancer Lett*. 346:122—128.
20. Raulet D. (2006). Missing self recognition and self tolerance of natural killer (NK) cells. *Semin Immunol*. 18:145—150.
21. Wines BD, Hogarth PM. (2006). IgA receptors in health and disease. *Tissue Antigens*. 68;2:103—114.
22. Woof JM, Kerr MA. (2006). The function of immunoglobulin A in immunity. *J. Pathol*. 208;2:270—282.
23. Wulff S, Pries R, Wollenberg B. (2010). Cytokine release of human NK cells solely triggered with Poly I:C Cell Immunol.263(2):135—7.

Сведения об авторах:

Квашнина Людмила Викторовна — д.мед.н., проф., руководитель отделения медицинских проблем здорового ребенка и прерорбидных состояний ГУ «ИПАГ имени академика Е.Н. Лукьяновой НАМН Украины». Адрес: г. Киев, ул. Платона Майбороды, 8.

Чернышев Виктор Павлович — д.мед.н., проф., руководитель Лаборатории иммунологии с научной группой вирусологии ГУ «ИПАГ имени академика Е.Н. Лукьяновой НАМН Украины». Адрес: г. Киев, ул. Платона Майбороды, 8.

Матвиенко Ирина Николаевна — к.мед.н., с.н.с. детского консультативно-диагностического центра ГУ «ИПАГ имени академика Е.Н. Лукьяновой НАМН Украины». Адрес: г. Киев, ул. Платона Майбороды, 8. Игнатова Татьяна Борисовна — к.мед.н., с.н.с. детского консультативно-диагностического центра

ГУ «ИПАГ имени академика Е.Н. Лукьяновой НАМН Украины». Адрес: г. Киев, ул. Платона Майбороды, 8.

Осипчук Дарья Витальевна — к.б.н., ГУ «ИПАГ имени академика Е.Н. Лукьяновой НАМН Украины». Адрес: г. Киев, ул. Платона Майбороды, 8. Статья поступила в редакцию