



УДК 616.2-008.87:615.235

МЕЛЬНИКОВ О.Ф., ПРИЛУЦКАЯ А.Д., ТИМЧЕНКО М.Д.

ГУ «Институт отоларингологии им. проф. А.И. Коломийченко НАМН Украины», г. Киев, Украина

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ВЛИЯНИЯ ПРЕПАРАТА СЕПТОЛЕТЕ НА ФАКТОРЫ ИММУНИТЕТА РОТОВОЙ ПОЛОСТИ

Резюме. Экспериментальные исследования *in vitro* проведены в 120 пробах в условиях контакта препарата Септолете (с различными вкусами, включая Септолете плюс в виде пастилок и спрея) с нестимулированным ротоглоточным секретом и сывороткой крови здоровых доноров. Исследования *in vivo* проведены у пяти здоровых доноров по определению гуморальных факторов защиты ротоглоточного секрета до и через один и два часа после рассасывания в ротовой полости пастилки препарата Септолете плюс. Результаты исследований позволяют сделать вывод о том, что препарат Септолете плюс производства фирмы KRKA d.d., Словения, не влияет в условиях контакта *in vitro* на содержание секреторного IgA, других классов сывороточных иммуноглобулинов и не изменяет концентрации интерферонов α и γ . При исследовании *in vivo* было установлено, что через час после рассасывания пастилки Септолете плюс отмечалось увеличение содержания секреторной формы IgA.

Ключевые слова: экспериментальные исследования, ротоглоточный секрет, факторы иммунитета ротовой полости, Септолете.

Введение

В настоящее время в мире для лечения инфекционно-воспалительных заболеваний верхних дыхательных путей применяется значительное количество различных по своей химической структуре антисептиков. Механизмы действия многих из них связаны с прямым влиянием на структуры инфекта, и очень мало исследований по действию препаратов на клетки организма и гуморальные факторы секретов, в которых происходит взаимодействие всех компонентов. Объектом экспериментальных исследований был препарат Септолете (в том числе Септолете плюс) производства фирмы KRKA d.d., Словения, — пастилки для рассасывания с различными вкусами. Пастилка содержит цетилпиридиния хлорид, который является антисептиком из группы четвертичных соединений аммония. Он действует в качестве катионного детергента. Четвертичные соединения аммония связываются с цитоплазматической мембраной микробов, в результате чего цитоплазматическая мембрана становится проницаемой для низкомолекулярных веществ, особенно ионов калия. Четвертичные соединения аммония проникают в клетку, вызывают терминальное нарушение клеточной функции и гибель клетки. Цетилпиридиния хлорид обладает противомикробным, вирулицидным и противогрибковым действием. Бен-

зокаин (в составе Септолете плюс) блокирует передачу нервных импульсов, в том числе передачу импульсов по афферентным нервным волокнам, вследствие чего устраняется ощущение боли. Передача импульсов блокируется вследствие уменьшения проницаемости клеточной мембраны нервных волокон для ионов натрия. Септолете плюс применяют для профилактики и лечения инфекционно-воспалительных заболеваний полости рта и глотки: парадонтита, гингивита, стоматита, фарингита, ларингита и других. Вместе с тем практически не изучено влияние препарата на защитные факторы ротоглоточного секрета (РГС), в котором происходит рассасывание пастилок и выход препарата в жидкую фазу ротоглоточного секрета, а также его влияние на иммунные структуры ротоглотки, такие как небные миндалины.

Материал и методы исследования

Данное исследование проводилось как открытое несравнительное контролируемое и выполнялось в соответствии с требованиями, предъявляемыми к исследованиям *in vitro*. В связи с тем, что рассасывание пастилки препарата Септолете плюс происходит в среде ротоглоточного секрета, представлялось целесообразным выяснить, как препарат влияет на структуры защитных белков и противовирусных ци-

токинов при их контакте с препаратом в условиях пробирки, а также в условиях *in vivo* до и после воздействия препаратом Септолете спрей. Всего проведено 100 проб в условиях *in vitro* и 15 проб (5 человек) в условиях *in vivo*.

Определение уровня секреторного IgA, интерферонов, цитокина проведено с использованием метода иммуноферментного анализа (ИФА) и наборов реактивов фирм «Хема-Медика» (Россия), «Цитокин» (Россия), иммуноферментного анализатора LabLine (Австрия). Ротоглоточный секрет получали у здоровых доноров натошак без стимуляции слюноотделения и проведения гигиены полости рта, как это предписано в методических рекомендациях Института отоларингологии Национальной академии медицинских наук Украины.

Определение влияния препарата Септолете со вкусами лимона и ментола проводили следующим образом. Таблетку препарата измельчали в фарфоровой ступке и взвешивали в 5 мл раствора Хенкса, затем фильтровали через стерилизующий фильтр типа Millipore и использовали в работе. 0,15 мл препарата смешивали с 0,15 мл жидкой фазы центрифугированного ротоглоточного секрета и инкубировали при 37 °С в течение часа. В контроле вместо препарата использовали раствор Хенкса в аналогичном количестве. После инкубации в смеси определяли содержание секреторного IgA (sIgA), интерферонов α и γ . Аналогичным образом проводили исследование влияния препарата на изменение концентрации сывороточных иммуноглобулинов классов М, G, А. В этом случае использовали сыворотки крови здоровых доноров (пять человек). При исследовании влияния на изменение концентрации препарата Септолете плюс в виде спрея исходную для фильтрации смесь готовили путем впрыска препарата в 5 мл раствора Хенкса и затем манипуляции повторяли как для пастилок.

Исследования *in vivo* состояли в следующем. Пациентам (пять человек) предлагалось собрать слюну натошак без стимуляции ее выделения, затем предлагалась пастилка Септолете плюс, повторные заборы слюны осуществляли через один и два часа после приема пастилки. За этот период пациенты не принимали пищи и воды. После этого в слюне определяли содержание секреторного IgA, фактора некроза опухоли (ФНО- α) и α -интерферона методом ИФА.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием параметрического критерия t Стью-

дента и непараметрического U Вилкоксона — Манна — Уитни (Гублер Е.В., 1978).

Результаты исследований и их обсуждение

Было установлено, что концентрация иммуноглобулинов, как сывороточных классов М, G, А, так и sIgA РГС, существенно не изменялась при контакте с препаратом Септолете с любым вкусом, а также при использовании препарата Септолете плюс спрей (табл. 1).

При исследовании уровня интерферонов до и после контакта с препаратом Септолете с различными вкусами также не обнаружено негативного влияния препарата на концентрацию интерферонов α и γ в ротоглоточном секрете в условиях проведения контакта *in vitro* (рис. 1, 2).

Исследования, проведенные *in vivo*, по определению содержания секреторного IgA и ФНО- α до и после рассасывания таблетки показали, что концентрация секреторного IgA в РГС имела тенденцию к увеличению ($p = 0,05$) через один час после приема пастилки и возвращалась к исходному уровню к окончанию второго часа (рис. 3). Тенденция к снижению провоспалительного цитокина ФНО- α также была наиболее выражена в первый час после приема пастилки.

Полученные результаты в отношении возможного деструктивного действия компонентов препарата Септолете с различными вкусами и в виде спрея на структуры иммуноглобулинов и интерферонов

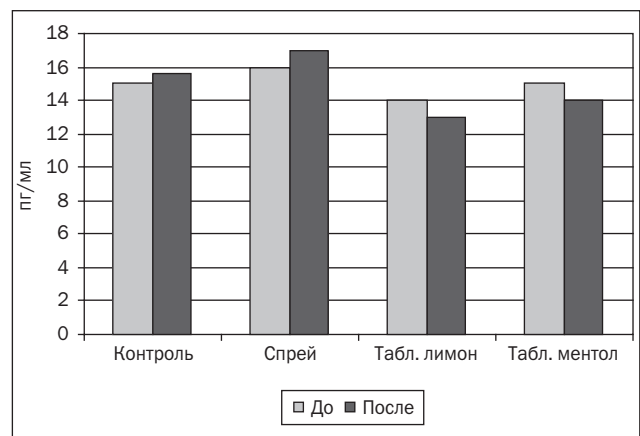


Рисунок 1. Концентрации α -интерферона в РГС при контакте *in vitro* с различными вариантами препарата Септолете

Таблица 1. Концентрация иммуноглобулинов в культуральной жидкости при контакте с растворами препаратов Септолете (1 : 1)* ($M \pm m$)

Объект Ig	N	Концентрация (г/л)			
		Контроль	Септолете спрей	Таблетки лимон	Таблетки ментол
sIgA (PC)	5	0,27 ± 0,08	0,26 ± 0,10	0,26 ± 0,07	0,27 ± 0,09
IgA	5	1,04 ± 0,10	0,93 ± 0,20	1,02 ± 0,20	1,12 ± 0,10
IgM	5	0,80 ± 0,10	0,83 ± 0,10	0,80 ± 0,10	0,91 ± 0,10
IgG	5	4,32 ± 0,35	6,36 ± 0,46	5,66 ± 0,40	5,72 ± 0,34

Примечание: * — $p > 0,2$.

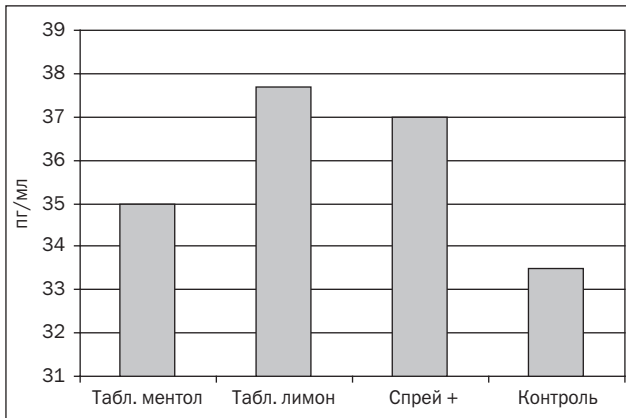


Рисунок 2. Концентрации γ -интерферона в РГС при контакте *in vitro* с различными вариантами препарата Септолете

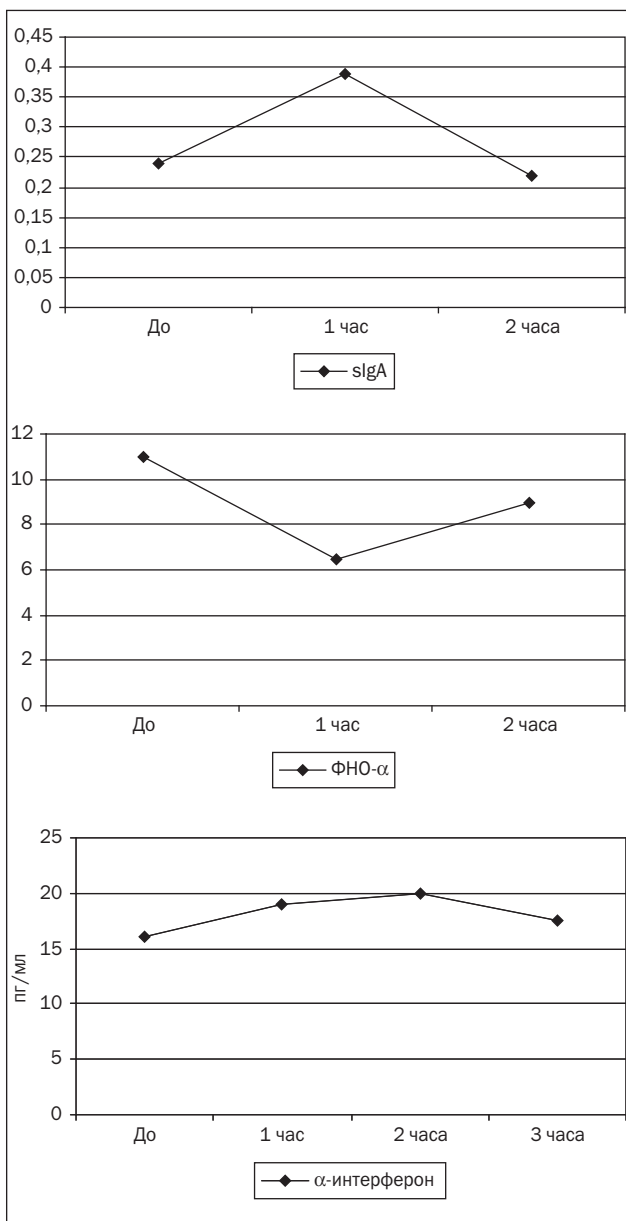


Рисунок 3. Содержание sIgA, ФНО- α и α -интерферона в РГС до и в динамике после приема Септолете плюс

свидетельствуют о том, что структура иммуноглобулинов и интерферонов при часовом контакте с препаратом *in vitro* существенно не изменяется, о чем свидетельствует сохранение концентрации исследованных защитных факторов в смеси. Учитывая современные взгляды на роль защитных факторов в местном иммунитете (Демьянов А.В. и соавт., 2003; Мельников О.Ф. и соавт., 2013; Tjabringa и соавт., 2005), можно утверждать, что препарат Септолете не влияет на структуру иммуноглобулинов и интерферонов. Повышение уровня секреторного IgA в РГС через час после рассасывания таблетки в ротовой полости может косвенно свидетельствовать об активном воздействии препарата на микробные клетки, выделяющие гидролизаты, которые могут изменять структуру sIgA (Суворовцев В.П. и соавт., 2001), что косвенно подтверждает снижение уровня провоспалительного цитокина интерлейкина-1. Концентрация α -интерферона существенно не изменялась в течение трех часов наблюдений.

Выводы

Препарат Септолете в виде таблеток с различными вкусами (в том числе Септолете плюс) не влияет существенно на структуру иммуноглобулинов и интерферонов в условиях контакта с ними *in vitro*.

В условиях *in vivo* препарат Септолете плюс в виде спрея повышает кратковременно содержание секреторного IgA в ротоглотке.

Список литературы

1. Гублер Е.В. Математические методы анализа и распознавания патологических процессов / Е.В. Гублер. — Ленинград: Медицина, 1978. — 242 с.
2. Демьянов А.В. Диагностическая ценность исследованного уровня цитокинов в клинической практике / А.В. Демьянов, А.Ю. Котов, А.Г. Симбирцев // Цитокины и воспаление. — 2003. — № 3. — С. 20-28.
3. Дослідження ротоглоткового секрету у хворих на хронічні запальні та алергічні захворювання верхніх дихальних шляхів: метод. рек. / Д.І. Заболотний, О.Ф. Мельников, С.В. Тимченко, Д.Д. Заболотна. — К., 2008. — 28 с.
4. Кайдашев І.П. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині / І.П. Кайдашев. — Полтава: Полімет, 2003. — 320 с.
5. Мельников О.Ф. Сравнительная оценка радиоизотопного и спектрофотометрического методов регистрации цитолиза / О.Ф. Мельников, Т.А. Заяц // Лаб. диагностика. — 1999. — № 2. — С. 32-34.
6. Мельников О.Ф. Иммунологические аспекты генеза хронического тонзиллита и регуляции функциональной активности небных миндалин: Дис... д-ра мед. наук: 14.00.16 / О.Ф. Мельников. — К.: Институт физиологии АН УССР, 1981. — 294 с.
7. Сравнительное изучение содержания секреторного иммуноглобулина А в ротоглоточном секрете и сыворотке крови людей, проведенное различными методами и реактивами / О.Ф. Мельников, М.Д. Тимченко, Д.Д. Заболотная [и др.] // Имунологія та алергологія. — 2013. — № 2. — С. 88-91.
8. Суворовцев В.И. Бактериальные IgA1 протеазы: получение, свойства, перспективы применения / В.И. Суворовцев, Т.В. Федоров, В.В. Гусев // Вестник РАМН. — 2001. — № 12. — С. 39-42.
9. Host defense effector molecules in mucosal secretions / Tjabringa G., Vos J.B., Olthuis D. [et al.] // Fems. Immunology & Med. Microbiology. — 2005. — Vol. 45. — P. 151-158.

Впервые опубликовано в журнале «Современная педиатрия», 2015, № 7(71) ■

Мельников О.Ф., Прилуцька А.Д., Тимченко М.Д.
ДУ «Інститут отоларингології ім. проф. О.С. Коломійченка
НАМН України», м. Київ, Україна

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ПРЕПАРАТУ СЕПТОЛЕТЕ НА ФАКТОРИ ІМУНІТЕТУ РОТОВОЇ ПОРОЖНИНИ

Резюме. Експериментальні дослідження *in vitro* проведені у 120 пробах в умовах контакту препарату Септолете (з різними смаками, включаючи Септолете плюс у вигляді пастилок і спрея) з нестимульованим ротоглотковим секретом і сироваткою крові здорових донорів. Дослідження *in vivo* проведені у п'яти здорових донорів із визначенням гуморальних факторів захисту ротоглоткового секрету до і через одну та дві години після розсмоктування у ротовій порожнині пастилки препарату Септолете плюс. Результати досліджень дозволяють зробити висновок, що препарат Септолете плюс виробництва фірми KRKA d.d., Словенія, не впливає в умовах контакту *in vitro* на вміст секреторного IgA, інших класів сироваткових імуноглобулінів і не змінює концентрації інтерферонів α та γ . Дослідженням *in vivo* встановлено, що через годину після розсмоктування пастилки Септолете плюс відбувалося збільшення вмісту секреторної форми IgA.

Ключові слова: експериментальні дослідження, ротоглотковий секрет, фактори імунітету ротової порожнини, Септолете.

Melnikov O.F., Prylutska A.D., Tymchenko M.D.
State Institution «Institute of Otolaryngology named after prof.
A.I. Kolomyichenko» of the National Academy of Medical
Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

EXPERIMENTAL STUDIES ON THE EFFECTS OF THE DRUG SEPTOLETE ON ORAL CAVITY IMMUNITY FACTORS

Summary. Experimental studies *in vitro* were carried out in 120 samples under the conditions of Septolete (with various flavors, including Septolete plus as a spray and lozenges) contact with unstimulated oropharyngeal secretions and the blood serum of healthy donors. *In vivo* studies were conducted in five healthy donors to determine humoral factors to protect the oropharyngeal secretions before and one and two hours after Septolete plus lozenge dissolve in the oral cavity. Research results lead to the conclusion that Septolete plus manufactured by KRKA d.d., Slovenia, has no effect in *in vitro* contact conditions on the content of secretory IgA, other classes of serum immunoglobulins and does not alter the concentration of interferons α and γ . During *in vivo* study it was found that one hour after Septolete plus lozenge dissolve, we observed increase in the content of the secretory form of IgA.

Key words: experimental studies, oropharyngeal secretions, oral cavity immunity factors, Septolete.