

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ В СВЕРХНИЗКИХ КОНЦЕНТРАЦИЯХ НА ОПСОНОФАГОЦИТАРНУЮ РЕАКЦИЮ НЕЙТРОФИЛОВ

¹М.В. Лазарева, кандидат ветеринарных наук

²Н.А. Шкиль, доктор ветеринарных наук, профессор

¹Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск, Россия

²Институт экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока СФНЦА РАН, п. Краснообск

Новосибирской обл., Россия

E-mail: lazareva_mv@nsau.edu.ru

Ключевые слова: опсонофагоцитарная реакция, нейтрофилы, гомеопатический препарат, оваринин, фагоцитирующая активность, фагоцитарное число, фагоцитарный индекс

Реферат. Показано влияние лекарственных веществ в сверхнизких концентрациях на показатели опсонофагоцитарной реакции (ОФР) нейтрофилов, таких как фагоцитарная активность нейтрофилов (ФА), фагоцитарное число (ФЧ), фагоцитарный индекс (ФИ), *in vitro*. Наибольший рост фагоцитарной активности отмечали относительно контрольной группы № 3 (плацебо-контроль) у *Creosotum C30*, *Оваринина* ($P < 0,01$). При изучении качественной характеристики опсонофагоцитарной реакции нейтрофилов – фагоцитарного числа – выявили, что наибольший показатель отмечается у *Оваринина* ($26,79 \pm 5,13$ м.т.), *Secale cornutum C6* ($16,57 \pm 0,46$ м.т.), *Thuja D3* ($15,58 \pm 1,30$ м.т.). При оценке фагоцитарного индекса в опсонофагоцитарной реакции установили ингибирующий эффект физиологического раствора ($1,64 \pm 0,07$ м.т.) относительно группы № 3 плацебо-контроль ($2,42 \pm 0,21$ м.т.) на 32,23%. Наибольший ФИ отмечен у *Оваринина* ($26,79 \pm 5,13$ м.т.), *Secale cornutum C6* ($15,16 \pm 0,31$ м.т.), *Thuja D3* ($14,07 \pm 2,81$ м.т.). Выявленные закономерности отмечают, что наименьшие показатели клеточного иммунитета (ФА, ФЧ, ФИ) установлены у *Platinum C6*, ФЧ и ФИ – у *Lilium tigrinum C12*. Наибольшие показатели ОФР отмечены у комплексного препарата *Оваринин*, который включает *Apis mellifica C12*, *Pulsatilla pratensis C30*, *Sulfur C200*, *Sepia C6*, *Creazotum C30*, *Lachesis C12*. *Оваринин* характеризуется ростом показателей ФА – на 9,65%, ФЧ – на 997,95%, ФИ – на 1106,76% относительно группы контроля № 1 с лактозой.

IMPACT OF ULTIMATELY LOW CONCENTRATIONS OF MEDICINES ON THE OPSONOCYTOPHAGIC RESPONSE OF NEUTROPHILS

¹Lazareva M.V., Candidate of Veterinary Sc.

²Shkil N.A., Doctor of Veterinary Sc., Professor

¹Novosibirsk State Agrarian University, Novosibirsk, Russia

²Institute of Experimental Veterinary Science in Siberia and the Far East, SFRCAV RAS

Key words: opsonocytaphagic reaction, neutrophils, homeopathic specimen, ovarinine, phagocytic activity, phagocytic number, phagocytic index.

Abstract. The paper shows the impact of ultra-low concentrations of medical specimens on neutrophil opsonocytaphagic reaction (ORR) parameters, such as phagocytic activity of neutrophils (PA), phagocytic number (PN), phagocytic index (PI), *in vitro*. The researchers observed the highest phagocytic activity in the control group 3 (placebo-control) in *Creosotum C30* and, *Ovarinine* ($P < 0.01$). When exploring the qualitative parameters of neutrophil opsonophagocytic reaction - phagocytic

number – the authors observed the highest index in Ovarinine (26.79±5.13 m.t.), Secale cornutum C6 (16.57±0.46 m.t.) and Thuja D3 (15.58±1.30 m.t.). When estimating the phagocytic index in opsonophagocytic reaction, the inhibitory effect of saline solution (1.64±0.07 m.t.) was observed in relation to the placebo-control group No. 3 (2.42±0.21 m.t.) on 32.23%. The regularities revealed show that the lowest indexes of cellular immunity (FA, FF, FI) are established in Platinum C6; FF and FI – in Lilium tigrinum C12. The highest parameters of opsonocytotoxic reaction were observed in the complex specimen Ovarinine, which includes Apis mellifera C12, Pulsatilla pratensis C30, Sulfur C200, Sepia C6, Creazotum C30, Lachesis C12. Ovarinine is characterized by 9.65% increase in phagocytic activity, 997.95% in phagocytic number and 1106.76% in phagocytic index in comparison with the control group 1 with lactose.

Одними из главных клеток врожденного иммунитета являются нейтрофилы, осуществляющие первую линию защиты от инфекции. В основе их защитной функции лежит фагоцитарный процесс, который заключается в их способности распознавать, поглощать, убивать и переваривать микробные клетки, что играет важную роль в поддержании гомеостаза. Фагоцитоз возможен только после опсонизации антителами. Функцию опсонов могут выполнять антитела или комплемент, которые воздействуют на микроорганизм, снижая его подвижность и подготавливая к фагоцитозу [1].

Лекарственное вещество в сверхнизких концентрациях (гомеопатическое лекарственное средство) способно устранять симптомы и лежащие в основе этих симптомов патофизиологические и патоморфологические реакции, подобные которым оно само способно вызывать в неразведенном состоянии или низких разведениях у здоровых животных. Принцип «малых доз» (принцип высокого разведения) основан на том, что действие высокого разведения вещества противоположно действию его в неразведенном виде или в низком разведении. Снижение концентрации действующего вещества происходит постепенно в процессе приготовления гомеопатического лекарства [2].

Гомеопатический препарат – это лекарственное средство, представляющее коллективное состояние энергоинформационных характеристик атомов микроэлементов и биомолекул исходного вещества растительного, минерального и животного происхождения, обеспечивающее через биорезонансный эффект гармонизацию биопроцессов в организ-

ме. Сырьем для гомеопатии являются лекарственные растения, минералы, металлы, органические и неорганические кислоты, ткани животных [2, 3].

В настоящее время довольно перспективно использование гомеопатических препаратов, получивших широкое распространение в отдельных отраслях медицины и ветеринарии [3–8]. Гомеопатические препараты оказывают стимулирующее влияние на кроветворение, нормализуют обменные процессы в организме животных, где изменения в морфофункциональном и биохимическом составе крови носят более выраженный характер и достигают значений физиологической нормы. Доказана эффективность сочетанного применения гормональных препаратов с гомеопатическими, обладающими мягкой и эффективной нейро-гормонорегулирующей активностью, что профилактирует развитие кистозных образований яичников при гормональном дисбалансе [9, 10].

Гомеопатические лекарственные средства оказывают разнонаправленное влияние на показатели клеточного иммунитета. Вещества в малых и сверхмалых дозах оказывают опосредованное цитокининдуцирующее действие – способность компонентов, входящих в состав препарата, в сверхмалых дозах влиять на выработку цитокинов – полипептидных медиаторов межклеточного взаимодействия, которые регулируют течение всех нормальных физиологических и патологических процессов в организме. Цитокины управляют развитием и гомеостазом иммунной системы, осуществляют контроль за ростом и дифференцировкой клеток крови (гемопоз), реализуют неспецифические за-

щитные реакции организма (воспалительные процессы, свертывание крови, кровяное давление, процессы регенерации). Под действием цитокинов происходит усиление хемотаксиса и фагоцитоза, повышается проницаемость сосудистой стенки, цитотоксическая и бактерицидная активность макрофагов и нейтрофилов в очаге воспаления [11]. Клетки белой крови (гранулоциты и в меньшей степени моноциты) способны *in vitro* и *in vivo* поглощать, а часто и разрушать чужеродные частицы с помощью своих ферментов.

Цель исследований – оценить влияние лекарственных веществ в сверхнизких концентрациях на показатели опсонофагоцитарной реакции (ОФР) нейтрофилов *in vitro*.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Оценку влияния гомеопатических средств на опсонофагоцитарную реакцию нейтрофилов *in vitro* проводили согласно методике «Оценка естественной резистентности сельскохозяйственных животных» [12], включающей изучение фагоцитирующей активности нейтрофилов (ФА), фагоцитарного числа (ФЧ), фагоцитарного индекса (ФИ). Для исследований были использованы готовые формы лекарственных веществ (ГОСТ 7060–79) производства ООО «ГМСЦ» г. Новосибирск.

В экспериментах использовали фармакопейные разведения веществ, применяемых в сверхнизких концентрациях: D3 – 10^{-3} г/мл; С6 – 10^{-12} г/мл; С12 – 10^{-24} г/мл.

Для изучения влияния гомеопатических лекарственных средств на показатели ОФР нейтрофилов *in vitro* использовали лейкоцитарную взвесь в объеме 1 мл, к которой добавляли 0,25 мл препаратов *Sepia* С6, *Thuja* D3, *Thuja* С12, *Secale cornutum* С6, *Platina* С6, *Lilium tigrinum* С12, *Creosotum* С30, а также композицию из различных гомеопатических средств (Оваринин). Разработанный в ГНУ ИЭВСиДВ образец гомеопатического препарата Оваринин для лечения акушерско-гинекологических заболеваний животных содержит стериль-

ные водные растворы *Apis mellifica* С12, *Pulsatilla pratensis* С30, *Sulfur* С200, *Sepia* С6, *Creazotum* С30, *Lachesis* С12, взятые в равных соотношениях.

Пробирки помещали в термостат на 3 ч. при 37°C. Затем вносили взвесь микробных тел референтного штамма *Staphylococcus albus* № 182 по 0,25 мл, содержащую 1 млрд КОЕ/ 1 мл. Пробирки помещали в термостат на 1 ч при 37°C. После инкубации мазки крови фиксировали в течение 3 мин и окрашивали в течение 10 мин фиксатором-красителем эозин-метиленовый синий по Май-Грюнвальду. В контрольных группах были использованы индифферентные вещества – лактоза и 0,85 %-й водный раствор NaCl. Контрольная группа № 1 включала в себя 1 крупинку, контрольная группа № 2 – 0,85 %-й водный раствор NaCl, контрольная группа № 3 – плацебо-контроль.

Материалы исследования обработаны методом вариационной статистики с определением критерия достоверности по Стьюденту [13]. Статистическую обработку данных проводили в программе Microsoft Office Excel 2010.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования показали наибольший рост фагоцитарной активности относительно контрольной группы № 3 у *Creosotum* С30, Оваринина ($P < 0,01$), *Thuja* D3, *Secale cornutum* С6, *Platinum* С6 ($P < 0,05$) (табл. 1). Относительно контрольной группы № 2 рост ФА наблюдался у *Creosotum* С30, Оваринина ($P < 0,01$), *Lilium tigrinum* С12 ($P < 0,05$).

В контрольных группах № 1 и № 2 отмечено снижение ФА на 4,0 и 7,2% соответственно, что говорит об отсутствии стимулирующего эффекта у индифферентных веществ.

Изучение качественной характеристики опсонофагоцитарной реакции нейтрофилов – фагоцитарного числа выявило, что наибольший показатель отмечен у Оваринина ($26,79 \pm 5,13$ м.т.), *Secale cornutum* С6 ($16,57 \pm 0,46$ м.т.), *Thuja* D3 ($15,58 \pm 1,30$ м.т.)

Таблица 1

Влияние гомеопатических препаратов на ФА нейтрофилов в опсонофагоцитарной реакции
Impact of homeopathic specimens on phagocytic activity of neutrophils in opsonocytophagic reaction

Препарат, степень разведения	ФА, %	Контрольные группы		
		№ 1	№ 2	№ 3
Sepia C6	93,2 ± 1,02	-	-	-
Thuja C12	92,4 ± 1,17	-	-	-
Thuja D3	90,0 ± 1,41	-	-	*
Secale cornutum C6	91,6 ± 0,75	-	-	*
Platinum C6	88,4 ± 1,94	-	-	*
Lilium tigrinum C12	98,4 ± 1,17	*	*	-
Creosotum C30	100,0 ± 0,0	*	**	**
Оваринин	100,0 ± 0,0	*	**	**
Контроль № 1	91,2 ± 2,06			
Контроль № 2	88,0 ± 2,09			
Контроль № 3	95,2 ± 0,8			

Примечание. Здесь и далее – степень достоверности различных опытных групп в отношении к контрольным: * P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001.

Note: hereinafter – credibility of different experimental groups in relation to the control ones: * P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001.

(табл. 2). Наименьший показатель был у Platinum C6 (7,14±1,45 м.т.) и Lilium tigrinum C12 (9,76±0,14 м.т.).

В контрольной группе № 2 (1,86±0,07 м.т.) показатель ФЧ был ниже показателя групп-

пы плацебо-контроля (2,55 ± 0,23 м.т.) на 27,35 %, т.е. NaCl оказывал выраженное ингибирующее влияние. В контрольной группе № 1 показатель ФЧ незначительно снижен – на 4,31 %.

Таблица 2

Влияние гомеопатических препаратов на ФЧ нейтрофилов в опсонофагоцитарной реакции
Impact of homeopathic specimens on phagocytic number of neutrophils in opsonocytophagic reaction

Препарат, степень разведения	ФЧ, м.т.	Контрольные группы		
		№ 1	№ 2	№ 3
Sepia C6	14,46 ± 0,68	***	***	***
Thuja C12	13,96 ± 0,72	***	***	***
Thuja D3	15,58 ± 1,30	***	***	***
Secale cornutum C6	16,57 ± 0,46	***	***	***
Platinum C6	7,14 ± 1,45	*	**	*
Lilium tigrinum C12	9,76 ± 0,14	***	***	***
Creosotum C30	14,04 ± 0,69	***	***	***
Оваринин	26,79 ± 5,13	**	**	**
Контроль № 1	2,44 ± 0,08			
Контроль № 2	1,86 ± 0,07			
Контроль № 3	2,55 ± 0,23			

При оценке фагоцитарного индекса в опсонофагоцитарной реакции установили ингибирующий эффект физиологического раствора (1,64±0,07 м.т.) относительно группы № 3 плацебо-контроль (2,42±0,21 м.т.) на 32,23 % (табл. 3). Ингибирующий эффект лактозы

в группе № 1 по показателям ФИ составил 8,26 % относительно группы № 3.

Наибольший ФИ отмечен у Оваринина (26,79±5,13 м.т.), Secale cornutum C6 (15,16±0,31 м.т.), Thuja D3 (14,07±2,81 м.т.), наименьший – у Platinum C6 (8,09±0,77 м.т.), Lilium tigrinum C12 (9,60±0,15 м.т.).

Таблица 3

Влияние гомеопатических препаратов на показатели ФИ нейтрофилов в опсонофагоцитарной реакции
Impact of homeopathic specimens on phagocytic index of neutrophils in opsonocytophagic reaction

Препарат, степень разведения	ФИ, м. т.	Контрольные группы		
		№ 1	№ 2	№ 3
Sepia C6	13,46 ± 0,52	***	***	***
Thuja C12	12,88 ± 0,61	***	***	***
Thuja D3	14,07 ± 2,81	**	**	**
Secale cornutum C6	15,16 ± 0,31	***	***	***
Platinum C6	8,09 ± 0,77	***	***	***
Lilium tigrinum C12	9,60 ± 0,15	***	***	***
Creosotum C30	14,04 ± 0,69	***	***	***
Оваринин	26,79 ± 5,13	**	**	**
Контроль № 1	2,22 ± 0,09			
Контроль № 2	1,64 ± 0,07			
Контроль № 3	2,42 ± 0,21			

Изучая показатели ОФР нейтрофилов после контакта с гомеопатическими лекарственными веществами относительно группы плацебо-контроля, выявили увеличение ФА Оваринина и Creosotum C30 на 9,65 %, Lilium tigrinum C12 – на 7,89 % (табл. 4).

Выраженный рост показателей ФЧ отмечен у Оваринина – на 997,95 %, Secale cornutum C6 – на 579,09, Thuja D3 – на 538,52, Sepia C6 – на 492,62, Creosotum C30 – на 475,41 %.

Рост показателей клеточного иммунитета ФИ нейтрофилов наблюдали при воздействии Оваринина на 1106,76 %, Secale cornutum C6 – на 582,88, Thuja D3 – на 533,78, Creosotum C30 – на 532,43 %, Sepia C6 – на 506,31 %.

У 2 (25,0 %) исследуемых препаратов отмечено снижение показателя ФА при увеличении интенсивности фагоцитоза, проявляющегося в росте количества поглощённых микробных клеток (ФЧ и ФИ).

Таблица 4

Показатели ОФР нейтрофилов после контакта с гомеопатическими лекарственными веществами относительно контрольной группы № 1 с лактозой, %
Parameters of opsonocytophagic reaction after application of homeopathic medicines in relation to control group 1 with lactose, %

Препарат, степень разведения	Показатель ОФР		
	ФА	ФЧ	ФИ
Sepia C6	2,19	492,62	506,31
Thuja C12	1,32	472,13	480,18
Thuja D3	- 1,32	538,52	533,78
Secale cornutum C6	0,44	579,09	582,88
Platinum C6	- 3,07	192,62	264,41
Lilium tigrinum C12	7,89	300,0	332,43
Creosotum C30	9,65	475,41	532,43
Оваринин	9,65	997,95	1106,76

ВЫВОДЫ

Таким образом, проведенные исследования выявили выраженный ингибирующий эффект NaCl на показатели клеточного иммунитета (ФА, ФЧ, ФИ) относительно контрольной группы плацебо-контроль на 7,20; 27,35; 32,23 % соответственно.

1. Результаты изучения влияния различных гомеопатических средств на показатели опсонофагоцитарной реакции нейтрофилов *in vitro* показали, что гомеопатические препараты оказывают выраженное стимулирующее влияние на показатели ФЧ и ФИ, ко-

торые отражают фагоцитарную активность нейтрофилов.

2. Наименьшие показатели клеточного иммунитета (ФА, ФЧ, ФИ) установлены у Platinum C6, ФЧ и ФИ – у Liliium tigrinum C12.

3. Наибольшие показатели ОФР отмечены у комплексного препарата Оваринин, ко-

торый включает Apis mellifica C12, Pulsatilla pratensis C30, Sulfur C200, Sepia C6, Creazotum C30, Lachesis C12. Оваринин характеризуется ростом показателей ФА – на 9,65%, ФЧ – на 997,95, ФИ – на 1106,76% относительно группы контроля № 1 с лактозой.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Скачкова Н.К. Современное представление о фагоцитозе // Лабораторная диагностика. – 2012. – № 3. – С. 58–64.
2. Сошенко Л.П., Кухарская А.Г. Современная ветеринарная гомеопатия. – М., 2008. – 126 с.
3. Славецкая М.Б., Капай Н.А. Сверхмалые дозы биологически активных веществ как основа лекарственных препаратов. – М., 2011. – 170 с.
4. Соколов В.Д., Комиссаренко А.А., Новосадык Т.В. Гомеопатия – перспективное направление фармакологии // Междунар. вестн. ветеринарии. – 2005. – № 2. – С. 62–68.
5. Дроздник В.А., Бочкарев В.Н. Коррекция патологических процессов при экспериментальном эндометрите у собак гомеопатическим препаратом мастометрин // Ветеринарная патология. – 2009. – № 4. – С. 60–65.
6. Кочуева Н.А., Оленчук Е.Н., Степанова А.С. Применение отечественных ветеринарных гомеопатических препаратов для повышения продуктивности животных // Вестник ветеринарии. – 2011. – № 4. – С. 133–134.
7. Филатова Е.В., Шкиль Н.Н. Изменение антибиотикочувствительности выделенной микрофлоры при терапии маститов у коров // Вестн. НГАУ. – 2012. – № 4. – С. 78–80.
8. Шкиль Н.Н., Филатова Е.В. Применение лекарственных веществ в сверхнизких концентрациях при лечении мастита коров // Сиб. вестн. с.-х. науки. – 2013. – № 4. – С. 46–51.
9. Изучение эффекта стимуляции яичников крыс препаратами Оваринин и Фоллигон / Н.Н. Шкиль, М.Ю. Соколов, Ю.И. Смолянинов [и др.] // Сиб. вестн. с.-х. науки. – 2016. – № 1. – С. 51–58.
10. Изучение действия гомеопатического препарата при стимуляции яичников крыс / Н.Ю. Беляева, М.Ю. Соколов, С.П. Шкиль [и др.] // Аграрная наука – сельскому хозяйству: сб. ст.: в 3 кн. – 2013. – С. 351–353.
11. Славецкая М.Б. Взаимосвязь гомеопатии со сверхмалыми дозами биологически активных веществ // Междунар. вестн. ветеринарии. – 2010. – № 4. – С. 45–49.
12. Оценка естественной резистентности сельскохозяйственных животных: метод. рекомендации / П.Н. Смирнов, М.И. Гулюкин, Ю.Н. Федоров, В.В. Храмцов [и др.]. – Новосибирск: Россельхозакадемия, Сиб. отд-ние, ГНУ ИЭВСиДВ, ГНУ ВИЭВ, ФГОУ НРИПК АПК МСХ РФ, НГАУ, 2003. – 32 с.
13. Лакин Г.Ф. Биометрия: учеб. пособие. – М.: Высшая школа, 1980. – 293 с.

REFERENCES

1. Skachkova N. K. *Laboratornaya diagnostika*, 2012, No. 3. – pp. 58–64. (In Russ.)
2. Soshenko L. P., Kuharskaya A. G. *Sovremennaya veterinarnaya gomeopatiya* (Modern veterinary homeopathy), Moscow, 2008, 126 p.
3. Slaveckaya M. B., Kapaj N. A. *Sverhmalye dozy biologicheskii aktivnykh veshchestv kak osnova lekarstvennykh preparatov* (Midget doses of biologically active agents as basis of medicines), Moscow, 2011, 170 p.
4. Sokolov V. D., Komissarenko A. A., Novosadyuk T. V. *Mezhdunarodnyj vestnik veterinarii*, 2005, No. 2, pp. 62–68. (In Russ.)
5. Drozdnic V. A., Bochkarev V. N. *Veterinarnaya patologiya*, 2009, No. 4, pp. 60–65. (In Russ.)
6. Kochueva N. A., Olenchuk E. N., Stepanova A. S. *Vestnik veterinarii*, 2011, No. 4, pp. 133–134. (In Russ.)
7. Filatova E. V., Shkil N. N. *Vestnik NGAU*, 2012, No. 4, pp. 78–80. (In Russ.)

8. Shkil N. N., Filatova E. V. *Sibirskij vestnik selskohozyajstvennoj nauki*, 2013, No. 4, pp. 46–51. (In Russ.)
9. Shkil N. N., Sokolov M. Yu., Smolyaninov Yu. I., Belyaeva N. Yu. *Sibirskij vestnik selskohozyajstvennoj nauki*, 2016, No. 1, pp. 51–58. (In Russ.)
10. Belyaeva N. Yu., Sokolov M. Yu., Shkil S. P., Silanteva A. D., Shkil N. N. *Agrarnaya nauka – selskomu hozyajstvu: sbornik statej v 3 knigah*, 2013, pp. 351–353. (In Russ.)
11. Slaveckaya, M. B. *Mezhdunarodnyj vestnik veterinarii*, 2010, No. 4, pp. 45–49. (In Russ.)
12. Smirnov P. N., Gulyukin M. I., Fedorov Yu. N., Khramtsov V. V. *Otsenka estestvennoi rezistentnosti sel'skokhozyaistvennykh zhivotnykh* (Assessment of natural resistance of farm animals) Novosibirsk: Rossel'khozakademiya, Sib. otd-nie, GNU IEVSiDV, GNU VIEV, FGOU NRIPK APK MSKh RF, NGAU, 2003, 32 p.
13. Lakin G. F. *Biometriya* (Biometrics), Moscow: Vysshaya shkola, 1980, 293 p.