**УДК [615.37:582.477(575)]0015**

**Иммуномодулирующая активность отвара листьев и семян мандрагоры туркменской (Mandragora turcomanica)**

**Д.Х. Довлетов**

ассистент кафедры микробиологии ГМУТ им. М. Гаррыева, соискатель ученой степени к.м.н.

**С.А. Плескановская,**

научный руководитель,

д.м.н., проф.,

ГМУТ, Ашхабад

  **Аннотация:** В статье представлены результаты изучения иммуномодулирующих свойств 5% отвара листьев (ОЛМТ) и семян мандрагоры туркменской (Mandragora turcomanica) (ОСМТ). Установлено, что внутрибрюшинное введение 5% ОСМТ и 5% ОЛМТ стимулирует первичный иммунный ответ животных на тимусзависимый аниген – эритроциты барана (ЭБ).

 Активация иммунного ответа проявляется увеличением индекса миграции лейкоцитов (ИМЛ) в присутствии лизата ЭБ и изменением динамики гранулоцитарной реакции в ответ на введение антигена. Полученные данные в целом позволяют говорить об иммуномодулирующей активности 5% отваров листьев и семян мандрагоры туркменской (Mandragora turcomanica).

**Ключевые слова:** иммуномодуляция, иммунный ответ на тимусзависимый антиген, мандрагора туркменская (Mandragora turcomanica), индекс миграции лейкоцитов, гранулоцитарная реакция на иммунизацию.

 Лекарственные растения являются одним из наиболее перспективных источников получения эффективных лекарственных препаратов , в том числе иммуномодуляторов [3,4,5]. Несмотря на то, что человечество использует лекарственные растения в течение тысячелетий, выявляются все новые свойства и точки приложения даже самых, казалось бы, известных растений [4,5,6].Однако о фитоиммуномодуляции заговорили сравнительно недавно [8].

 Из 2840 видов флоры Туркменистана лекарственное значение имеют около 350 видов. Открытие в 1938 году в горах Западного Копетдага нового вида мандрагоры – мандрагоры туркменской (Mandragora turcomanica) стало своеобразной научной сенсацией . В настоящее время вид выращивается в Махтумкулинском научно-производственном экспериментальном центре и в Ашхабадском ботаническом саду. Охраняется в Сюнт-Хасардагском государственном заповеднике. Вид внесен в Красную книгу Туркменистана [7].

Целью настоящего исследования являлось изучение in vivo влияния 5% отваров листьев (ОЛМТ) и цельных семян мандрагоры туркменкой (Mandragora turcomanica) (ОСМТ) на первичный иммунный ответ мышей на тимусзависимый антиген – эритроциты барана (ЭБ).

**Материалы и методы исследования.**

 В экспериментах использовано 40 белых нелинейных мышей самцов массой не более 20 г, полученных из питомника Технологического центра АН Туркменистана. Животных содержали на обычном рационе вивария. Было выделено 4 группы животных по 10 голов в каждой. Мыши первой группы служили контролем, им внутрибрюшинно вводили 0,1 мл физиологического раствора хлорида натрия (I), второй группы (II) – были иммунизированы введением 0,1 мл 20% суспензии отмытых эритроцитов барана (ЭБ) [11]. Животным третьей группы (III) за час до иммунизации ЭБ внутрибрюшинно вводили 0.5 мл 5% ОСМТ, животным четвертой группы (IV) – 0.50 мл 5% ОЛМТ.

 Животных всех групп обследовали до- и на 3, 7, 14 сутки после иммунизации.

 Обследование животных включало определение клеточного состава периферической крови. По соотношению ее поли- и мононуклеаров вычисляли гранулоцитарный индекс (ГИ) [12]. Индекс миграции лейкоцитов (ИМЛ) определяли в модифицированной реакции торможения миграции лейкоцитов (РТМЛ) [11]. В качестве инициатора миграции использовали лизат ЭБ (ЛЭБ) [12]. Лизат ЭБ получали путем трехкратного заморажи-вания-оттаивания 2% суспензии ЭБ и хранили по 1,0 мл в одноразовых ликвотах при t -19ºС. Отвары готовили, в соответствии с правилами Фармакопеи из расчета 1:20 [] из листьев и семян мандрагоры урожая 2013 года, выращенной в Махтумкулинском научно-производственном экспериментальном центре (Туркменистан).

 Полученные в экспериментах данные математически обработаны на ПК с использованием программы SPSS.

**Результаты исследования и их обсуждение.** Исследования показали, что у животных не иммунизированных ЭБ (I группа) величина ИМЛ в присутствии лизата ЭБ в течение 14 дней наблюдения практически не изменяется и в среднем составляет 76,3±4,2. (рис.1). Но величина ИМЛ существенно изменяется у животных, иммунизированных ЭБ на фоне предварительного введения отваров семян и листьев мандрагоры.

 В целом по группам животных предварительное введение ОЛМТ и ОСМТ тормозят спонтанную миграцию лейкоцитов из стеклянного капилляра in vitro (рис. 1). На диаграмме видно, что способность тормозить миграцию лейкоцитов из стеклянного капилляра in vitro у ОСМТ выше по сравнению с ОЛМТ. При этом ИМ составляет 13,6±2,8 и 39,5±1.7 соответственно (различие достоверно p<0.01) (рис. 1,2).

Рис. 1. Величина ИМЛ в присутствии препаратов мандрагоры

 Другими словами препараты in vitro проявляют иммуномодулирующий эффект, который проявляется и in vivo.

 При иммунизации мышей ЭБ ( II группа животных) значение ИМЛ в присутствии лизата ЭБ постепенно увеличивается против исходного уровня, на 5-7 сутки различие становит-ся максимальным (p<0.01), на 14 сутки значение ИМЛ существенно снижается, но остается выше исходного уровня (p<0,05) (рис.2). То есть реализуется достаточно выраженный иммунный ответ на антиген эритроцитов барана.

 Рис.2.Динамика величины ИМЛ в зависимости от схемы эксперимента.

 В III группе животных, иммунизированных ЭБ на фоне предварительного введения ОЛМТ, ИМЛ достигает максимальных значений на 7 сутки (p<0,01) и сохраняется на высоком уровне (p<0,05) до14 суток (рис.2). Если на 7 сутки величина ИМЛ у животных II группы составляет 120,3±9,7, то у животных III группы 150,6±10,2 (p<0,05). В IV группе животных, иммунизированных ЭБ на фоне предварительного введения ОСМТ, на 3 сутки величина ИМЛ увеличивается до 130,2±12,5 против 76,5±6.9 до иммунизации (p<0.01). На 7 сутки величина ИМЛ в этой группе животных достигает 180.2±11,3 и сохраняется на высоком уровне на 14 сутки после иммунизации (p<0.01). И это самые высокие значения величины ИМЛ по сравнению с другими группами животных.

Таким образом, ОЛМТ и ОСМТ стимулируют первичный иммунный ответ мышей на тимусзависимый антиген - ЭБ, то есть проявляют выраженный иммуностимулирующий эффект. Другими словами при иммунизации белых нелинейных мышей ЭБ на фоне предварительного введения препаратов мандрагоры туркменской – ОСМТ и ОЛМТ иммунный ответ формируется раньше и дольше сохраняется на высоком уровне. При этом более активным стимулятором является ОСМТ.

Известно, что нейтрофилы принадлежат к наиболее реактивным клеткам крови организма. Роль нейтрофилов рассматривается главным образом в связи с их участием в противоинфекционном иммунитете. Поскольку первая фаза иммунного ответа, в известной степени, соответствует воспалительной реакции [**1]** мы исследовали гранулоцитаргную реакцию организма мышей в динамике иммунного ответа мышей на ЭБ**.** На различных модельных системах было установлено, что величина ГИ, представляющая собой частное от деления суммы всех циркулирующих гранулоцитов на сумму мононуклеаров периферической крови, манифестирует воспалительный процесс и является показателем степени альтерации тканей в организме [15]. Было установлено, что в контрольной группе животных (I) внутрибрюшинное введение физиологического раствора хлорида натрия вызывает кратковременную, физиологически оправданную, активацию гранулоцитарного ростка кроветворения. В лейкоформуле периферической крови животных в течение первых 3 суток преобладают полинуклеары и величина ГИ увеличивается до 0,95±0,05 против исходной 0,73±0,03 (p<0,05). С 7 по 14 сутки ГИ восстанавливается до исходного уровня (p>0,05).

Рис.3. Динамика значений величины ГИ (условные единицы) в первичном иммунном ответе мышей на ЭБ в зависимости от от схемы эксперимента.

 У мышей, иммунизированных ЭБ (II группа), на 3 сутки после иммунизации числен-ность гранулоцитов резко увеличивается, в результате чего ГИ достигает 1,2±0,08 (p<0,01 по отношению к уровню контроля). На 7 сутки в периферической крови животных преобладают мононуклеары, вследствие чего величина ГИ достоверно снижается (p<0,05), затем постепенно понижается и к 14 суткам практически достигает исходного уровня (рис.2).

При иммунизации мышей ЭБ на фоне предварительного введения ОСМТ (III) гранулоцитарная реакция в первую фазу иммунного ответа менее выражена по сравнению с II группой животных , но к 7 суткам достигает максимальных значений по сравнению с остальными группами, затем постепенно снижается , но и на 14 сутки остается выше как исходного уровня, так и значений в остальных группах животных (p<0.05). Это указывает на определенный провоспалительный эффект ОСМТ в первой фазе иммунного ответа, который важен для поддержания высокой реакции организма животных на введенный антиген [16,17]. В IV группе животных , иммунизированных на фоне предварительного введения ОЛСТ, динамика значений ГИ практически такая. То есть, провоспалительная активность ОЛМТ менее выражена , по сравнению с введением ОЛМТ.

**Заключение.**

Таким образом, было установлено, что при иммунизации белых нелинейных мышей тимусзависимым антигеном – эритроцитами барана (ЭБ) на фоне предварительного внутрибрюшинного введения 5% ОСМТ иммунный ответ формируется раньше и дольше сохраняется на высоком уровне. Другими словами, ОСМТ стимулирует первичный иммунный ответ мышей на тимусзависимый антиген, то есть проявляет выраженный иммуностимулирующий эффект. Вместе с этим активация гранулоцитарного ростка кроветворения, характерная для первой фазы иммунного ответа, более выражена и продолжается дольше - в течение 14 дней. Что указывает на определенный провос-палительный эффект ОСМТ в первой фазе иммунного ответа, который важен для под-держания реакции организма животных на введенный антиген [16,17].

 В целом полученные данные, на наш взгляд, указывают на возможность использования листьев семян мандрагоры туркменской (Mandragora turcomanica) в качестве сырья для получения иммуномодуляторов растительного происхождения.

 **БЛАГОДАРНОСТИ**

 Автор выражает благодарность научному руководителю д.м.н., профессору Плескановской Светлане Александровне, сотрудникам Сюнт-Хасардагского государственного заповедника (Туркменистан) и лично В. Кузнецову за предоставленный для исследования материал.

**Литература**

1. Бердымухамедов Г 2012 Лекарственные растения Туркменистана (3) (Ашхабад: Туркменская Государственная издательская служба) 195-199.

Drannikov A V, Derkanosova A A, Korotaeva A A, Orinicheva A A and Pribytkov A V 2019 Study of feed protein supplement with the properties of phytobiotics //IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, Volume 422, 6th International Conference on Agriproducts Processing and Farming 17–18 October, Voronezh, Russian Federation. 2020 IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci. 422 012086. DOI 10.1088/1755-1315/422/1/012086.

2.Fleisher, A., and Z. Fleisher. The Odoriferous Principle of Mandrake, Mandragora Officinarum L. Aromatic Plants of Holy Land and the Sinai. Part IX.” Journal of Essential Oil Research 4 (1992): 187–188

3.Hanuš, Lumír O.; Řezanka, Tomáš; Spížek, Jaroslav; Dembitsky, Valery M. (2005). "Substances isolated from Mandragora species". Phytochemistry 66 (20): 2408–17.

4.Khaitov R.M. Immunology (2008) Moscow, GEOTAR-Media Publishing Group. 255 p.

5.Klinman N. R. and Taylor R. B.(1969)General methods for the study of cells and serum during the immune response: the response to dinitrophenyl in mice. ClinExpImmunol. Apr.4(4): 473–487.

6.Maher O 2011 Antimicrobial activity of some medicinal plants against multidrug resistant skin pathogens Journal of Medicinal Plants Research 5 (16), pp. 3856-3860

7.Peduto VA: The mandrake root and the Viennese Dioscorides. Minerva Anestesiol 2001, 67 : 751-766

8.Piccillo GA, Mondati E, Moro PA: Six clinical cases of mandragora poisoning: diagnosis and treatment. Eur J Emerg Med 2002, 9:342-347

9. Drannikov A V, Derkanosova A A, Korotaeva A A, Orinicheva A A and Pribytkov A V 2019 Study of feed protein supplement with the properties of phytobiotics //IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, Volume 422, 6th International Conference on Agriproducts Processing and Farming 17–18 October, Voronezh, Russian Federation. 2020 IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci. 422 012086. DOI 10.1088/1755-1315/422/1/012086.

10.Ляпина С.А., Федотова Г.Г. Реактивные изменения нейтрофилов при бронхолегочных заболеваниях // Современные проблемы науки и образования. – 2018. – № 6. URL: https://science-education.ru/ru/article/view?id=28285 (дата обращения: 09.11.2022).

11.Мolochnyy О Н, Denise Lau, Hanke Mollnau, Jason P. Eisericе, Bruce A. Freeman, Andreas Daiber, Ursula M. Gehling, Jens Bru¨mmer, Volker Rudolph, Thomas Munzel, Thomas Heitzer, Thomas Meinertz, and Stephan Baldus 2005 Myeloperoxidase mediates neutrophil activation by association with CD11bCD18 integrins ( PNAS January 11) Chidiac EJ, Kaddoum RN, Fuleihan SF. Special article: mandragora: anesthetic of the ancients. Anesth Analg. 2012;115:1437–41. doi: 10.1213/ANE.0b013e318259ee4d. [PubMed] [Cross Ref]

12.Мазнев Н.И. Энциклопедия лекарственных растений. 3 изд. - М.: Мартин, 2004

13.Масная, Н. В. Реакции иммунной и кроветворной систем у мышей разных линий после антигенного и цитостатического воздействия. Автореф. дисс… д. м. н. 2005. - Томск.-35 с.

14.Методические указания по изучению иммунотропной активности фармакологических веществ - в Руководстве по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ под общей редакцией члена-корреспондента РАМН, профессора Р.У. Хабриева, М. Медицина.-2005.- С. 501- 514.

15.Нестерова И.В. Физиологическая роль нейтрофильных гранулоцитов в поддержании иммунного гомеостаза / И.В. Нестерова // Rus. J. Immunol. 2004. - Vol. 9, Suppol. 1. - P. 17)

16.Олиферук Н С, Ильинская А Н, Пинегин Б В 2005 Оценка фагоцитарной и бактерицидной активности нейтрофилов, макрофагов и незрелых дендритных клеток Иммунология 26 (1)

17.Плескановская С А 2005 Фитоиммуномодуляция - возможности и перспектив (Аллергология и Иммунология) 3 (6) 323

18.Плескановская С.А. 1997 Гранулоциты и гранулоцитарный индекс Здравоохранение Туркменистана (3) 23-26

a.Плескановская С.А. Клеточный и гуморальный иммунный ответ при кожном лейшманиозе (экспериментальные исследования и наблюдения на больных).Автореф. дисс… к.м.н.- Москва. – 1982. -20 с.

19.Плескановская С.А. Фитоиммуномодуляция-возможности и перспективы. //Аллерг. Иммунолог., Т-6. №3. 2005, стр323..

20.Ройт А, Бростофр Дж, Мейл Д 2000 «Иммунология» (Москва) «Мир» 320

21.Фармакопея СССР. Изд. 11. Вып.2. – М.: Медицина. – 1983. – 398 с. ].

22.Хаитов Р М, Гущин И С, Пинегин Б В, Зебрев А И 2002 Экспери-ментальное изучение иммунотропной активности фармакологических препаратов (Методические рекомендации). Иммунология . (Москва) 62 с.

23.Хаитов Р.М. Физиология иммунной системы. - М.: 2001. - 223 с.