

Скороцька О.І., Лич І.В., Жолобак Н.М.* , Карпов О.В.

Національний університет харчових технологій, м. Київ

* Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, м. Київ

ПРОТИГЕРПЕТИЧНА АКТИВНІСТЬ МОЛЕКУЛЯРНОГО КОМПЛЕКСУ ДРІЖДЖОВА РНК-ТИЛОРОН *IN VITRO* ТА *IN VIVO*

Віруси герпесу є політропними агентами, особливо віруси простого герпесу I та II типів (ВПГ-1, ВПГ-2). Вони вражають центральну нервову систему, шкіру, слизові оболонки, статеві органи, печінку тощо. Особливою важкістю відзначаються враження герпесвірусами центральної нервової системи – менінгіти та енцефаліти. Найчастіше до таких наслідків призводить інфікування ВПГ новонароджених, серед яких при враженнях центральної нервової системи спостерігається 50% смертність, а генералізована інфекція ВПГ призводить до 60% смертей на першому році життя [1]. Патологія ВПГ-інфекції викликається переважно прямою цитопатичною дією вірусу, результатом якої є клітинний лізис і фокусний некроз інфікованої області. У тканинах, здатних до регенерації, цитопатична дія ВПГ не є надто небезпечною за умови, що вірусне пошкодження не повністю знищує орган чи призводить до функціональної нездатності інфікованих органів під час хвороби. Проте в мозку здатність до регенерації пошкоджених тканин низька, і великі некрози, індуковані ВПГ, призводять до летальних наслідків [2]. Тому розробка та дослідження активних та безпечних протівірусних препаратів є доволі актуальною задачею.

Метою даної роботи було вивчення протигерпетичної активності молекулярного комплексу дріжджової РНК з гідрохлоридом тилорону (МК) в умовах *in vitro* та *in vivo*. Як препарати порівняння використовували стандартний протигерпетичний препарат віролекс та еталонний індуктор інтерферону I типу (ІФН) – *poly(I)-poly(C)*.

Дослідження *in vitro* були проведені на культурі клітин *Vero*. У результаті проведених досліджень було виявлено, що застосування МК та препаратів порівняння супроводжувалося достовірним зниженням репродукції ВПГ-1. Мінімально активна концентрація (МАК) МК становила 1,7 мкг/мл, тоді як для тилорону вона відповідала 0,3 мкг/мл. Було відмічено, що зниження репродукції ВПГ-1 на 2 ТЦД₅₀ викликає майже вдвічі нижча концентрація тилорону (0,17 мкг/мл) у складі комплексу, ніж за умови його самостійного застосування. Протигерпетичною дією в системі *Vero*-ВПГ-1 володів також і препарат *poly(I)-poly(C)*: величина його МАК, що викликала зниження репродукції ВПГ-1 на 2 lgТЦД₅₀, становила 3,1 мкг/мл. Величина МАК для віролексу знаходилася у тому ж діапазоні, що і тилорону, та становила 0,4 мкг/мл. Виходячи із отриманих величин мінімально активних та максимально переносимих концентрацій нами були визначені хіміотерапевтичні індекси (ХТІ) досліджуваних препаратів. Найвища величина цього показника виявлена у віролексу – 2500. ХТІ МК та *poly(I)-poly(C)* в системі *Vero* – ВПГ-1 виявилися однаковими – 324. Через високу токсичність найнижчий ХТІ у тилорону – 83. Тоді як у складі молекулярного комплексу даний показник для тилорону виявився у 3,5 разів вищим і становив 294.

Як було встановлено раніше [3], МК в умовах *in vitro* є ефективним інтерференогеном, але клітини культуральної лінії *Vero* нездатні до продукції ІФН [4], тому у виявленій протигерпетичній дії досліджених речовин відсутній вклад можливої активації системи ІФН. З огляду на це можна припустити, що виявлена нами в системі *Vero* – ВПГ-1 протівірусна дія МК вірогідно пов'язана із здатністю тилорону до інтеркаляції між парами азотистих основ подвійної спіралі ДНК (зокрема, ДНК ВПГ-1), що може у даному випадку обумовлювати зупинку вірусної транскрипції і, як наслідок, зниження рівня репродукції ВПГ-1.

В результаті проведених досліджень впливу МК на перебіг експериментальної герпетичної інфекції *in vivo* було встановлено, що у групі тварин, які отримували МК відмічалась у 5 разів нижча смертність, ніж у групі контрольних інфікованих тварин (100%). У групі мишей, яким вводили тилорон у дозі, що відповідає його вмісту в МК, смертність тварин була в 2,5 разів вищою і становила 50%. Терапевтична ефективність препаратів порівняння (віролекс, *poly(I)-poly(C)*) у цих дослідах виявилась практично однаковою: смертність тварин склала 40%. Дослідження прямої захисної дії МК на основі розрахунку показника кратності захисту (КЗ) підтвердило його високу ефективність при герпетичному менингоенцефаліті (КЗ = 5,0). У той же час КЗ тилорону, що застосовувався у концентрації, яка відповідає його вмісту в МК була у 2,5 разів меншою. Для препаратів *poly(I)-poly(C)* та віролексу КЗ виявилась у 2 рази меншою, ніж для МК. Величина показника індексу ефективності (ІЕ) у випадку МК досягала величини 80, у той час, як для препаратів порівняння (віролекс, *poly(I)-poly(C)*) даний показник відповідав гранично допустимим значенням (ІЕ = 60). ІЕ тилорону (ІЕ = 50) не відповідав вимогам щодо достовірності протівірусної активності препарату.

Щоб дослідити рівень реплікації ВПГ-1 у мозковій тканині інфікованих тварин застосовували метод полімеразної ланцюгової реакції. У групі контрольних інфікованих тварин рівень ВПГ-1 в мозковій тканині становив 5 lg LD₅₀, тоді як введення МК знижувало рівень реплікації даного вірусу на 4 lg; тилорон, віролекс та *poly(I)-poly(C)* призводили до пониження рівнів реплікації ВПГ-1 на 2 lg.

Підсумовуючи дані, отримані у цій серії експериментів, слід зазначити, що найвищу протигерпетичну ефективність серед досліджуваних препаратів виявив комплекс дріжджова РНК-тилорон, що дозволяє розглядати його як перспективний протигерпетичний засіб.

1. Kimberlin D.W. Neonatal herpes simplex infection / D.W. Kimberlin // Clin. Microbiol. Rev. – 2004. – Vol. 17. – P. 1 – 13.
2. Whitley R.J. Herpes simplex virus infections / R.J. Whitley, B. Roizman // Lancet. – 2001. – Vol. 357. – P. 1513 – 1518.
3. Карпов А.В. Изучение интерферогенных свойств комплексов дрожжевая РНК-тилорон в культуре клеток / А.В. Карпов, Н.М. Жолобак // Антибиотики и химиотерапия. – 1995. – № 5. – С. 20 – 23.
4. Семенов Б.Ф. Клеточные и молекулярные основы противовирусного иммунитета / Б.Ф. Семенов, Д.Р. Каулен, И.Г. Баландин. – М.: Медицина, 1982. – 143 с.