

ISSN 1025-6415

Д

ОПОВІДІ

**НАЦІОНАЛЬНОЇ
АКАДЕМІЇ НАУК
УКРАЇНИ**

**МАТЕМАТИКА
ПРИРОДОЗНАВСТВО
ТЕХНІЧНІ НАУКИ**

**ГОЛОВНИЙ
РЕДАКТОР ЖУРНАЛУ
академік НАН УКРАЇНИ
П.Г. КОСТЮК**

3

2006

О. І. Скроцька, Н. М. Жолобак, С. В. Антоненко, О. В. Карпов,
М. Я. Співак

Ефективність комплексу дріжджова РНК — тилорон при експериментальному герпетичному менінгоенцефаліті

(Представлено членом-кореспондентом НАН України В. С. Підгорським)

The in vivo experiments show the antiviral action of a yeast RNA — tilorone molecular complex which was evaluated by the survival time of infected animals, increased protection index, and effectivity index as compared to standard officinal drugs, poly(I)-poly(C) and virolex.

Серед інфекційних захворювань людства хвороби, що викликаються вірусами родини Herpesviridae, — одні з найпоширеніших. За даними ВООЗ, близько 90% населення Земної кулі інфіковані вірусом простого герпесу (ВПГ), а 10–20% із них мають ті чи інші прояви герпетичної хвороби. ВПГ також є етіологічним чинником у виникненні енцефаліту, менінгіту та менінгоенцефаліту вірусної природи [1]. Тому завдання пошуку та розробки речовин, здатних до протигерпетичної дії, залишається надзвичайно актуальним.

Нещодавно ми виявили, що молекулярний комплекс, який утворюється при взаємодії одноланцюгової дріжджової РНК з гідрохлоридом тилорону (МК), зменшує смертність тварин при експериментальній герпесвірусній інфекції при терапевтичному застосуванні препарату [2]. А вказані ефекти супроводжуються активацією системи інтерферону (ІФН).

Метою даної роботи було подальше дослідження протигерпетичної дії МК в умовах in vivo. Приготування розчину МК описано раніше [3]. Препаратами порівняння були стандартний протигерпетичний препарат — віролекс, що являє собою ациклічний нуклеозид у вигляді натрієвої солі ацикловіру ("KRKA", Словенія), та еталонний індуктор α/β -інтерферону — poly(I)-poly(C) ("Sigma", Німеччина).

Для створення моделі герпетичного менінгоенцефаліту мишей лінії Balb/c (масою 10–12 г) інфікували внутрішньомозково ВПГ-1, штам Л-2, який підтримували серійними пасажами на мишах лінії Balb/c, у дозі 100 ЛД₅₀/0,025 мл (титр вірусу становив 5 lg ЛД₅₀).

Наявність активного вірусу у мозковій суспензії мишей підтверджували методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з використанням тест-системи „АмплиСенс ВПГ I, II-430” (Центральний НДІ епідеміології МОЗ РФ, Москва).

Досліджувані препарати вводили тваринам за терапевтичною схемою двократно внутрішньочеревно (через 1 та 3 доби після інфікування ВПГ-1) у раніше визначених дозах, що викликають максимальну продукцію ІФН: МК — 1,46 мг/кг; poly(I)-poly(C) — 0,66 мг/кг [4]; а віролекс — у дозі 100 мг/кг маси тварин, яка застосовується при лікуванні ВПГ-1 [5]. Контрольним інфікованим тваринам вводили фізіологічний розчин.

Ефективність протигерпетичної дії МК у порівнянні з вказаними препаратами, а також адекватність вибраної схеми їх введення оцінювали за показниками середньої тривалості життя інфікованих тварин, яку розраховували за Мейнеллем [6], кратності захисту (КЗ):

$$КЗ = \frac{\% \text{ загиблих тварин у контролі}}{\% \text{ загиблих тварин у досліді}},$$

а також індексу ефективності (ІЕ) препаратів [7]:

$$ІЕ = \frac{(КЗ - 1)}{КЗ} \cdot 100.$$

Статистичну обробку одержаних результатів здійснювали за *t*-критерієм Стьюдента [8].

У наших дослідях внутрішньомозкове введення суспензії ВПГ-1 тваринам викликало розвиток герпетичного менінгоенцефаліту, який в контрольній групі супроводжувався 100% летальністю протягом 6–9 діб після інфікування (табл. 1). У той же час у групі тварин, які отримували МК, летальність за весь період спостережень (21 доба) виявилася у 5 разів нижчою: загинуло 20% мишей. Терапевтична ефективність препаратів порівняння — poly(I)-poly(C) та віролексу — виявилася практично однаковою для обох груп: смертність тварин становила 40%. Таким чином, застосована схема введення досліджених препаратів забезпечувала зменшення смертності тварин на 60–80%.

Дослідження прямої захисної дії віролексу, poly(I)-poly(C) та МК на основі розрахунку КЗ підтвердило високу ефективність застосування останнього як протигерпетичного засобу. Величина КЗ для МК виявилася в 2 рази більшою за таку для препаратів порівняння.

Щодо оцінки ефективності вказаних препаратів як противірусних засобів, то загалом вважається, що достовірним показником противірусної активності препарату є значення $ІЕ \geq 60$ [9]. При застосованій нами схемі введення ІЕ МК досяг значення 80, що повністю відповідає вимогам до ефективних противірусних препаратів. Слід зазначити, що ІЕ віролексу та poly(I)-poly(C) в наших дослідях були значно меншими, відповідали гранично допустимим значенням ІЕ.

Таблиця 1. Захисна дія МК та препаратів порівняння при експериментальному герпес-вірусному менінгоенцефаліті

Препарат	Доза, мг/кг	Летальність тварин, %	<i>p</i>	КЗ	ІЕ
МК	1,46	20	< 0,001	5,0	80
Poly(I)-poly(C)	0,66	40	< 0,001	2,5	60
Віролекс	100,00	40	< 0,001	2,5	60
Контроль інфікування ВПГ-1	—	100	—	—	—

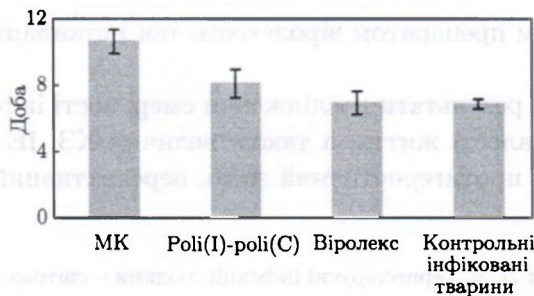


Рис. 1. Середня тривалість життя мишей лінії Balb/c при експериментальному герпетичному менингоенцефаліті ($p < 0,001$ для МК та poly(I)-poly(C), $p > 0,05$ для віролексу)

Середня тривалість життя контрольних інфікованих тварин у цих дослідках становила 6,86 доби (рис. 1). У той же час у тварин, які отримували МК, середня тривалість життя була значно більшою і досягала 10,63 доби. Трохи нижчим цей показник виявився в групі тварин, які отримували poly(I)-poly(C) — 8,11 доби. Середня тривалість життя тварин, яким вводили віролекс, достовірно не відрізнялась від такої тварин контрольної групи і становила 6,93 доби ($p > 0,05$). Таким чином, у порівнянні з офіційними препаратами, МК виявив найвищу ефективність: у тварин, що отримували МК, спостерігалась найбільша середня тривалість життя та найнижча смертність.

Необхідно відзначити, що віролекс, незважаючи на його низьку біодоступність (10–30%), отримав широке розповсюдження в клінічній практиці як один з небагатьох відносно ефективних протигерпетичних засобів [10]. Ефективність віролексу в організмі зумовлена його перетворенням під дією віруспецифічної тимідинкінази в активовану форму, яка подібна до дезоксигуанозинтрифосфату і використовується ДНК-полімеразою ВПГ як субстрат гуанінової основи при синтезі вірусної ДНК. Таким чином зупиняється подальша реплікація вірусної нуклеїнової кислоти [11].

Застосований нами препарат порівняння poly(I)-poly(C), що є стандартним індуктором ІФН як у культурі клітин, так і в організмі, при введенні мишам, інфікованим ВПГ-1, за показником летальності тварин виявив ефективність, практично аналогічну віролексу *in vivo*. Тобто як специфічний антивірусний препарат, так і стандартний індуктор ІФН зменшували смертність тварин у порівнянні з контролем на 60%. Одержані результати узгоджуються з даними літератури про чутливість інфекційного процесу, викликаного ВПГ-1 як до дії специфічних інгібіторів вірусної репродукції, так і до індукованого ІФН [12].

Виявлена значна ефективність застосування МК зумовлена, очевидно, також активацією системи ІФН. На користь цього свідчить показане у наших попередніх дослідженнях зростання рівнів ІФН у сироватці крові при герпетичному менингоенцефаліті у мишей під впливом МК. Вказане явище корелює із зменшенням смертності в групі тварин, що отримували МК, у порівнянні з контрольними [2]. З другого боку, до складу МК входить тилорон, що застосовується в клініці як ефективний антигерпетичний агент. Його дія зумовлена здатністю вступати у взаємодію з вірусними нуклеїновими кислотами шляхом інтеркаляції. У складі МК тилорон, у порівнянні з рекомендованими для клінічного застосування дозами, знаходиться у слідових кількостях (майже в 500 раз менше прийнятих доз [13]), що все-таки не заперечує — на фоні активації системи інтерферогенезу — можливого впливу на перебіг менингоенцефаліту навіть таких кількостей препарату. Можливо, що саме вказані ефекти і забезпечують перевагу МК у порівнянні як із

стандартним противірусним препаратом віролексом, так і стандартним індуктором ІФН – poly(I)-poly(C).

Таким чином, одержані результати дослідження смертності інфікованих ВПГ-1 тварин, визначення середньої тривалості життя, а також величин КЗ, ІЕ дозволяють розглядати МК як досить ефективний протигерпетичний засіб, перспективний для подальшого дослідження.

1. Руденко А. О., Муравська Л. В. Герпесвірусні інфекції людини – світова проблема // Інфекційні хвороби. – 2001. – № 2. – С. 5–11.
2. Скроцька О. І., Жолобак Н. М., Карпов О. В., Антоненко С. В., Співак М. Я. Вплив комплексного індуктора інтерферону на експериментальну герпетичну інфекцію // Доп. НАН України. – 2005. – № 5. – С. 164–166.
3. Карпов А. В., Жолобак Н. М. Продукция интерферонов I типа в организме под действием молекулярных комплексов дрожжевая РНК – тилорон // Вопр. вирусологии. – 1996. – № 1. – С. 13–16.
4. Карпов О. В., Жолобак Н. М. Интерферогенні властивості комплексів дріжджова РНК-тилорон // Доп. НАН України. – 1996. – № 3. – С. 128–131.
5. Narihiko M., Takao I., Noriyuki A. Comparison of antiviral efficacies of 1- β -D-arabinofuranosyl-E-5-(2-bromovinyl)uracil (brovavir) and acyclovir against herpes simplex virus type 1 infections in mice // Antiviral Res. – 1990. – 14. – P. 99–108.
6. Пшеничников В. А., Семенов Б. В., Зезеров Е. Г. Стандартизация методов вирусологических исследований. – Москва, 1974. – 168 с.
7. Методы испытания и оценки противовирусной активности химических соединений в отношении вируса гриппа. Методические указания / Сост. проф. В. И. Ильенко. – Ленинград, 1977. – 35 с.
8. Лакин Г. Ф. Биометрия. – Москва: Высш. шк., 1973. – 343 с.
9. Щербинська А. М., Дяченко Н. С., Рибалко С. Л. та ін. Вивчення антивірусної дії потенційних лікарських засобів // Доклінічні дослідження лікарських засобів. – Київ, 2001. – С. 371–395.
10. Гранитов В. М. Герпесвирусная инфекция. – Москва: Мед. книга, 2001. – 88 с.
11. Ходак Л. А. Фармакотерапия герпесвирусных инфекций // Междунар. мед. журн. – 1997. – 3, № 4. – С. 57–59.
12. Вирусология: В 3 т. Т. 2 / Под ред. Б. Филдса, Д. Найпа. – Москва: Мир, 1989. – 452 с.
13. Жолобак Н. М. Интерферогенна та антивірусна дія молекулярних комплексів дріжджова РНК – тилорон: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – Київ, 2001. – 20 с.

Інститут мікробіології і вірусології

ім. Д. К. Заболотного НАН України, Київ

Національний університет харчових технологій, Київ

Інститут епідеміології та інфекційних хвороб

ім. Л. В. Громашевського АМН України, Київ

Надійшло до редакції 06.07.2005