

РОССИЙСКАЯ
АКАДЕМИЯ
МЕДИЦИНСКИХ
НАУК

ВОПРОСЫ ВИРУСОЛОГИИ

PROBLEMS OF VIROLOGY

ДВУХМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНО-ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Основан в 1956 г.

ТОМ 48

1

ЯНВАРЬ—ФЕВРАЛЬ

2003

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Главный редактор Д. К. ЛЬВОВ

В. И. АГОЛ, И. Г. АТАБЕКОВ,
И. Ф. БАРИНСКИЙ,
Т. А. БЕКТИМИРОВ (ответственный секретарь),
Р. В. БЕЛОУСОВА, Г. А. ГАЛЕГОВ,
Ю. З. ГЕНДОН, В. А. ГОЛЬЦОВ,
В. В. ГУНЕНКОВ, С. Г. ДРОЗДОВ,
Ф. И. ЕРШОВ, В. В. ЗВЕРЕВ, В. А. ЗУЕВ,
Н. В. КАВЕРИН, Ф. Л. КИСЕЛЕВ,
С. М. КЛИМЕНКО,
В. А. ЛАШКЕВИЧ (зам. главного редактора),
Г. Р. МАЦЕВИЧ, Г. Г. ОНИЩЕНКО,
В. В. ПОКРОВСКИЙ, И. В. ТАРАСЕВИЧ



МОСКВА • МЕДИЦИНА

3. *Adrian M. Di Biseglie*. Hepatitis C // *Lancet*. — 1998. — Vol. 351. — P.351—355.
4. *Chomczynski P., Sacchi N.* Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate—phenol—chloroform extraction // *Anal. Biochem.* — 1987. — Vol. 162. — P. 156—159.
5. *Clarke B.* Another step forward in hepatitis C therapy // *Lancet*. — 2001. — Vol. 49. — Suppl. I. — P. 1.
6. *Deryabin P. G., Lvov D. K., Isaeva E. I.* Biological properties of cytopathogenic hepatitis C variants // 11-th International Congress of Virology. — Sydney, 1999. — Vol. 13. — P. 2.
7. *Gaede K. I., Mamat U., Schlaak M.* et al. Analysis of differentially regulated mRNAs in monocytic cells induced by in vitro stimulation // *J. Mol. Med.* — 1999. — Vol. 77, N 12. — P. 847—852.
8. *Gelder C. M., Thomas P. S., Yates D. H.* et al. Cytokine expression in normal, atopic, and asthmatic subject using the combination of sputum induction and the polymerase chain reaction // *Thorax*. — 1995. — Vol. 50. — P. 1033—1037.
9. *Gossen M., Bujard H.* Tight control of gene expression in mammalian cells by tetracycline responsive promoters // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 1992. — Vol. 89. — P. 5547—5551.
10. *Lin Y., Zhang M., Barnes P. F.* Chemokine production by a human alveolar epithelial cell line in response to *Mycobacterium tuberculosis* // *Infect and Immun.* — 1998. — Vol. 66, N 3. — P. 1121—1126.
11. *Lindsay K. L.* Therapy of hepatitis C: overview // *Hepatology*. — 1997. — Vol. 26. — P. 71—77.
12. *Narovlansky A. N., Vershinina M. Yu., Amchenkova A. M.* et al. The cytokine mRNAs in cell lines with different IFN-sensitivity // *European Cytokine Network. Special issue ICS/ISICR*. — 2000. — Vol. 11. — P. 147.
13. *Polyak S. J., McArdle S., Liu S.-J.* et al. Evolution of hepatitis C virus quasispecies in hypervariable region 1 and the putative interferon-sensitivity determining region during interferon therapy and natural infection // *J. Virol.* — 1998. — Vol. 72, N 5. — P. 4288—4296.
14. *Polyak S. J., Paschal D. M., McArdle S.* et al. Characterization of the effects of hepatitis C virus nonstructural 5A protein expression in human cell lines and on interferon-sensitive virus replication // *Hepatology*. — 1999. — Vol. 29, N 4. — P. 1262—1271.
15. *Polyak S. J., Khabar K. S. A., Paschal D. M.* A novel mechanism of hepatitis C virus interferon resistance: induction of expression of the CXC chemokine, interleukin-8, by the non-structural 5A protein // *European Cytokine Network (The official Journal of the European Cytokine Society). Special issue ICS/ISICR*. — 2000. — Vol. 11. — P. 215.
16. *Rady P. L., Cadet P., Bui T. K.* et al. Production of interferon gamma messenger RNA by cells of non-immune origin // *Cytokine*. — 1995. — Vol. 7, N 8. — P. 793—798.
17. *Taylor D. R., Shi S. T., Lai M. M. C.* Hepatitis C virus and interferon resistance // *Microb. and Infect.* — 2000. — Vol. 2, N 2. — P. 1743—1756.
18. *Thomas S. Harrison, Stuart M. Levitz.* Role of IL-12 in PBMC responses to fungi in persons with and without HIV infection // *J. Immunol.* — 1996. — Vol. 1, N 3. — P. 4492—4497.
19. *Yamamura M., Uyemura K., Deans R. J.* et al. Defining protective responses to pathogens: cytokine profiles in leprosy lesions // *Science*. — 1991. — Vol. 254, N 11. — P. 277—279.

Поступила 15.03.02

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2003

УДК 615.281.8.076.9

Н. Н. Носик, В. Е. Небольсин, Г. А. Желтухина, Р. П. Евстигнеева, Н. Г. Кондрашина, Л. А. Лаврухина, В. В. Кржечковская

Противовирусная и антистрессорная активность γ-L-глутамилгистамина и его аналогов

НИИ вирусологии им. Д. И. Ивановского, РАМН, Московская государственная академия тонкой химической технологии им. М. В. Ломоносова, ООО "Фарминтерпрайвез", Москва

Изучено влияние γ-L-глутамилгистамина (соединение I) и его аналогов на состояние неспецифической резистентности и противовирусную активность на моделях экспериментальной гриппозной и герпетической инфекций. На модели эмоционально-двигательного стресса у мышей показано, что применение соединения II предотвращает или ослабляет снижение активности НК-клеток и синтеза α- и γ-интерферонов в постстрессовый период.

Аналоги γ-L-Glu-HA (соединения II, III IV) повышали резистентность мышей к экспериментальной гриппозной инфекции при низкой множественности заражения (10 ЛД₅₀), а соединение II — и при высокой инфицирующей дозе (100 ЛД₅₀). При экспериментальном герпетическом энцефалите мышей соединение II не оказывало выраженного защитного действия в жестких условиях эксперимента.

Таким образом, ряд испытуемых аналогов γ-L-глутамилгистамина обладают иммуномодулирующей активностью и способны нормализовать показатели неспецифического иммунитета. При этом они оказывают выраженное противовирусное действие при экспериментальной гриппозной инфекции и малоэффективны при экспериментальном герпетическом энцефалите мышей. Из исследованных соединений наиболее перспективным представляется соединение II.

Ключевые слова: вирус гриппа, вирус герпеса простого, интерфероны, натуральные киллеры, стресс, γ-глутамилгистамин, действие

Effect of γ-L-glutamylhistamine γ-L-Glu-HA and some of its derivatives on the state of nonspecific resistance and antiviral activity was studied using experimental models of influenza virus and herpes simplex virus infections. Activities of natural killer (NK) cells and interferon (IFN) system were measured. The model of physical-emotional stress in mice was used. It was shown that the gamma-L-Glu-HA derivative II can prevent totally or substantially a decrease in the NK activity. This agent also prevents inhibition of synthesis of alpha- and gamma-IFN during the post-stress period. The γ-L-Glu-HA derivatives II, III, and VII increased the mice resistance to influenza virus type A/Aichi at low infection dose (10LD₅₀). The derivative II showed its protective effect even at high dose of pathogen (100LD₅₀). However, this γ-L-Glu-HA derivative was virtually ineffective under harsh experimental conditions. Thus, a number of gamma-L-Glu-HA derivatives tested in this work demonstrated immunomodulation activity. These agents were able to normalize parameters of nonspecific immunity. They exerted a pronounced antiviral effect against influenza virus but were virtually ineffective against encephalitis in mice caused by herpes simplex virus, type 1. Of all tested agents, gamma-L-Glu-HA derivative II was found to be the most promising.

Key words: influenza virus, herpes simplex virus, interferons, natural killer cells, stress, γ-glutamylhistamine, activity

Важным направлением совершенствования профилактики и лечения широко распространенных вирусных заболеваний является расширение существующего арсенала эффективных противовирусных и иммунокорректирующих средств.

В настоящее время для лечения и профилактики вирусных заболеваний используют в основном 2 группы препаратов: специфические препараты, направленные на подавление репродукции вирусов, и лекарственные средства, повышающие активность неспецифического иммунитета. Известно, что при развитии вирусных инфекций происходит значительная разбалансировка иммунной системы, в том числе системы интерферонов, и снижается активность натуральных киллеров (НК-клеток), играющих важную роль в неспецифическом иммунитете при вирусных инфекциях. Например, наблюдается заметное снижение резистентности экспериментальных животных к цитомегаловирусной инфекции на фоне угнетения активности НК-клеток и синтеза γ -интерферона [11]. Также необходимо отметить, что именно НК-клетки обладают высокой цитотоксичностью в отношении клеток, инфицированных вирусами. Регуляция данного эффекта осуществляется различными механизмами, в частности при участии цитокинов — интерлейкинов 12 и 15, α - и γ -интерферонов [8,9].

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния γ -L-глутамилглутамина (γ -L-Glu-NA) и его аналогов на состояние системы неспецифической резистентности организма (продукцию α - и γ -интерферонов, активность НК-клеток) и исследование противовирусной активности ряда соединений на моделях экспериментальной гриппозной инфекции и герпетического энцефалита у мышей. Выбор данной группы соединений для исследования обуславливался полученными ранее данными об их высокой биологической активности и влиянием на иммунологические и аллергические реакции [5].

Изучение влияния соединений на реакции неспецифического иммунитета проводили в условиях постстрессорного состояния, при котором происходит быстрое и относительно кратковременное угнетение многих иммунологических процессов, в том числе и активности НК-клеток [6].

Материалы и методы

Исследуемые соединения — γ -L-Glu-NA (I), глутарилглутамин (II), γ -аминобутирилглутамин (III), γ -L-глутамилтриптамин (IV). Соединения синтезированы методами пептидной химии на кафедре химии и технологии тонких органических соединений МГАТХТ им. М. В. Ломоносова [2, 4].

В качестве позитивных контролей использовали следующие препараты: *арбидол* — 1-метил-2-фенилтиометил-3-карбозтокси-4-(диметиламинометил)-5-окси-6-броминдол гидрохлорид моногидрат — в виде порошка, разработан в Центре по химии лекарственных средств — ВНИХФИ им. С. Орджоникидзе и любезно предоставлен проф. Т. А. Гуськовой. Препарат растворяли в 1% крахмальном геле. Путь введения — *per os*, *ридостин* — дсРНК из дрожжей *S. cerevisiae*, индуктор интерферона. Производится в ГНЦ вирусологии и биотехнологии "Вектор", НИКТИ БАН. Путь введения — внутри-

мышечный; ацикловир (зовиракс) фирмы "Glaxo", в виде суспензии. Путь введения — *per os*.

Вирусы. Вирус гриппа человека типа А, штамм Aichi (H3N2), вводили в виде аллантоисной жидкости интраназально. Вирус любезно предоставлен проф. О. П. Жирновым. Вирус герпеса простого типа 2, штамм ВН (получен из Музея вирусов Института вирусологии им. Д. И. Ивановского РАМН).

Исследование влияния соединений I и II на развитие эмоционально-двигательного стресса и изменения системы неспецифической резистентности. Эксперимент проводили на инбредных мышцах-самцах линии Balb с исходной массой 16—18 г. В каждой группе использовали по 12 животных. Для развития эмоционально-двигательного стресса использовали модель плавания животных в теплой воде в течение 20 мин. Развитие стресса оценивали по активности естественных киллерных лимфоцитов (НК-клетки) и функционированию системы интерферона [6].

Активность НК-клеток определяли в тесте освобождения ^3H -уридина из меченых клеток-мишеней YAC-1 (клеточная лимфома мыши, поддерживаемая пассажами *in vitro* во взвеси в среде RPMI-1640 с 10% эмбриональной сыворотки). В клеточную взвесь в концентрации 1 млн клеток/мл вносили ^3H -уридин (3—5 мКи/кл/мл) на 60 мин при встряхивании с интервалом 15 мин и последующим отмыванием средой. Активность НК выражали в виде индекса цитотоксичности в % (отношение импульс/минута в опыте к контролю).

Источником НК-клеток служили спленоциты мышей, которые получали ранее описанным методом [10].

При исследовании интерфероновой реакции спленоцитов мышей клетки селезенки помещали в инкубационную среду (среда RPMI-1640 + 10% эмбриональной сыворотки коров), доводили до концентрации $1-3 \cdot 10^8$ клеток/мл и инкубировали 24 ч при 37°C. В качестве индукторов интерферона использовали вирус болезни Ньюкасла (индукция α -интерферона) и митоген ФГА (индукция γ -интерферона).

Активность НК-клеток и интерфероновый статус определяли в динамике — через 4 ч, через 1 сут после стресса, а затем на 5, 7 и 10-е сутки.

Животные были разделены на 4 группы по 36 мышей в каждой: 1-я группа — интактные животные, не подвергавшиеся стрессу и получавшие физиологический раствор (ФР); 2-я — животные, которые были подвергнуты стрессовому воздействию и получавшие ФР; 3-я — животные, подвергнутые стрессовому воздействию и получавшие соединение II; 4-я — животные, подвергнутые стрессу и получавшие соединение I.

Исследуемые соединения в дозе 50 мкг/кг и ФР вводили животным перорально 4-кратно по следующей схеме: в течение 2 дней до стрессового воздействия (1-е и 2-е введение), за 2 ч до стресса (3-е введение) и через 24 ч после 3-го введения (4-е введение).

Основные показатели исследования противовирусной активности — средняя продолжительность жизни (СПЖ) и выживаемость инфицированных животных. СПЖ вычисляли по методу Пригге [1], выживаемость инфицированных животных выра-

Изменение активности НК-клеток под влиянием соединений I и II (M ± m)

Группа животных	Индекс цитотоксичности (в %) после стресса через (в часах):				
	4	24	120	168	240
1-я (интактный контроль)	81 ± 0,82	79 ± 1,32	79 ± 0,99	76 ± 0,66	80 ± 0,99
2-я (стресс)	57,3 ± 0,82**1	39 ± 1,48**1,3	68,3 ± 1,65	76,5 ± 0,49	71,7 ± 2,46*1
3-я (стресс + соединение II)	68,5 ± 0,99*1,2	69,3 ± 1,81**2	79 ± 1,46	69,3 ± 4,85	77 ± 1,98
4-я (стресс + соединение I)	69,5 ± 1,32**2	61,5 ± 2,64*1,2	71 ± 0,82	67,7 ± 3,95	77,5 ± 1,65

Примечание. Звездочки — достоверность различий: одна — $p < 0,05$; две — $p < 0,01$; цифрами обозначены группы, по отношению к которым различия достоверны.

жали в процентах. Степень защиты оценивали как разницу между количеством выживших мышей в группе животных, получавших плацебо, и группе животных, получавших препарат, и выражали в процентах.

Изучение влияния исследуемых соединений на развитие экспериментальной гриппозной инфекции у мышей. Эксперименты проводили на белых беспородных мышках обоего пола массой 8—10 г. Вирус гриппа человека типа А, штамм Aichi (аллантоиновая жидкость), вводили мышам в дозах 100 и 10 ЛД₅₀. Исследуемые соединения вводили животным перорально в течение 3 дней до заражения и 10 дней после заражения. В качестве препаратов сравнения использовали арбидол (специфический препарат) в дозе 100 мкг/кг, который вводили за 24 и 2 ч до и через 3 дня после заражения.

Изучение действия соединения II на течение экспериментального энцефалита мышей, вызванного вирусом герпеса простого. Эксперимент проводили на белых беспородных мышках массой 7—8 г. Герпетический энцефалит вызывали путем интрацеребрального или внутривентрикулярного введения вируса герпеса типа 2, штамм ВН, в дозе 10 или 100 ЛД₅₀ соответственно. Соединение II и зовиракс вводили перорально ежедневно с момента заражения животных в течение 6 дней. Соединение II применяли в дозе 0,5, 0,1 и 0,05 мг/кг, а препарат сравнения зовиракс — 200 мг/кг.

Статистическую обработку результатов проводили по общепринятым методикам с определением доверительных границ между результатами в опытных группах и контроле [7].

Результаты

Изучение влияния соединений I и II на развитие постстрессорных изменений неспецифической резистентности у мышей. В результате эмоционально-двигательного стресса у мышей наблюдалась характерная динамика активности НК-клеток: резкое снижение активности НК-клеток уже через 1,5 ч, а наиболее низкий уровень активности наблюдался к концу 1-х суток с последующим восстановлением активности к 5—7-м суткам. На фоне применения соединений I и II не отмечалось заметного снижения активности НК-клеток (табл. 1).

Способность спленоцитов мышей к продукции α- и γ-интерферонов в результате стресса также резко угнеталась и не полностью восстанавливалась в течение срока наблюдения (10 сут), особенно α-интерферона (табл. 2). В результате применения соединений I и II угнетение продукции α-интерферона в первые часы после стресса предотвращалось

не полностью, однако нормализация его синтеза происходила уже к 5-му дню. Динамика способности спленоцитов продуцировать γ-интерферон была несколько иной: снижение уровня синтеза отмечалось не в первые часы после стресса, а к концу 1-х суток и нормализация происходила более медленно. Применение исследуемых соединений (I—II) способствовало несколько более быстрому восстановлению уровня продукции γ-интерферона.

Таким образом, у животных, которым вводили исследуемые соединения (I—II), последствия стрессового воздействия на состояние неспецифической резистентности были компенсированы.

Изучение влияния соединений на течение экспериментальной гриппозной инфекции у мышей. В I серии экспериментов по изучению противогриппозной активности веществ использовали высокую инфицирующую дозу вируса гриппа (100 ЛД₅₀). Результаты представлены в табл. 3. В данных условиях эксперимента введение арбидола снижало гибель животных при смертельной гриппозной инфекции в среднем на 35,5%. Применение исследуемых соединений I и IV практически не оказывало влияния на выживаемость и СПЖ при экспериментальной гриппозной инфекции, степень защиты составляла 17,24 и 17,65% соответственно. В то же время соединение II в исследованных дозах (0,05 и 0,5 мг/кг) обладало противовирусной активностью. При введении животным соединения II в дозе 0,5 мг/кг в течение 13 дней степень защиты достигала 33,6%, т. е. была практически такой же, как и при введении арбидола в дозе 100 мг/кг трехкратно.

В связи с относительно низкой противогриппозной эффективностью арбидола в проведенных исследованиях во II серии экспериментов была ис-

Таблица 2

Влияние исследуемых соединений на продукцию α- и γ-интерферона спленоцитами мышей в постстрессовых условиях

Группа животных	Время после стресса, ч					
	0	4	24	120	168	240
<i>α-Интерферон, ед/мл</i>						
1-я (интактный контроль)	160	160	80	160	160	160
2-я (стресс)	160	10	10	16	32	16
3-я (стресс + соединение II)	160	10	10	160	160	160
4-я (стресс + соединение I)	160	10	80	80	100	140
<i>γ-Интерферон, ед/мл</i>						
1-я (интактный контроль)	40	40	32	40	40	40
2-я (стресс)	80	20	40	40	10	10
3-я (стресс + соединение II)	80	80	32	32	320	80
4-я (стресс + соединение I)	80	20	320	40	32	32

Таблица 3
Противовирусное действие γ -L-Glu-NA (соединение I) и его аналогов на экспериментальную гриппозную инфекцию у мышей при инфицирующей дозе 100 ЛД₅₀

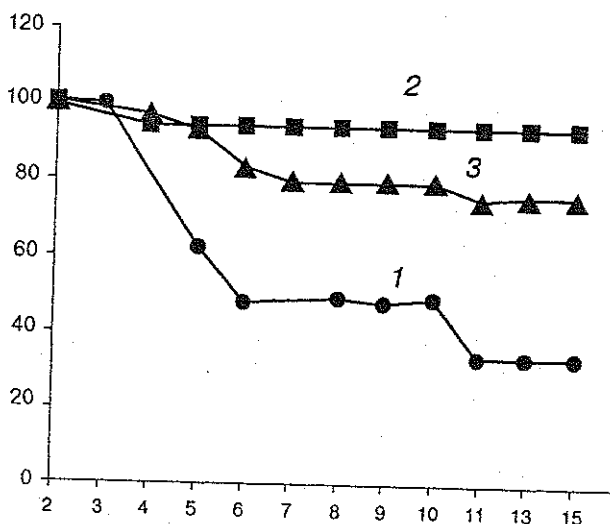
Препарат	Доза, мг/кг	Схема применения		СПЖ, дни	Выживаемость, %	Степень защиты, %
		до заражения	после заражения			
Арбидол	100	24 и 2 ч	3 дня	7,69*	37,3*	35,5*
Соединение I	0,5	3 дня	3 дня	5,88	20,68	17,24
	0,05	3 дня	3 дня	7,40	20,68	17,24
Соединение II	0,05	3 дня	10 дней	9,5	39,1*	33,6*
	0,5	3 дня	10 дней	8,6	33,7*	21,7*
Соединение IV	0,05	3 дня	10 дней	8,33	19,0	17,65
	0,05	3 дня	10 дней	8,33	24,7	7,5

Примечание. * — среднее значение 3 экспериментов.

пользована более низкая инфицирующая доза вируса гриппа — 10 ЛД₅₀. При этих условиях в группе животных, получавших арбидол, выживаемость достигала 94,7%, а степень защиты — 60%. Выявлено, что исследованные соединения обладали противовирусной активностью при экспериментальной гриппозной инфекции в данных условиях эксперимента (табл. 4).

В обеих сериях эксперимента у всех животных, включая контрольную группу, получавшую плацебо в виде 1% крахмального геля, отмечались клинические признаки заболевания с 3-го дня после заражения. Мыши были малоподвижны, шерсть взъерошена, глаза полузакрыты. К 5-му дню в контрольной группе мышей около половины животных погибли. В других группах, особенно в группах, получавших соединение II и арбидол, мыши к 6-7-му дню выглядели здоровыми. Результаты наблюдения за выживаемостью мышей представлены на рисунке в виде кумулятивной смертности. Четко видно увеличение продолжительности жизни животных в группах, получавших вещество II в дозе по 0,5 мг/кг. Применение препаратов приводило к увеличению СПЖ мышей (на 2—4 дня).

В результате проведенных экспериментов было установлено, что применение исследованных соединений оказывает достоверное защитное действие при экспериментальной гриппозной инфекции у мышей. Степень защиты при использовании вещества II в различных дозах достигала 42 и 52% и несколько уступала по эффективности арбидолу (60%). Однако доза исследованного соединения II,



Кумулятивная смертность мышей, инфицированных вирусом гриппа типа А, штамм Аичи.

По оси ординат — выживаемость мышей (в %); по оси абсцисс — дни после заражения. 1 — плацебо; 2 — арбидол; 3 — соединение II в дозе 0,5 мг/кг.

применявшаяся в эксперименте, была на 3—4 порядка ниже, чем препарата сравнения.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что соединения II, III и IV дают выраженный противовирусный эффект при экспериментальной вирусной инфекции мышей, вызванной вирусом гриппа человека типа А. Наиболее выраженный положительный эффект в проведенных исследованиях был получен при длительном профилактически-лечебном применении соединений в дозе 0,5 мг/кг. Применение исследованных веществ в дозе, на порядок меньшей, также давало защитный эффект.

Изучение действия соединения II на течение экспериментального энцефалита мышей, вызванного у мышей вирусом герпеса простого. В I серии экспериментов мышам после интрацеребрального заражения вирусом герпеса давали соединение II в дозе 0,5 мг/кг (1-я группа), 0,1 мг/кг (2-я группа) и 0,05 мг/кг (3-я группа). Контролем служили группы инфицированных мышей, получавших плацебо (растворитель препарата — дистиллированная вода) или зовиракс. Инфицирующая доза вируса составила 100 ЛД₅₀ (табл. 5).

При таких жестких условиях эксперимента инфицированные мыши контрольной группы болели,

Таблица 4
Противовирусное действие аналогов γ -L-Glu-NA на экспериментальную гриппозную инфекцию у мышей при инфицирующей дозе в 10 ЛД₅₀

Препарат	Доза, мг/кг	Доза и схема применения		СПЖ		Выживаемость, %	Степень защиты, %
		до заражения	после заражения	дни	% к контролю		
Арбидол	100	24 и 2 ч	3 дня	13,88	152,5	94,7	60,2
Соединение II	0,5	3 дня	10 дней	11,5	126,3	76,6	42,2
	0,05	3 дня	10 дней	10,1	110,9	86,6	52,1
Соединение III	0,5	3 дня	10 дней	13	142,8	83,3	48,8
	0,05	3 дня	10 дней	11,9	130,7	76,6	42,2

Таблица 5
Продолжительность жизни мышей, инфицированных вирусом герпеса простого, тип 2, и получавших вещество II

Препарат	Доза и схема применения препарата	Заражающая доза		
		100 ЛД ₅₀ интрацеребрально	10 ЛД ₅₀ интрацеребрально	100 ЛД ₅₀ внутривенно
СПЖ, дни				
Плацебо	50 мкл, 3 дня	3,63	5,0	7,7
Соединение II	500 мкг/кг, 6 дней	6,67	6,67	8,78
Соединение II	100 мкг/кг, 6 дней	6,25	6,50	8,03
Соединение II	50 мкг/кг, 6 дней	5,0	6,47	8,27
Зовиракс	200 мг/кг, 6 дней	5,56	6,9	9,28

начиная с 3-го дня. СПЖ в этой группе составила 3,63 дня при 100% летальности. В группах, получавших исследуемое соединение и зовиракс, СПЖ была на 1,5–2 дня больше, однако все инфицированные мыши также погибли.

Во II серии эксперимента инфицирующая доза вируса, вводимая интрацеребрально, составляла 10 ЛД₅₀. Препараты применяли в дозах и по схеме I серии эксперимента. Полученные результаты показали, что в данных условиях исследуемое соединение и противовирусный препарат зовиракс не оказывали защитного действия при герпетическом энцефалите.

В III серии эксперимента мышей заражали внутрибрюшинно дозой вируса 100 ЛД₅₀. При данном способе введения вируса наблюдались более длительный инкубационный период и более легкое течение инфекции. В контрольной группе (плацебо) СПЖ составила 7,7 дня при выживаемости 40% мышей. В группах инфицированных мышей, получавших вещество II (в дозах 0,5, 0,1 и 0,05 мг/кг в течение 6 дней), выживаемость была практически такой же — 45, 35 и 40% соответственно. В группе, получавшей зовиракс, выживаемость составила 50%, т. е. и при данной постановке эксперимента защитного эффекта примененных препаратов не наблюдалось.

Таким образом, исследование противовирусного действия вещества II не позволяет утверждать, что он дает выраженный защитный эффект. Однако следует отметить, что условия данного эксперимента были жесткими. В результате этого даже специфический антигерпетический препарат "Ацикловир" оказался малоэффективным.

Обсуждение

Способность изученных соединений нормализовать показатели неспецифической резистентности у животных, в частности активность НК-клеток, а также способность клеток различных органов и тканей синтезировать цитокины могут обуславливать их противовирусную активность.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что применение изучаемых соединений приводило к повышению активности НК-клеток и продукции α - и γ -интерферонов спленоцитами мышей, сниженных под влиянием эмоционально-двигательного стресса. Данный факт, вероятно, связан с тем, что введение исследуемых соединений, в частности γ -L-Glu-NA (I), достоверно повышает содержание кортизола и его предшественников в сыворотке крови [5]. Выброс гормонов коры надпочечников служит сигналом для активации иммунной системы и является механизмом, сопрягающим процессы в костном мозге со стресс-лимитирующими реакциями [3]. Такие изменения гомеостаза организма при введении исследуемых соединений приводят к повышению резистентности, что в данной работе проявилось в их противовирусной активности. Эффект исследуемых соединений был наиболее выражен при экспериментальной гриппозной инфекции у мышей.

В меньшей степени противовирусная активность выявлена при экспериментальном герпетическом энцефалите мышей. Тот факт, что изучаемые вещества обнаруживают достоверную противовирусную активность в отношении вируса гриппа и значительно менее активны против вирусов герпеса простого, свидетельствует об определенной избирательности исследуемых веществ в отношении вируса гриппа. Аналогичная избирательность в отношении влияния на вирусы прослеживается при применении ремантадина, противовирусная активность которого проявляется в отношении вирусов гриппа А и связана с блокадой включения вируса в клетку хозяина и высвобождения вирусного генома в клетке.

В связи с высокой вариабельностью вирусов гриппа, а соответственно и высокой их эпидемичностью, разработка противогриппозных средств ведется как для химиопрофилактики, так и для химиотерапии. В 1-м случае препараты должны применяться длительно (в период эпидемии или сезонно), во 2-м случае они должны обладать способностью купировать инфекцию, т. е. быть высокоэффективными.

Таким образом, исследуемые соединения, особенно II (глутарилгистамин), могут найти применение как для лечения вирусных заболеваний, так и в качестве профилактических средств. Учитывая относительно быстрое развитие резистентности вирусов гриппа к действию лекарств, введение в практику новых препаратов расширит спектр противогриппозных средств и возможность маневра при выработке тактики борьбы с инфекцией.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ашмарин И. П., Воробьева А. Л. Статистические методы в микробиологических исследованиях. — Л., 1962. — С. 180.
2. Евстигнеева Р. П., Желтухина Г. А., Огерь Г. А., Небольсин В. Е. Синтез псевдопептидов на основе биогенных аминов // Докл. АН. — 1995. — Т. 345. — С. 493–495.
3. Маянский А. Н., Пикуза О. И. Клинические аспекты фагоцитоза. — Казань, 1993.
4. Небольсин В. Е., Желтухина Г. А., Евстигнеева Р. П. Патент РФ № 2141423 от 23.11.99, приоритет от 4.07.97.
5. Небольсин В. Е., Кржечковская В. В., Желтухина Г. А. и др. Влияние ψ -L-глутамилгистамина на изменение тяжести проявлений экспериментальной анафилактической реакции, гормонального статуса и системы цитохрома P-450 печени // Вопр. мед. химии. — 1999. — Т. 45. — С. 483–488.
6. Поляков Н. В., Соколова Н. С. Практическое пособие по медицинской статистике. — Л., 1975. — С. 83.
7. Сухих Т. Г., Носик Н. Н., Паршина О. В. и др. Взаимоотношение системы естественной клеточной цитотоксичности и системы интерферона при иммобилизационном стрессе // Бюл. exper. биол. — 1984. — С. 593–595.
8. Biron C. A., Nguyen K. B., Pien G. C. et al. Natural killer cells in antiviral defence function and regulation by innate cytokines // Annu. Rev. Immunol. — 1999. — Vol. 17. — P. 189–220.
9. Gosselin J., Tomolu A., Gallo R. C., Flamand L. Interleukin-15 as an activator of natural killer cell-mediated antiviral response // Blood. — 1999. — Vol. 94, N 12. — P. 4210–4219.
10. Nossik N. N., Boppegamage S. A., Yershov F. I. Properties of interferons produced by different cell populations // Acta Microbiol. Hung. — 1988. — Vol. 35, N 4. — P. 397–403.
11. Salazar-Mather T. P., Hamilton T. A., Biron C. A. A chemokine-to-cytokine-to-chemokine cascade critical in antiviral defence // J. Clin. Invest. — 2000. — Vol. 105, N 7. — P. 985–993.