



Д.И.ИВАНОВСКИЙ

ВОПРОСЫ ВИРУСОЛОГИИ

PROBLEMS OF VIROLOGY

3

2012



ИЗДАТЕЛЬСТВО
"МЕДИЦИНА"

ISSN 0507-4088



9 770507 408005

В. В. Зарубаев¹, А. В. Слита¹, А. К. Сироткин¹, С. В. Беляевская¹, В. Е. Небольсин², Д. В. Рейхарт³,
О. И. Киселев¹

Влияние Ингавирина® на ультраструктурные особенности морфогенеза аденовирусной инфекции *in vivo*

¹ФГБУ НИИ гриппа Минздравсоцразвития России, Санкт-Петербург; ²ОАО «Валента Фарм», Москва;
³Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова

Целью настоящего исследования была оценка влияния Ингавирина® на морфологические особенности очагов аденовирусного гепатита у сирийских хомяков при помощи электронной микроскопии. Показано, что использование препарата приводит к существенному снижению интенсивности деструктивных процессов и воспалительных реакций в печени, нормализуя ее структуру на уровне организации как ткани в целом, так и отдельных гепатоцитов. Морфогенез аденовирусной инфекции в инфицированных гепатоцитах в присутствии Ингавирина® не отличается от такового в контроле, однако количество инфицированных клеток было меньше. Доля морфологически неполноценных вирионов на фоне Ингавирина® возросла с 35 до 46%. Полученные результаты позволяют рассматривать Ингавирин® как эффективный препарат, оказывающий противовирусное, противовоспалительное и цитопротективное действие в очаге аденовирусного поражения ткани.

Ключевые слова: аденовирус, вирусный гепатит, Ингавирин®, противовирусные препараты, электронная микроскопия

Effect of Ingavirin® on the ultrastructure of the morphogenesis of adenovirus infection *in vivo*

V. V. Zarubayev¹, A. V. Slita¹, A. K. Sirotkin¹, S. V. Belyaevskaya¹, V. E. Nebolsin², D. V. Reikhart³, O. I. Kiselev¹

¹Research Institute of Influenza, Ministry of Health and Social Development of Russia, Saint Petersburg;
²OAO Valenta Pharm, Moscow; ³I. M. Sechenov First Moscow State Medical University

The goal of this study was to evaluate the effect of Ingavirin® on the morphological features of the foci of adenovirus hepatitis in Syrian hamsters by electron microscopy. The use of the drug was shown to cause a substantial reduction in the rate of destructive processes and inflammatory reactions in the liver, by normalizing its structure at the levels of both tissue and individual hepatocytes. After administration of Ingavirin®, the morphogenesis of adenovirus infection in the infected hepatocytes did not differ from that in the controls; however, the infected cells were fewer. The proportion of morphologically inadequate virions in the presence of Ingavirin® increased from 35 to 46%. The findings suggest that Ingavirin® is an effective drug that has antiviral, anti-inflammatory, and cytoprotective activities in the focus of adenovirus tissue involvement.

Key words: adenovirus infection, viral hepatitis, Ingavirin®, antivirals, electron microscopy

Проблема поиска химиопрепаратов, способных эффективно подавлять репродукцию аденовирусов и перспективных для практической медицины, весьма важна. Это обусловлено тем, что аденовирусы широко распространены, вызывают разнообразные по клиническим проявлениям и часто тяжело протекающие заболевания и, кроме того, устойчивы к большинству уже известных препаратов, эффективных в отношении других ДНК-геномных вирусов. У иммунокомпетентных пациентов аденовирусная инфекция протекает относительно легко, однако представляет серьезную угрозу для людей с иммунодефицитом, приводя к тяжелым последствиям вплоть до летального исхода [17].

Официально рекомендованные препараты для лечения аденовирусной инфекции в настоящее время отсутствуют [5]. Ряд аналогов нуклеотидов проявлял активность *in vitro* в отношении аденовируса [12, 13]. Данные о противовирусной активности широко распространенного препарата Рибавирина противоречивы и свидетельствуют о его активности [7, 29], слабой активности [14] или отсутствии антиаденовирусной активности [8, 22]. Ганцикловир проявлял эффективность как *in vitro*, так и *in vivo* [9, 30]. Цидо-

фовир, разработанный на основе (S)-1-(3-гидрокси-2-фосфонилметоксипропил) цитозина, характеризовался высоким уровнем противовирусной активности [16, 18–20, 26–28]. Все три нуклеотидных аналога были использованы для терапии аденовирусных патологий человека, включая гепатиты, циститы и пневмонии при иммунодефицитных состояниях у реципиентов органов [7–9, 29]. Серьезные побочные эффекты и появление устойчивых штаммов аденовируса ограничивают их использование [10, 16, 26].

Рост вируса в клеточной культуре может быть ингибирован катехинами зеленого чая [31], хотя и в высоких концентрациях. Другие классы соединений – имидазохинолинамины [25], липиды [21], акридоны [32], другие аналоги нуклеозидов [6, 12, 13, 23, 24, 33] – также обладают антиаденовирусной активностью.

В отношении препаратов интерферона следует сказать, что аденовирусы обладают эффективными механизмами подавления интерферониндуцированного ответа [34], поэтому устойчивы к действию интерферона и его индукторов и не могут считаться основным средством терапии при тяжелых случаях инфекции.

Ранее нами была продемонстрирована ингибирую-

шая активность имидазолэтанамида пентандиовой кислоты (препарат Ингавирин®) против аденовируса человека в опытах на культуре клеток [2] и модели генерализованной аденовирусной инфекции у сирийских хомяков [4]. Целью настоящего исследования было изучение влияния Ингавирина® на ультраструктурные особенности морфогенеза аденовирусной инфекции в печени лабораторных животных при помощи электронной микроскопии для более детальной характеристики его протекторной активности.

Материалы и методы

Препараты. В работе применяли препарат Ингавирин® производства ОАО «Валента Фарм», Россия. Аликвоты препарата разводили в среде Игла MEM для клеточных культур («БиолоГ», Санкт-Петербург, кат. # 1.3.3). Из полученного раствора были приготовлены необходимые разведения на среде MEM для экспериментов на животных.

Вирусы. Был использован аденовирус человека типа 5. Вирус пассировали в клетках Пер-2 при 36°C в атмосфере 5% CO₂.

Животные. С целью воспроизведения аденовирусной инфекции у лабораторных животных использовали новорожденных сирийских хомяков, у которых этот вирус, по ранее полученным нами данным [33], вызывал диссеминированную вирусную инфекцию, протекающую с поражением печени, легких и сердца. Новорожденных хомяков получали от половозрелых родителей и использовали в опытах через 12–24 ч после рождения. Подбор животных в группы опыта проводили методом случайной выборки.

Экспериментальная аденовирусная инфекция. Вирус вводили животным подкожно в объеме 0,1 мл и дозе 10⁵ ТЦИД₅₀. В каждую группу наблюдения брали по 4–6 хомяков. Препарат вводили подкожно в объеме 0,1 мл через 12, 36 и 60 ч после инфицирования. Суточная доза Ингавирина® составила 30 мг на 1 кг массы животного. В качестве плацебо животным контрольной группы вводили физиологический фосфатный бу-

фер. В качестве отрицательного контроля использовали интактных животных, которые содержались в тех же условиях, что и опытные группы. Через 72 ч после заражения животных из каждой группы умерщвляли, вскрывали и изолировали печень. Участки поражения печени размером 1 × 1 мм вырезали, измельчали лезвием в капле холодного 2,5% глутарового альдегида на какодилатном буфере и хранили при 4°C.

Электронно-микроскопические исследования. Кусочки ткани фиксировали 2,5% раствором OsO₄, обезжировали ацетоном в возрастающей концентрации и заливали в смесь эпон/аралдит. Ультратонкие срезы, полученные на ультрамикротоме Ultracut («Reichert», Австрия), контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца и просматривали на электронном микроскопе JEM-100S («JEOL», Япония) при инструментальном увеличении 2000–20 000. Фотосъемку производили на пленку ФТ-41МД.

На полученных фотографиях проводили подсчет вирионов, имеющих электронно-плотную сердцевину, не имеющих ее или имеющих не полностью. Подсчитывали количество внутриклеточных вирионов в поле зрения, а также процентное содержание полноценных и неполноценных вирионов в каждом случае. В каждой группе опыта подсчитывали 15–20 полей зрения, охватывающих 6–8 инфицированных клеток.

Статистическая обработка данных. Статистическую обработку результатов (расчет средних значений и ошибок среднего, а также 50% эффективных доз при помощи линейной регрессии) проводили при помощи программы Microsoft Excel. Достоверность различий оценивали по критерию Стьюдента. Достоверными считали различия между группами, если параметр *p* не превышал 0,05.

Результаты

При электронно-микроскопическом исследовании печени контрольных и инфицированных животных было установлено, что у интактных животных гепатоциты имели неправильно-гексагональную форму. В составе

гепатоцитов идентифицировали синусоидальный и билиарный полосу, обращенные к кровеносному синусоиду и желчному каналу соответственно. Цитоплазматическая мембрана имела многочисленные выросты мембраны – микроворсинки, особенно отчетливо выраженные на синусоидальном полюсе гепатоцита. Гиалоплазма гепатоцитов имела низкую электронную плотность, в ее составе различались гранулы, фибриллы и пузырьки. Цитоплазматические органеллы – митохондрии, комплекс Гольджи, гладкий и шероховатый эндоплазматический ретикулум (ЭПР) – идентифицировались четко и имели интактную структуру. Ядро располагалось в центральной части гепатоцита, было округлым и имело хорошо заметную ядерную оболочку, немногочис-

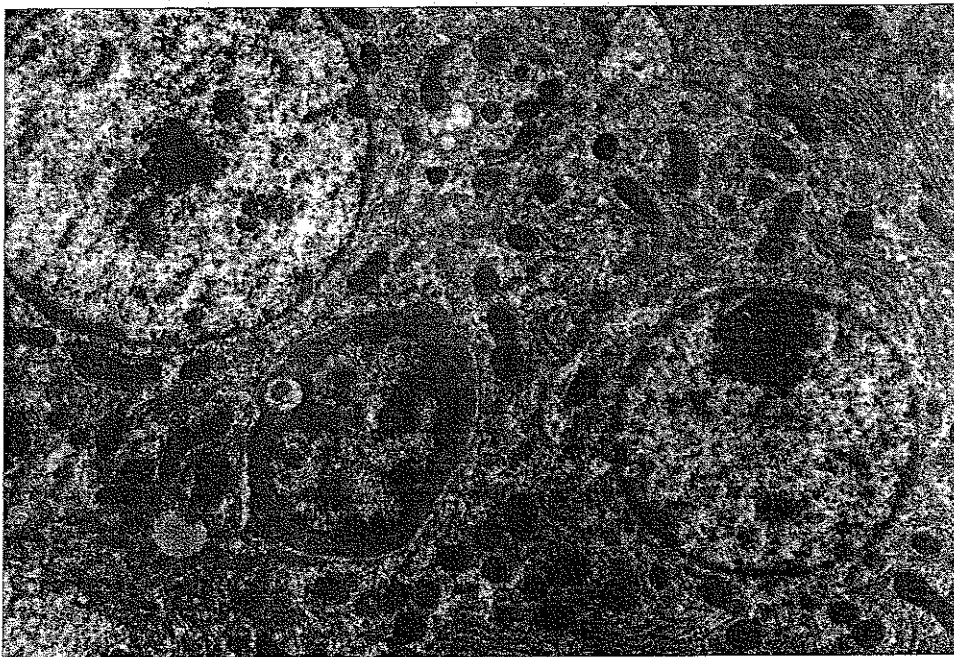


Рис. 1. Гепатоциты и купферовская клетка печени интактного животного. Органеллы выражены четко, вакуолизация клеток отсутствует. Ув. 5000.

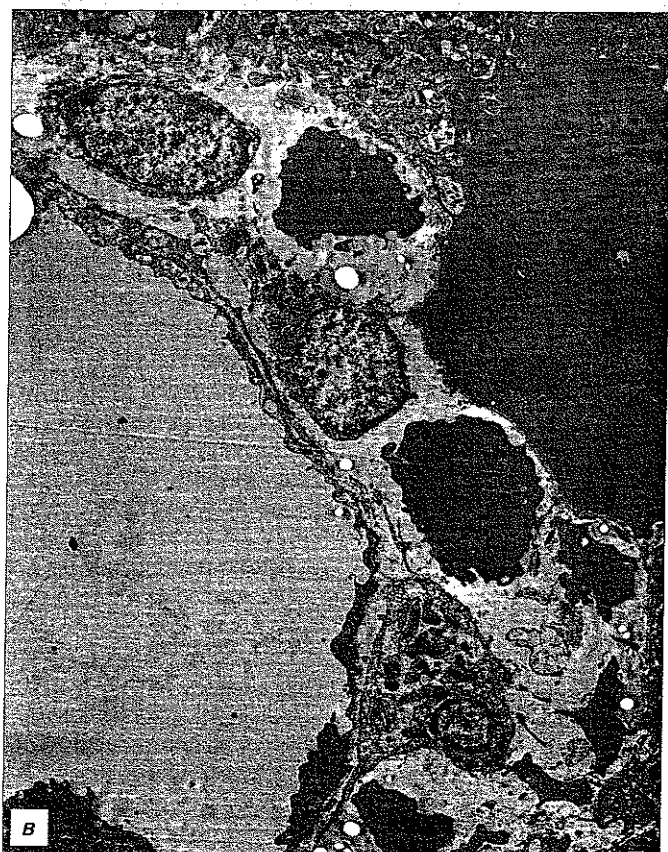
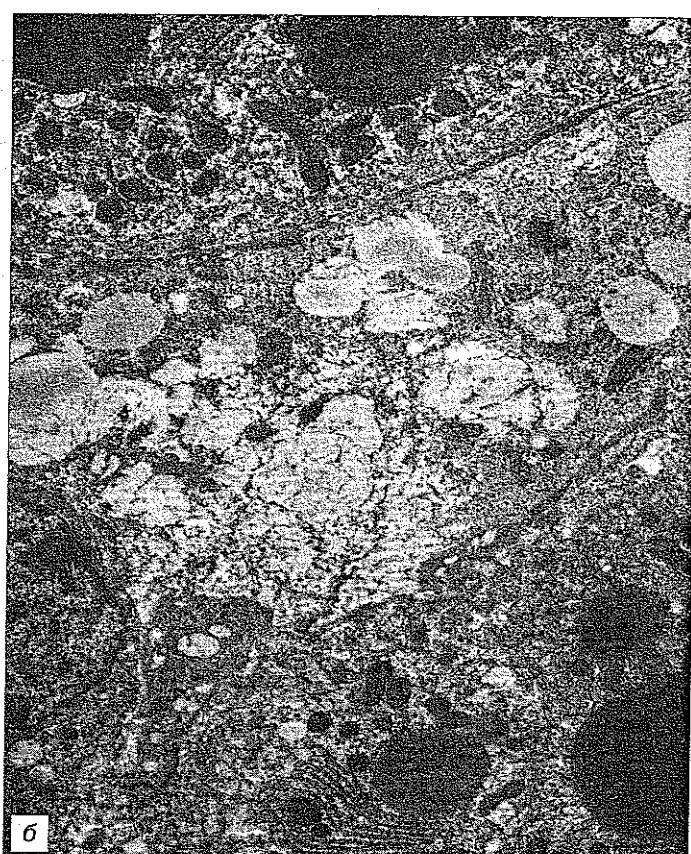


Рис. 2. Неспецифическая деструкция печени новорожденных сирийских хомячков на 3-и сутки после инфицирования аденовирусом человека типа 5.

Вакуолизация цитоплазмы гепатоцита и деструкция органелл (а); разрушающийся гепатоцит в окружении морфологически интактных клеток (б); расширение синусоидного капилляра и многочисленные клетки воспалительного инфильтрата в пространстве Диссе (в). Ув. 4000 (а), 2000 (б, в).

и очаговым лизисом ЭПР (рис. 2, а). В цитоплазме отдельных гепатоцитов наблюдались мегааутофагосомы.

На определенных стадиях деградации гепатоцитов выявлялись изолированные ядра, когда цитоплазма клеток разрушалась и ее остатки обнаруживались в просветах синусоидов. В некоторых ядрах отмечены признаки апоптоза в виде пикноза и конденсации хроматина.

Митохондрии часто были вакуолизированы или фрагментированы, кристы – разрушены.

Контакты между гепатоцитами были представлены расширенными щелями, просвет которых был заполнен детритом, лизосомами и остатками клеточных органелл (рис. 2, б). Синусоидные капилляры были сильно расширены и часто заполнены остатками разрушающихся гепатоцитов. Вследствие нарушения барьерной функции эндотелиальных клеток в пространстве Диссе выявлялись многочисленные клетки лимфоидно-моноцитарного ряда (рис. 2, в). Об активации лимфоцитов и макрофагов можно было судить по наличию у них значительного числа микроворсинок. По-видимому, дилатация синусоидных капилляров, происходящая при вирусной инфекции, играет компенсаторную роль, улучшая кровоснабжение ткани печени и обеспечивая приток иммунокомпетентных клеток в очаг вирусного поражения.

Помимо неспецифических признаков деструкции

ленные мелкие глыбки хроматина содержали от 1 до 4 округлых ядрышек (рис. 1).

При инфицировании животных аденовирусом морфология печени существенно изменялась. В первую очередь это касалось появления обширных участков вакуолизации гепатоцитов, обусловленного расширением

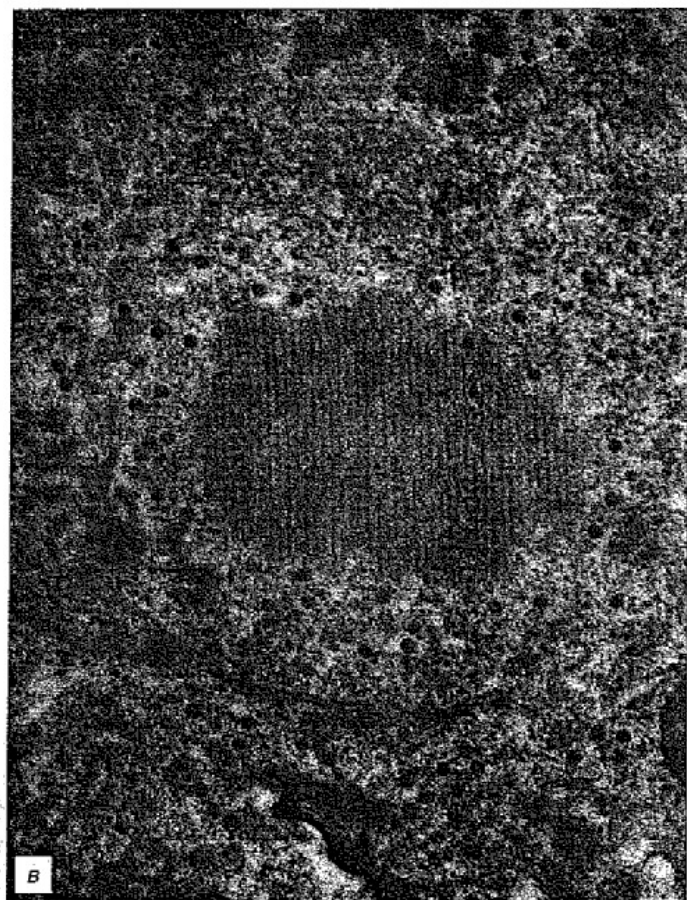
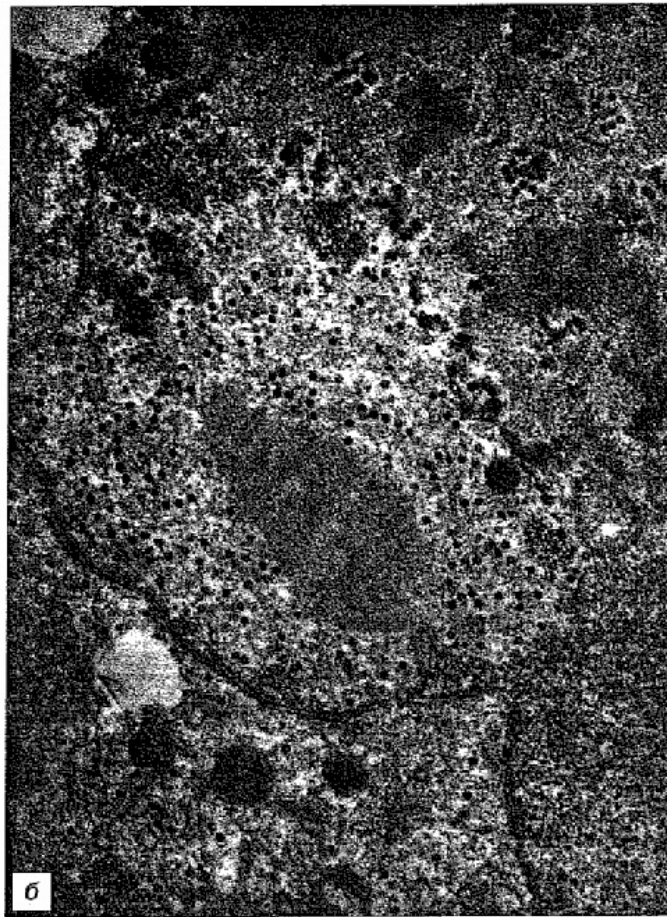
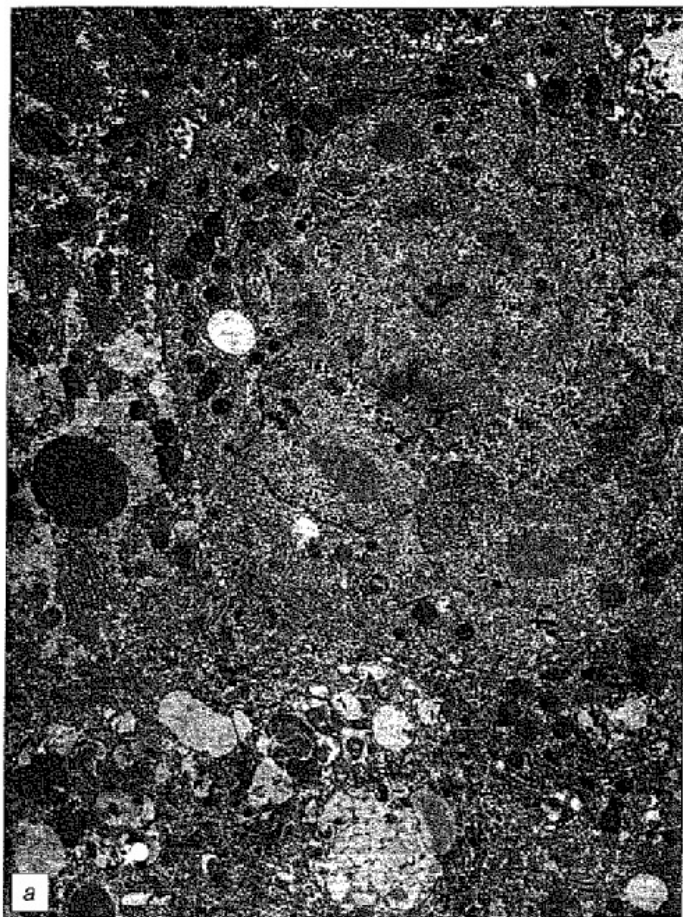


Рис. 3. Репликация аденовируса в гепатоцитах новорожденных сирийских хомяков на 3-и сутки после инфицирования.

Вакуолизация цитоплазмы гепатоцита и ядро с типичными вирусными включениями (а); многочисленные вирионы аденовируса в составе включений (б); паракристаллическое белковое включение в ядре гепатоцита (в). Ув. 3000 (а), 10000 (б), 15000 (в).

белковые паракристаллы и многочисленные вирионы аденовируса в ядре и цитоплазме (рис. 3).

Применение Ингавирина® при экспериментальной аденовирусной инфекции приводило к выраженной нормализации структуры печени. Так, гепатоциты инфицированных животных, получавших Ингавирин®, не проявляли признаки распада, вакуолизации цитоплазмы, деструкции органелл или перераспределения хроматина в ядре (рис. 4, а). Апоптотические клетки практически отсутствовали. Просветы капиллярных синусов и пространства Диссе были сходны по размерам с таковыми у интактных животных, при этом в составе клеток крови, заполняющих синусы, практически отсутствовали лимфоциты и другие клетки, характерные для очагов воспаления (рис. 4, б). Клеточные органеллы выглядели интактными, признаки вакуолизации митохондрий, деструкции или дезорганизации крист, расширения цистерн аппарата Гольджи или ЭПР не обнаружены.

Клетки, имеющие специфические признаки вирусной репликации – включения в ядре или вирионы и белковые паракристаллы в ядре и цитоплазме, отмечались гораздо реже, чем в печени контрольных животных. В то же время различия в ультраструктурных особенностях морфогенеза аденовирусной инфекции между животными, получавшими Ингавирин®, и контрольными

печеночной паренхимы обнаруживали также гепатоциты, содержащие в ядре типичные структурированные вирусные включения в поздних стадиях развития,

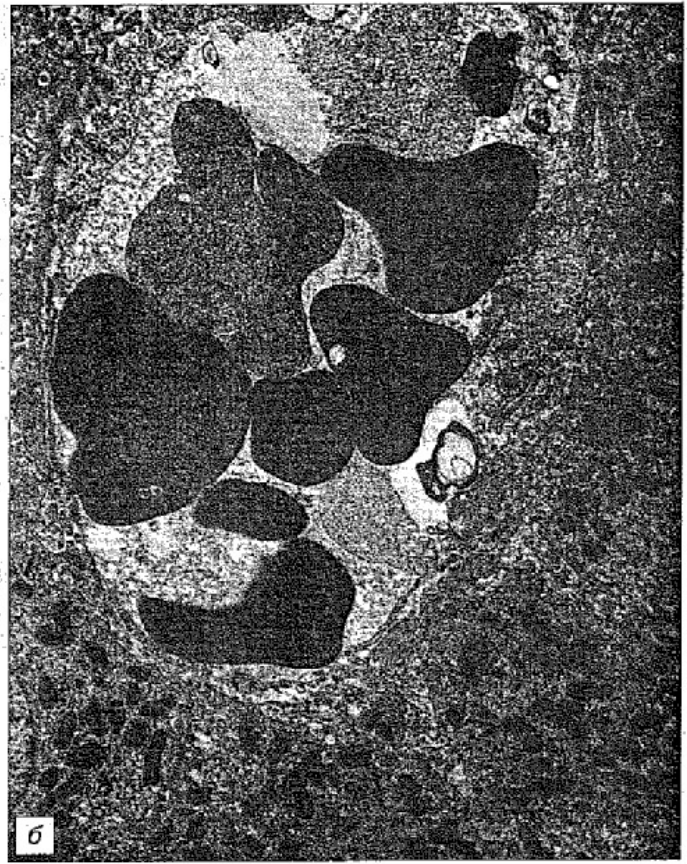
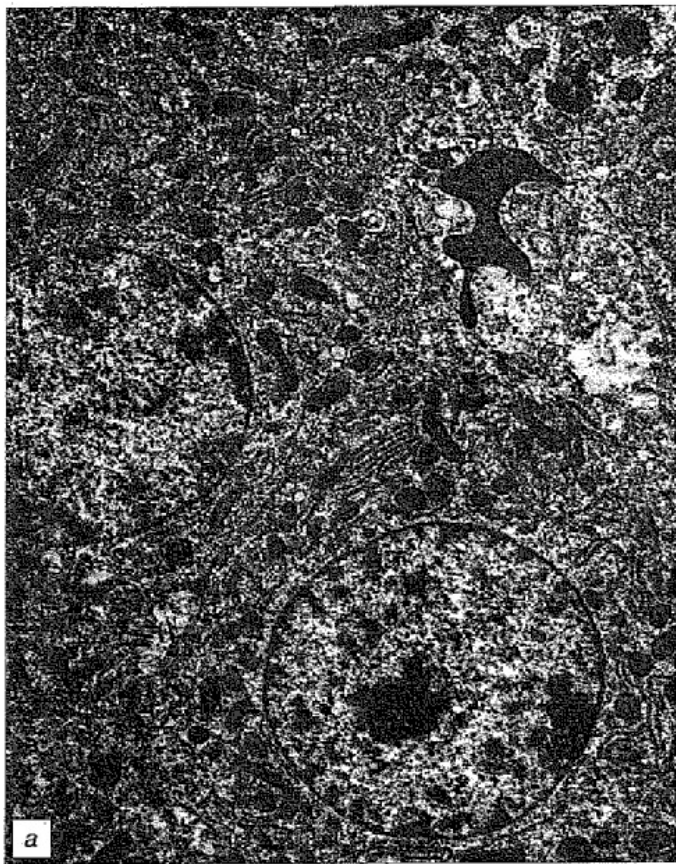


Рис. 4. Структура печени новорожденных сирийских хомяков, инфицированных аденовирусом человека типа 5, в условиях применения Ингавирина®.

Интактные гепатоциты, умеренное количество детрита в просвете синусного капилляра (а); просвет синусоидного капилляра с эритроцитами при отсутствии клеток иммунной системы (б). Ув. 3000.

ными животными, отсутствовали. Структура включений, локализация и количество вирионов в пересчете на инфицированную клетку в этих группах животных были сходными (рис. 5). Основным различием была большая доля пустых капсидов в гепатоцитах животных, прошедших лечение Ингавирином®, по сравнению с животными контрольной группы (см. таблицу). В отношении этой тенденции полученные результаты согласуются с ранее полученными данными о способности Ингавирина® нарушать процессы упаковки вирусного генома и сборки вирионов аденовируса.

Для количественной оценки действия Ингавирина® на морфогенез аденовирусной инфекции в гепатоцитах был проведен подсчет морфологически полноценных и неполноценных вирусных частиц (см. таблицу).

Как видно из представленных результатов, через 3 сут после инфицирования животных среди вирусного потомства присутствовали как морфологически полноценные вирионы, так и вирионы, не содержащие сердцевину. Использование Ингавирина® приводило к повышению количества морфологически неполноценных вирионов с 18 до 33 в поле зрения, что отражалось в снижении доли морфологически полноценных частиц с 65 до 52%.

Аденовирусная инфекция человека может быть смоделирована на животных в виде респираторной патологии только в форме пневмонии у хлопковых крыс [15]. Однако такая модель не получила широкого распространения из-за трудностей обращения с этими животными. В связи с этим исследования, посвященные поиску и разработке противовирусных соединений, ве-

дутся на моделях, затрагивающих не органы дыхания, а печень [33] или органы зрения [11, 15]. В своем исследовании мы использовали ранее разработанную модель аденовирусной генерализованной инфекции новорожденных сирийских хомяков, наиболее наглядно проявляющейся в форме вирусного гепатита. На этой модели было показано, что использование препарата приводит к существенному снижению интенсивности деструктивных процессов и воспалительных реакций в печени, нормализуя ее структуру на уровне организации как ткани в целом, так и отдельных гепатоцитов. Показано также, что применение Ингавирина® вызывает некоторое повышение доли незрелых вирусных частиц среди вирионов потомства. В ранее проведенных исследованиях [4] была продемонстрирована способность Ингавирина® ограничивать размеры очагов аденовирусного гепатита у хомяков и приблизительно

Морфологический состав популяции аденовируса человека типа 5, сформировавшейся в условиях применения Ингавирина® в гепатоцитах новорожденных сирийских хомяков

Группа опыта	Количество вирусных частиц в поле зрения			
	с сердцевиной		без сердцевины	
	абс.	%	абс.	%
Получавшие Ингавирин®	37,5 ± 4,8 (p = 0,542)	51,8 ± 3,6 (p = 0,001)	32,7 ± 3,6 (p = 0,001)	45,5 ± 3,1 (p = 0,012)
Контроль без препаратов	32,8 ± 3,2	64,8 ± 1,2	17,8 ± 1,6	35,2 ± 1,2

трехкратно уменьшать число клеток с признаками вирусной репликации в пределах таких очагов. Таким образом, полученные в настоящем исследовании данные согласуются с ранее полученными.

Несмотря на различия гистологической организации тканей печени и легких и патологических процессов, происходящих при пневмонии и аденовирусном гепатите, представленные данные в целом согласуются с результатами изучения активности Ингавирина® на моделях у животных с вирусной респираторной патологией – гриппозной, РС-вирусной и парагриппозной пневмонией у мышей и хомяков [1, 3]. Во всех случаях действие Ингавирина® заключалось в значительном угнетении цитопатических, в том числе цитодеструктивных, процессов, а также в снижении уровня воспалительной реакции, включая клеточную инфильтрацию ткани, что в результате приводило к нормализации структуры пораженного органа. В печени животных, получавших Ингавирин®, клетки с признаками репликации аденовируса встречались реже, чем в контрольных группах, однако структура самих вирусных включений практически не отличалась. Можно предполагать, что, помимо нарушения процесса упаковки вирусного генома в капсиды, Ингавирин® в значительной степени препятствует инфицированию гепатоцитов аденовирусом.

Полученные результаты позволяют рассматривать Ингавирин® как эффективный препарат, оказывающий противовирусное, противовоспалительное и цитопротекторное действие в очаге аденовирусного поражения ткани.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зарубаев В. В., Кривичкая В. З., Небольсин В. Е., Киселев О. И. Экспериментальное исследование противовирусной активности Ингавирина против вируса парагриппа человека // Антибиотики и химиотер. – 2010. – Т. 55, № 7–8. – С. 13–16.
2. Зарубаев В. В., Слита А. В., Сироткин А. К. и др. Экспериментальное изучение противовирусной активности Ингавирина в отношении аденовируса человека // Антибиотики и химиотер. – 2010. – Т. 55, № 9–10. – С. 19–24.
3. Зарубаев В. В., Гаришина А. В., Калинина Н. А. и др. Протективная активность препарата Ингавирин при экспериментальной летальной гриппозной инфекции белых мышей, вызванной пандемическим вирусом гриппа А(Н1N1) // Антибиотики и химиотер. – 2010. – Т. 55, № 5–6. – С. 24–31.
4. Зарубаев В. В., Слита А. В., Беллевская С. В. и др. Противовирусная активность Ингавирина на модели экспериментальной диссеминированной аденовирусной инфекции у животных // Вопр. вирусол. – 2011. – № 6. – С. 23–27.
5. Abed Y., Botvin G. Treatment of respiratory virus infections // Antiviral Res. – 2006. – Vol. 70, N 2. – P. 1–16.
6. Alexeeva I., Dyachenko N., Nosach L. et al. 6-azacytidine-compound with wide spectrum of antiviral activity // Nucleosid. Nucleotid. Nucleic Acids. – 2001. – Vol. 20, N 4–7. – P. 1147–1152.
7. Arav-Boger R., Echavarría M., Forman M. et al. Clearance of adenoviral hepatitis with rabavirin therapy in a pediatric liver transplant recipient // Pediatr. Infect. Dis. J. – 2000. – Vol. 19, N 11. – P. 1097–1100.

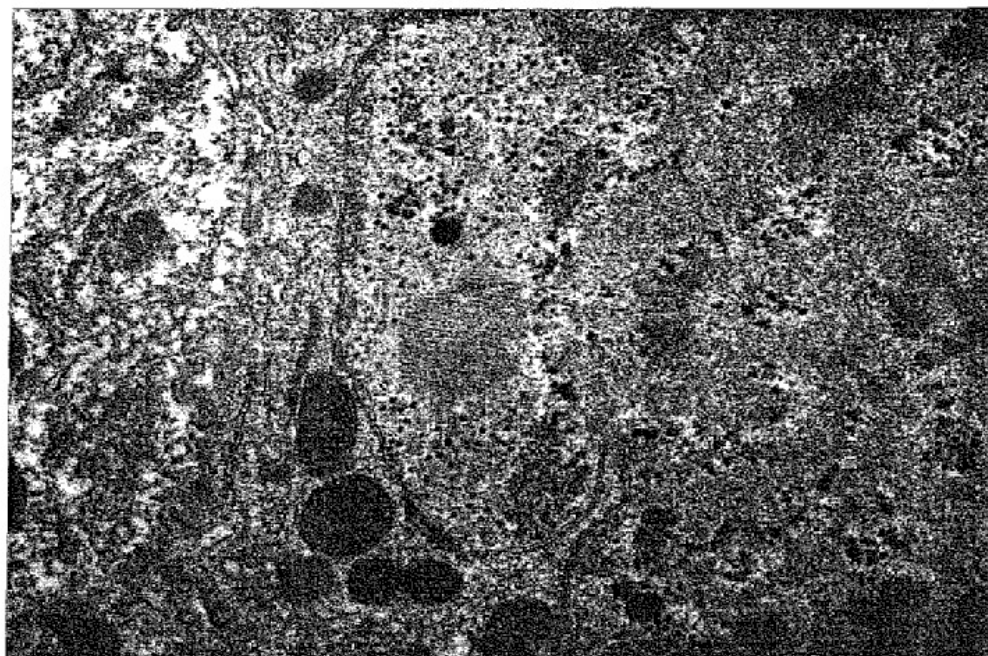


Рис. 5. Репликация аденовируса в гепатоцитах новорожденных сирийских хомяков на 3-и сутки после инфицирования в условиях применения Ингавирина®.

Слабовыраженная вакуолизация цитоплазмы, развитые ядерные включения и вирионы в ядре клетки. Ув. 8000.

8. Bordigoni P., Carret A. S., Venard Y. et al. Treatment of adenovirus infections in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation // Clin. Infect. Dis. – 2001. – Vol. 32, N 9. – P. 1290–1297.
9. Chen F. E., Liang R. H., Lo J. Y. et al. Treatment of adenovirus-associated haemorrhagic cystitis with ganciclovir // Bone Marrow Transplant. – 1997. – Vol. 20, N 11. – P. 997–999.
10. Coca S., Perazella M. A. Rapid communication: acute renal failure associated with tenofovir: evidence of drug-induced nephrotoxicity // Am. J. Med. Sci. – 2002. – Vol. 324, N 6. – P. 342–344.
11. Cook S. D. Antiviral agents for ocular adenovirus infections // Eye (Lond.). – 1993. – Vol. 7, N 3 (suppl.). – P. 18–20.
12. Das A., Trousdale M. D., Ren S., Lien E. J. Inhibition of herpes simplex virus type 1 and adenovirus type 5 by heterocyclic Schiff bases of aminohydroxyguanidine tosylate // Antiviral Res. – 1999. – Vol. 44, N 3. – P. 201–208.
13. De Clercq E., Sakuma T., Baba M. et al. Antiviral activity of phosphonylmethoxyalkyl derivatives of purines and pyrimidines // Antiviral Res. – 1987. – Vol. 8, N 5–6. – P. 261–272.
14. Gavin P. J., Katz B. Z. Intravenous ribavirin treatment for severe adenovirus disease in immunocompromised children // Pediatrics. – 2002. – Vol. 110, N 1, pt 1. – P. 1–8.
15. Gordon Y. J., Romanowski E., Araullo-Cruz T. An ocular model of adenovirus type-5 infection in the NZ rabbit // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 1992. – Vol. 33. – P. 574–580.
16. Gordon Y. J., Naesens L., De Clercq E. et al. The treatment of adenoviral conjunctivitis with topical cidofovir // Cornea. – 1996. – Vol. 15, N 5. – P. 546.
17. Hierholzler J. C. Adenoviruses in the immunocompromised host // Clin. Microbiol. Rev. – 1992. – Vol. 5. – P. 262–274.
18. Hillenkamp J., Reinhard T., Ross R. S. et al. The effect of cidofovir 1% with and without cyclosporin A 1% as a topical treatment of acute adenoviral keratoconjunctivitis: a controlled clinical pilot study // Ophthalmology. – 2002. – Vol. 109, N 5. – P. 845–850.
19. Hütchcock M. J. M., Jaffe H. S., Martin J. C., Stagg R. J. Cidofovir, a new agent with potent anti-herpesvirus activity // Antiviral Chem. Chemother. – 1996. – Vol. 7, N 3. – P. 115–127.
20. Hoffman J. A., Shah A. J., Ross L. A., Kapoor N. Adenoviral infections and a prospective trial of cidofovir in pediatric hematopoietic stem cell transplantation // Biol. Blood Marrow Transplant. – 2001. – Vol. 7, N 7. – P. 388–394.
21. Kaneko H., Kato K., Mori S., Shigeta S. Antiviral activity of NMSO3 against adenovirus *in vitro* // Antiviral Res. – 2001. – Vol. 52, N 3. – P. 281–288.
22. La Rosa A. M., Champlin R. E., Mirza M. et al. Adenovirus infections in adult recipients of blood and marrow transplants // Clin. Infect. Dis. – 2001. – Vol. 32, N 6. – P. 871–876.

23. *Mentel R., Kinder M., Wegner U. et al.* Inhibitory activity of 3-fluoro-2-deoxythymidine and related nucleoside analogues against adenoviruses *in vitro* // *Antiviral Res.* – 1997. – Vol. 34, N 3. – P. 113–119.
24. *Naesens L., Lenaerts L., Andrei G. et al.* Antiadenovirus activities of several classes of nucleoside and nucleotide analogues // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2005. – Vol. 49. – P. 1010–1016.
25. *Rautenschlein S., Miller R. L., Sharma J. M.* The inhibitory effect of the imidazoquinolinamine S-28828 on the pathogenesis of a type II adenovirus in turkeys // *Antiviral Res.* – 2000. – Vol. 46, N 3. – P. 195–205.
26. *Romanowski E. G., Gordon Y. J., Araullo-Cruz T. et al.* The antiviral resistance and replication of cidofovir-resistant adenovirus variants in the New Zealand white rabbit ocular model // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2001. – Vol. 42, N 8. – P. 1812–1815.
27. *Romanowski E. G., Yates K. A., Gordon Y. J.* Antiviral prophylaxis with twice daily topical cidofovir protects against challenge in the adenovirus type 5/New Zealand rabbit ocular model // *Antiviral Res.* – 2001. – Vol. 52, N 3. – P. 275–280.
28. *Safrin S., Cherington J., Joffe H. S.* Cidofovir. Review of current and potential clinical uses // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 1999. – Vol. 458. – P. 111–120.
29. *Shetty A. K., Gans H. A., So S. et al.* Intravenous ribavirin therapy for adenovirus pneumonia // *Pediatr. Pulmonol.* – 2000. – Vol. 29, N 1. – P. 69–73.
30. *Trousdale M. D., Goldschmidt P. L., Nobrega R.* Evaluation of ganciclovir against human adenovirus type 5 infection in cell culture and cotton rat eyes // *Antiviral Res.* – 1993. – Vol. 20 (suppl. 1). – P. 48.
31. *Weber J. M., Ruzindana-Umunyana A., Imbeault L., Sircar S.* Inhibition of adenovirus infection and adenain by green tea catechins // *Antiviral Res.* – 2003. – Vol. 58, N 2. – P. 167–173.
32. *Zarubaev V. V., Slita A. V., Krivitskaya V. Z. et al.* Direct antiviral effect of cycloferon (10-carboxymethyl-9-acridanone) against adenovirus type 6 *in vitro* // *Antiviral Res.* – 2003. – Vol. 58, N 2. – P. 131–137.
33. *Zarubaev V. V., Slita A. V., Sukhinin V. P. et al.* Effect of 6-azacytidine on the course of experimental adenoviral infection in newborn Syrian hamsters // *J. Chemother.* – 2007. – Vol. 19, N 1. – P. 44–51.
34. *Zhang Y., Schneider R. J.* Adenovirus inhibition of cellular protein synthesis and the specific translation of late viral mRNAs // *Semin. Virol.* – 1993. – Vol. 4. – P. 229–236.

Поступила 24.01.12

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2012
УДК 615.276.4.03:616.921.5].076.9

В. С. Смирнов¹, В. В. Зарубаев², П. М. Анфимов², А. А. Штро²

Влияние комбинации глутамил-триптофана с глицирризиновой кислотой на течение острой инфекции у мышей, вызванной вирусом гриппа (H3N2)

¹ЗАО «ЦитоНИР»; ²ФГБУ НИИ гриппа Минздрава России, Санкт-Петербург

Цель исследования – определить модулирующее действие глутамил-триптофана (EW), глицирризиновой кислоты тринатриевой соли (ГКТС) и их комбинации на течение экспериментальной инфекции, вызванной вирусом гриппа А(H3N2) у мышей. Животные были инфицированы вирусом гриппа А/Aichi/2/68 (H3N2) в дозе 1 или 10 LD₅₀. ГКТС (10 мг на 1 кг массы тела) и EW (0,1, 10 и 1000 мкг/кг) по отдельности и в сочетании друг с другом применяли внутривенно в течение 5 дней, начиная с 1-го дня после заражения вирусом. В качестве препарата сравнения использовали ремантадин в дозе 50 мг/кг. Установлено, что комбинация EW (1000 мкг/кг) и ГКТС (10 мг/кг) оказывала максимальное защитное действие, проявлявшееся снижением смертности инфицированных животных (на 75–79% по сравнению с контролем в зависимости от дозы вируса), титра накопления вируса в легких (5–6 lg ЭИД₅₀), а также предотвращением отека и воспаления ткани легких. Отмеченный эффект был сопоставим с таковым при применении ремантадина. Монопрепараты обладали меньшей эффективностью по сравнению с ремантадином. Полученные результаты позволяют рассматривать комбинацию ГКТС + EW как перспективное средство для лечения гриппа.

Ключевые слова: глутамил-триптофан, глицирризиновая кислота, комбинированный препарат, грипп, противовирусные соединения

Effect of a combination of glutamyl-tryptophan and glycyrrhizic acid on the course of acute infection caused by influenza (H3N2) virus in mice

V. S. Smirnov¹, V. V. Zarubaev², P. M. Anfimov², A. A. Shtro²

¹ZAO "CytoNIR"; ²Research Institute of Influenza, Ministry of Health and Social Development of Russia, Saint Petersburg

The purpose of the study was to evaluate the modulating effect of glutamyl-tryptophan (EW), glycyrrhizic acid (GA), and their combination on the course of experimental infection caused by influenza A (H3N2) virus in mice. The animals were infected with influenza A/Aichi/2/68 (H3N2) virus in a dose of 1 or 10 LD₅₀. GA (10 mg/kg body weight) and EW (0.1, 10, and 1000 µg/kg) alone or in combination were intraperitoneally injected for 5 days, starting on day 1 of virus infection. Rimantadine 50 mg/kg/day was used as a comparison drug. The combination of EW (1000 µg/kg) and GA (10 mg/kg) was ascertained to exert the maximum protective effect manifesting itself in reducing the death of infected animals (by 75–79% compared to the control depending on the viral dose) and the titers of viruses accumulated in the lung (5–6 log EID₅₀) and in preventing lung tissue edema and inflammation. The noted effect was comparable with that seen in the use of rimantadine. The agents used alone had a lower efficacy than rimantadine. The findings permit the combination of GA and EW to be considered to be a promising agent for the treatment of influenza.

Key words: glutamyl-tryptophan, glycyrrhizic acid, combined drug, influenza, antivirals

Контактная информация:

Смирнов Вячеслав Сергеевич, д-р мед. наук, проф., гл. науч. сотр.; e-mail: vssmi@mail.ru