

Изучение лечебной эффективности Триазавирина в отношении экспериментальной формы клещевого энцефалита у белых мышей

С. Я. ЛОГИНОВА¹, С. В. БОРИСЕВИЧ¹, В. Л. РУСИНОВ²,
Е. Н. УЛОМСКИЙ², В. Н. ЧАРУШИН², О. Н. ЧУПАХИН², П. В. СОРОКИН³

¹ 48 Центральный НИИ Министерства обороны Российской Федерации, *Сергиев Посад*

² Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б. Н. Ельцина, *Екатеринбург*

³ Уральский центр биофармацевтических технологий, *Екатеринбург*

Investigation of Therapeutic Efficacy of Triazavirin Against Experimental Forest-Spring Encephalitis on Albino Mice

S. YA. LOGINOVA, S. V. BORISEVICH, V. L. RUSINOV, E. N. ULOMSKY, V. N. CHARUSHIN, O. N. CHUPAKHIN, P. V. SOROKIN

Central Research Institute No. 48, Ministry of Defense of the Russian Federation, *Sergiev Posad*

Ural Federal University Named after the First President of Russia B. N. Yeltsin, *Ekaterinburg*

Ural Centre of Biopharmaceutical Technologies, *Ekaterinburg*

Проведённый сравнительный анализ лечебной эффективности Триазавирина в отношении экспериментальной формы клещевого энцефалита у белых мышей и эффективного лекарственного препарата — Рибавирина® выявил, что исследуемый препарат в высоких дозах (200—400 мг/кг) умеренно защищает инфицированных животных. Отмечено значительное увеличение показателя среднего времени жизни животных в опытных группах (от 4,1 до 4,8 суток), а также статистически ($p < 0,05$) значимое снижение уровня накопления вируса в органе-мишени — головном мозге.

Ключевые слова: клещевой энцефалит, Триазавирин, Рибавирин®, лечение, противовирусная эффективность.

The comparative study of the therapeutic efficacy of Triazavirin against experimental Forest-Spring encephalitis on albino mice vs. the active drug Ribavirin® showed that in high doses (200—400 mg/kg) Triazavirin moderately protected the infected animals. A significant increase of the animal lifespan in the test groups (from 4.1 to 4.8 days) and a statistically ($p < 0.05$) valid decrease of the virus accumulation in the target organ (the brain) were observed.

Key words: Forest-Spring encephalitis, Triazavirin, Ribavirin®, therapy, antiviral efficacy.

Введение

В настоящее время эпидемическая обстановка в отношении клещевого энцефалита в Российской Федерации остается напряжённой. Территориально 48 регионов России являются эндемичными в отношении клещевого энцефалита [1]. По данным формам государственной статистической отчётности в 2014 г. зарегистрировано 1978 случаев клещевого энцефалита, из них 225 случаев среди детей. В 2014 г. зарегистрировано 23 летальных исхода от клещевого энцефалита, из них 1 — среди детей. Всего в 2014 году в субъектах Российской Федерации вакцинировано около 3 млн человек, что составило 74% от подлежащих вакцинации лиц, в том числе 64% детей [2].

Однако около 15—20% населения Российской Федерации не могут быть вакцинированы против

клещевого энцефалита в силу наличия иммунодефицита и/или опасности возникновения аллергических реакций после многократной иммунизации. Кроме того, вероятно, недостаточны проводимые дополнительные противоэпидемические мероприятия в регионах Российской Федерации (акарицидные обработки, применение новых средств индивидуальной защиты, внедрение экспресс методов диагностики, гигиеническое воспитание населения), позволяющие снизить уровень заболеваемости среди местного населения. Поэтому наличие отечественного противовирусного химиопрепарата, эффективного в отношении клещевого энцефалита обеспечит дополнительную защиту людей, посещающих эндемичные по этой инфекции районы.

Ранее на первом этапе исследований была выявлена эффективность Триазавирина в культуре клеток [3]. Поэтому было принято решение оценить его терапевтическую активность на лабораторных животных.

© Коллектив авторов, 2015

Адрес для корреспонденции: 141306 Московская обл., Сергиев Посад-б. 48 Центральный НИИ Министерства обороны

Таблица 1. Результаты оценки лечебной эффективности триазавирина на белых мышах, инфицированных возбудителем клещевого энцефалита

Препарат	Доза препарата (суточная), мг/кг	Схема применения препарата	Защита животных от гибели, %	Средняя продолжительность жизни, \bar{X}	Увеличение средней продолжительности жизни, сутки, \bar{X}
Триазабирин	400	+24 ч, +48 ч, +72 ч, +96 ч, +120 ч	50,0	13,6	4,8
	200		45,0	13,2	4,5
	100		40,0	13,0	4,2
	10		30,0	12,9	4,1
Рибавирин	20	+24 ч, +48 ч, +72 ч, +96 ч, +120 ч	30,0	12,4	3,6
Контроль (без препарата)		—	—	8,8	—
Контроль		—	—	15,0	—

Таблица 2. Изучение влияния триазавирина на репродукцию вируса клещевого энцефалита в головном мозге при применении по лечебной схеме

Препарат	Доза препарата (суточная), мг/кг	Схема применения препарата	Уровень накопления вируса в головном мозге, lg БОЕ/мл, $\bar{X} \pm \delta_x$	Уровень снижения репродукции вируса в головном мозге, Δ lg, $\bar{X} \pm \delta_x$
Триазабирин	400	+24 ч, +48 ч, +72 ч, +96 ч, +120 ч	7,0 \pm 0,2	2,4 \pm 0,2
	200		7,1 \pm 0,1	2,3 \pm 0,1
	100		7,5 \pm 0,1	1,9 \pm 0,1
	10		8,8 \pm 0,2	0,6 \pm 0,2
Контроль (без препарата)		—	9,4 \pm 0,1	—

Целью представленной работы являлась терапевтическая оценка эффективности Триазавирина *in vivo* в отношении вируса клещевого энцефалита.

Материал и методы

Вирус. В работе использовали вирус клещевого энцефалита, штамм Софьин. Штамм хранится в Государственной коллекции ФГБУ «48ЦНИИ» Минобороны России.

Культура клеток. Использована постоянная культуры клеток почек свиньи — СПЭВ. В качестве ростовой среды и среды поддержания использовали полусинтетическую среду (ПС-4) на растворе Хенкса, содержащую 7,5 и 2% сыворотки крупного рогатого скота соответственно.

Лабораторные животные. Для моделирования экспериментальной формы клещевого энцефалита использовали белых мышей массой 10–12 г, полученных из вивария ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России. Наблюдение за инфицированными животными проводили в течение 15 суток. Титрование возбудителя КЭ проводили методом негативных колоний с использованием культуры клеток СПЭВ.

Исследуемый препарат. Исследуемый препарат «Триазабирин» предоставлен производителем ООО «Завод Медсинтез», Россия, г. Новоуральск

Контрольный препарат. Рибавирин производства ЗАО «БЕРОФАРМ», Россия.

Оценка противовирусной эффективности используемых лекарственных препаратов осуществлена в соответствии с требованиями Минздрава РФ [4]. Основными критериями оценки эффективности *in vivo* являлись: показатели защиты лабораторных животных от гибели; средняя продолжительность жизни (СПЖ) животных; подавление репродукции вируса в тканях головного мозга.

Результаты и обсуждение

По лечебной схеме триазабирин животным вводили перорально в объёме 50 мкл: через 24 ч после инфицирования и далее ежедневно в течение 4 суток, однократно в дозе от 10 до 400 мг/кг массы белых мышей.

Результаты оценки лечебной эффективности триазавирина в отношении экспериментальной формы клещевого энцефалита (табл. 1) свидетельствуют, что препарат защищал от гибели 50, 45, 40 и 30% инфицированных вирусом клещевого энцефалита белых мышей при пероральном применении его в дозе 400, 200, 100 и 10 мг/кг соответственно. Увеличение показателя средней продолжительности жизни в группе леченных животных составило 4,8; 4,1; 3,9 и 4,1 сут при использовании суточных доз 400, 200, 100 и 10 мг/кг соответственно. Референс-препарат рибавирин при пероральном применении по лечебной схеме защищал от гибели 30% инфицированных животных.

В ходе изучения влияния триазавирина на репродукцию вируса клещевого энцефалита в тканях головного мозга установлено, что при применении его по лечебной схеме в концентрациях 400, 200, 100 и 10 мг/кг (табл. 2), препарат подавлял уровень размножения вируса в 250, 80–200, 50–80 и 15 раз соответственно.

Таким образом, при применении триазавирина в высоких дозах (200–400 мг/кг) по лечебной схеме препарат умеренно защищает белых мышей, парентерально инфицированных вирусом клещевого энцефалита. При этом отмечено значительное увеличение показателя среднего времени жизни животных в опытных группах (от 4,1 до 4,8 суток), а также статистически ($p \leq 0,05$) значимое снижение уровня накопления вируса в органе-мишени — головном мозге.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (14-13-01301) и ООО «Уральский центр биофармацевтических технологий»

ЛИТЕРАТУРА

1. Письмо Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека «О перечне эндемичных территорий по клещевому вирусному энцефалиту в 2014 году», № 01/1260-15-27 от 10.02.2015 г. / Pis'mo Federal'noj sluzhby po nadzoru v sfere zashhity prav po-trebitelej i blagopoluchija cheloveka «O perechne jendemichnyh territorij po kleshhevomu virusnomu jencefalitu v 2014 godu», № 01/1260-15-27 от 10.02.2015 g. [in Russian]
2. Письмо Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека «Об эпидемиологической ситуации по инфекциям, передающимся клещами, на территории Российской Федерации в 2014 году и прогнозе на 2015 год», № 01/2170-15-32 от 04.03.2015 г. / Pis'mo Federal'noj sluzhby po nadzoru v sfere zashhity prav po-trebitelej i blagopoluchija cheloveka «Ob jepidemiologicheskoj situacii po infekcijam, peredajushhimsja kleshhami, na territorii Rossijskoj Federacii v 2014 godu i prognoze na 2015 god», № 01/2170-15-32 от 04.03.2015 g. [in Russian]
3. *Логина С.Я., Борисевич С.В., Русин В.Л., Уломский У.Н., Чарушин В.Н., Чупахин О.Н.* Изучение противовирусной активности триазавирин в отношении возбудителя клещевого энцефалита в культуре клеток. Антибиотики и химиотер 2014; 1—2: 3—5. / Loginova S.Ja., Borisevich S.V., Rusinov V.L., Ulomskij U.N., Charushin V.N., Chupahin O.N. Izuchenie protivovirusnoj aktivnosti triazavirina v otnoshenii vozбудitelja kleshhevogo jencefalita v kul'ture kletok. Antibiotiki i himioter 2014; 1—2: 3—5. [in Russian]
4. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: Минздрав РФ, 2012. / Rukovodstvo po jeksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniju novyh farmakologicheskikh veshhestv. M.: Minzdrav RF, 2012. [in Russian]

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Логина Светлана Яковлевна — д. б. н., ведущий научный сотрудник отдела опасных вирусных инфекций ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации

Борисевич Сергей Владимирович — д. б. н., к. м. н., профессор, начальник ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации

Русин Владимир Леонидович — член-корр. РАН, д. х. н., директор Химико-технологического института УрФУ имени первого Президента России Б. Н. Ельцина

Уломский Евгений Нарциссович — д.х.н., профессор кафедры органической и биомолекулярной химии УрФУ имени первого Президента России Б. Н. Ельцина

Чарушин Валерий Николаевич — академик РАН, д. х. н., профессор кафедры органической и биомолекулярной химии УрФУ имени первого Президента России Б. Н. Ельцина

Чупахин Олег Николаевич — академик РАН, д. х. н., заведующий кафедрой органической и биомолекулярной химии УрФУ имени первого Президента России Б. Н. Ельцина