

УДК 614.52.003-28

© Ткачук З.Ю., Зарубаєв В.В., Семерникова Л.І., 2011

ПРОТИВІРУСНА ДІЯ ПРЕПАРАТУ НУКЛЕКС НА ВІРУСИ ГРИПУ, ПАРАГРИПУ ТА ПТАШИНОГО ГРИПУ**Ткачук З.Ю., Зарубаєв В.В., Семерникова Л.І.***Інститут молекулярної біології та генетики НАН України (Київ); Інститут грипу РАМН (Санкт-Петербург)*

Вступ. Головною проблемою терапії вірусних інфекцій є відсутність ефективних противірусних засобів, які вибрано та специфічно пригнічують репродукцію вірусів, але не торкаються процесів життєдіяльності клітини. Противірусні препарати можуть діяти на кожному з етапів репродукції вірусів. З точки зору збереження клітини-хазяїна та зменшення загальної інтоксикації організму, а також різних наслідків вірусної інфекції, найперспективнішими є ліки, що виявляють свою активність на початкових стадіях захворювання. Зараз для терапії грипозної інфекції використовують, в основному, препарати амантадинового ряду. Досліди з вивченням дії амантадину та ремантадину показали, що, незважаючи на чутливість вірусу грипу до цих препаратів, він, завдяки мутаціям, дуже швидко стає резистентним до них [1]. Більше того, резистентні до цих ліків віруси можуть бути виділені у людини вже через дві доби від початку лікування ремантадином [2].

Необхідність створення противірусних препаратів здатних діяти проти багатьох вірусів, так званого «противірусного пеніциліну» існує вже дуже давно. Це пов'язано з тим, що віруси часто викликають захворювання з подібними клінічними проявами, як наприклад при ГРВІ, а також з швидкими змінами генетичного стану вірусів, що призводить до вироблення в межах декількох років стійкості вірусів до противірусних препаратів. Тому часто лікарі для лікування вірусних захворювань використовують комплексну, кошову і не завжди достатньо ефективну терапію з залученням багатьох препаратів.

Останні досягнення імунології та молекулярної біології вірусів вказують на можливість створення препаратів, які можуть діяти на декілька компонентів реплікації вірусів та протидіяти різним представникам класу вірусів. Це, в першу чергу, відкриття так званих Толл-подібних рецепторів (англ. Toll-like receptor, TLR) – клітинних рецепторів, котрі, розпізнаючи консервативні структури патогенів, запускають систему вродженого імунітету і активують клітинний імунітет [3,4]. У людей більше десяти таких рецепторів і кожен спеціалізується на певному класі патогенів. Вони розташовані на багатьох типах клітин і, в першу чергу, на фагоцитах, які відповідають за вроджений імунітет [5]. Система вродженого імунітету, яка здатна знешкоджувати потенційно небезпечні патогени, реагує на певні класи антигенів, наприклад на РНК деяких вірусів.

Створений нами препарат Нуклекс володіє специфічною противірусною активністю, яка забезпечується зміною конформації рецепторів ряду чутливих до нього вірусів, а неспецифічною – підвищенням продукції інтерферону *in vivo* і стимуляцією неспецифічного противірусного захисту [6]. Раніше нами було показано протигрипозну дію препарату Нуклекс в доклінічних та клінічних дослідженнях [6,7]. В результаті клінічних досліджень було виявлено, що Нуклекс має високу ефективність при лікуванні ГРВІ у пацієнтів з різним вірусним навантаженням, в тому числі пандемічним грипом А/Н1N1, парагрипом, аденовірусом та ін.

Метою дослідження було вивчення противірусної дії капсульної та ін'єкційної форми препарату Нуклекс на різних штаммах вірусу грипу, парагрипу та пташиного грипу.

Матеріали та методи дослідження. Клітини MDCK культивували в 96-ямкових планшетах (Costar, USA) до стану моношару в середовищі MEM з додаванням 100 мкг/мл гентаміцину, 5% сироватки ВРХ для середовища росту клітин, 1 мкг/мл трипсину для середовища підтримки і культивування вірусу. Штами вірусів грипу А / California / 7 / 09 (H1N1) v і А / mallard / Pennsylvania / 10218 / 84 (H5N2) були отримані з колекції вірусів Інституту грипу РАМН (СПб., РФ) і пасеровані в алантоїсній порожнині 10-12-денних курячих ембріонів протягом 48 годин при 37°C. Клітини Нер 2 вирощували в 24 ямкових планшетах до стану моношару на середовищі MEM з додаванням 10% сироватки ВРХ та 100 мкг/мл гентаміцину. В середовище для підтримки клітин та культивування вірусу сироватку не вносили. Вірус парагрипу третього типу з титром 6 lg ID₅₀ було отримано з колекції вірусів НДІ грипу РАМН.

Для визначення робочих концентрацій препарату була попередньо вивчена його токсичність відносно клітин MDCK та Нер 2. З цією метою дворазові розведення препарату (5,0 – 0,16 мг/мл) були додані до клітин і інкубували протягом 48 годин. Потім клітини були промиті 2 рази по 5 хвилин фосфатно-сольовим буфером. Кількість живих клітин оцінювали за допомогою мікротетразолієвого тесту (МТТ), який характеризує інтенсивність мітохондріального дихання живих клітин [8]. З цією метою в ямки планшетів було додано по 100 мкл розчину 3-(4,5-діметилтіазоліл-2)2,5-діфенілтетразолію броміду (ICN Biochemicals Inc., Aurora, Ohio) концентрацією (5 мг/мл) в фізіологічному розчині. Клітини інкубували при 37°C в атмосфері 5% CO₂ протягом 2 годин і промивали протягом 5 хвилин фосфатно-сольовим буфером. Осад розчиняли в 100 мкл ДМСО на ямку, після чого оптичну густину в лунках планшетів вимірювали на багатофункціональному рідері Victor 1420 (PerkinElmer, Finland) при довжині хвилі 535 нм. За результатами тесту для кожного продукту визначали 50% цитотоксичну дозу (ЦТД₅₀), тобто концентрацію препарату, що викликає загибель 50% клітин в культурі.

Зараження клітинної культури вірусом проводили через годину після контакту з препаратом Нуклекс. В ямки планшетів з культурою клітин MDCK вносили препарат у відповідній концентрації і заражали культуру серійним десятикратним розведенням вірусу від 10⁻¹ до 10⁻⁷. Після зараження вірусом клітини інкубували в термостаті при 37°C протягом 48 годин. Контролем була культура клітин, заражена (позитивний контроль) і не заражена вірусом культура інтактних клітин, в яку замість розчину препаратів вносили підтримуюче середовище (негативний контроль). Облік результатів проводили після 48 годин інкубації. Для визначення інфекційного титру вірусу культуральну рідину переносили в ямки планшета для імунологічних реакцій, після чого додавали рівний об'єм 1% курячих еритроцитів. Про наявність вірусу судили по реакції гемоглоїтинації (ГА) в контрольних і дослідних лунках. За титр вірусу по реакції гемоглоїтинації брали величину, зворотну десятковому логарифму при найбільшому розведенню вихідного вірусу, що викликає позитивну реакцію. Про противірусну активність сполук судили по зниженню інфекційного титру вірусу в порівнянні з

контролем. На підставі отриманих даних розраховували 50% ефективну дозу препарату (ЕД₅₀), тобто концентрацію сполуки, що знижує продукцію вірусу удвічі в порівнянні з контролем, та індекс селективності, що є відношенням ЦТД₅₀ до ЕД₅₀ і характеризує вибірковість інгібуючої дії по відношенню до вірусу в порівнянні з незараженими клітинами.

Вивчення противірусної дії Нуклексу щодо парагрипу. В цих досліджах вивчали противірусну дію двох форм препарату Нуклекс: ін'єкційної та капсульної. Для цього клітини Нер 2 заражали вірусом парагрипу з інфекційним титром 3 ІgID₅₀. Дію обох форм препарату вивчали в концентраціях 5,0 мг/мл, 1,7 мг/мл, 0,5 мг/мл та 0,05 мг/мл. В ямки 96-ямкових плат, заповнених моношаром клітин вносили по 20мкл підтримуючого середовища MEM з вірусом. Через годину інкубації при t=37°C промивали підтримуючим середовищем та вносили в ямки по 80 мкл середовища MEM з відповідними концентраціями нуклексу. Плати інкубували при температурі 37°C в термостаті з CO₂ і через 72 години визначали під мікроскопом рівень деструктивних змін в моношарі клітин Нер2. За контроль слугила культура клітин заражена вірусом без внесення препарату та культура інтактних клітин. Всі варіанти досліду проводили в трьох повторах. З дослідних та контрольних ямок відбирали середовище, після цього ямки промивали фізрозчином та визначали в них ступінь експресії гемаглютиніну за реакцією гемадсорбції [9]. Для цього з ямок відбирали середовище, а Нер2 клітини моношару промивали фізіологічним розчином, потім в ямки вносили по 20 мкл 5% суспензії еритроцитів морської свинки та інкубували 30 хвилин при t= 4°C. Після цього клітини моношару двічі промивали фізіологічним розчином та підраховували під мікроскопом кількість гемадсорбуючих клітин. Середовище відібране з відповідних (дослідних та контрольних ямок) використовували для визначення інфекційності вірусу. Для цього з середовища, відібраного з кожної ямки, готували десятикратні, в діапазоні від 10⁻¹ до 10⁻⁷, розведення. Далі по 100 мкл відповідних розведень вносили в ямки 96-ямкової плати з моношаром клітин Нер2 та інкубували 72 години в термостаті при 37°C. В моношарі клітин Нер2 визначали ступінь деструктивних змін. Інфекційність вірусу оцінювали за титром вірусу, який визначали в реакції гемадсорбції. Реакцію гемадсорбції проводили за методом описаним вище. За інфекційний титр вірусу приймали обернену величину десяткового логарифму максимального розведення відповідної культуральної рідини, яке дає реакцію гемадсорбції при зараженні клітин Нер2.

Активність нейрамінідази вірусу грипу та парагрипу вивчали за методом [10]. Для цього по 25мкл ін'єкційної та капсульної форми Нуклексу різних розведень (від 10 μM до 0,360 nM) в буфері (32,5 mM MES, pH 6,0; 4 mM CaCl₂) змішували з 25 мкл п'ятикратного розведеного вірусу, в 96-ямкових чорних платах (Corning). Плати інкубували на протязі 30 хвилин при температурі t=37°C. Потім у ямки вносили по 50 мкл 0,2 mM розчину субстрату (4метилумберил-Д-Н ацетилнейрамінової кислоти, MUNA) та витримували при кімнатній температурі ще 30 хвилин. Після зупинки реакції додавали 150 мкл суміші 25% етанолу та 0,1 M гліцину при pH 10,7. За одиницю нейрамінідазної активності в % по відношенню до контролю, приймали показник флуоресценції проби, яку вимірювали на приладі "Victor 1440" (Σx λ 365 nm, Σm λ 450 nm). Контролем служив показник флуорисценції буферу та 5-кратного розведеного вірусу в концентрації 5 Іg ID₅₀.

Статистичну обробку отриманих результатів (розрахунок середніх значень і стандартних відхи-

лень) проводили за допомогою програми Microsoft Excel. Достовірність відмінностей оцінювали за критерієм Ст'юдента. Вірогідними вважали відмінності між групами, якщо параметр не перевищував 0,05.

Результати дослідження та їх обговорення. Відомо, що віріон грипу має два поверхневих антигени, гемаглютинін та нейрамінідазу, які відповідають за адсорбцію, проникнення та вивільнення вірусу з клітини. Поверхневий антиген вірусу грипу – гемаглютинін, задіяний у фіксації вірусу на клітинах дихальних шляхів, а нейрамінідаза – в відокремленні вірусних часток від клітини-хазяїна. Оскільки гемаглютинін та нейрамінідаза відіграють важливу роль в грипозній інфекції, перспективним є пошук препаратів - інгібіторів цих поверхневих антигенів [6,7]. Такі інгібітори повинні бути нетоксичними для організму і не зачіпати метаболізм клітини-хазяїна.

На початку вивчення противірусної дії препарату Нуклекс визначали його токсичність відносно клітин Нер 2 в межах концентрацій від 10 мг/мл до 50 мкг/мл. Визначена нами найбільша нетоксична доза препарату для клітин Нер2 становить 5,0 мг/мл, а мінімальна ефективна доза була 0,135 мг/мл, показник селективності дорівнював 37. Раніше токсичну дію Нуклексу визначали на перешеплюваній культурі клітин MDCK клітин нирки собаки[6]. Було показано, що при інфекції грипу максимально переносима концентрація Нуклексу становить 5,0 мг/мл, а мінімально активна концентрація – 31 мкг/мл, а хіміотерапевтичний індекс, або показник селективності дорівнював 161 [6]. Порівнюючи раніше отримані дані по токсичності на культурі клітин нирки собаки і представлені тут результати, отримані на клітинах Нер 2, можна бачити їх майже повне співпадіння. Отримані показники дозволяють віднести Нуклекс до нетоксичних препаратів.

Противірусну дію Нуклексу у вигляді капсульної та ін'єкційної лікарських форм *in vitro* визначали по їх здатності пригнічувати експресію антигену гемаглютиніну на клітинах Нер 2, заражених парагрипом. Було показано, що обидві форми препарату гальмують експресію гемаглютиніну вірусу парагрипу. Однак найбільш вираженою, майже в десять разів більшою, дією володіє ін'єкційна форма препарату в діапазоні концентрацій від 5,0 до 0,5 мг/мл, де відсоток гемадсорбуючих клітин був від 6,2 % до 20% відповідно. При зменшенні концентрації ін'єкційної форми Нуклексу до 0,17 мг/мл кількість клітин, що адсорбують еритроцити становила 45,5%, але навіть при зменшенні концентрації препарату в сто разів до 50 мкг/мл ін'єкційна форма Нуклексу пригнічувала на 55,4 відсотки кількість гемадсорбуючих клітин (Табл. 1). Отже, на моделі гемадсорбуючої здатності клітин Нер 2, заражених парагрипом, показано потужну противірусну дію ін'єкційної форми Нуклексу у широкому діапазоні концентрацій.

Аналогічна закономірність виявлена для ін'єкційної форми Нуклексу при вивченні впливу препарату на інфекційність вірусу парагрипу (Табл.1). Показано, що ін'єкційна форма препарату "Нуклекс", при його внесенні після зараження клітин Нер 2 вірусом парагрипу, впливає на цитопатичну дію вірусу. Внесений в моношар клітин Нуклекс в концентрації 5,0 мг/мл повністю гальмує прояв цитопатичної дії вірусу. Ступінь дії препарату дещо зменшується із зниженням його концентрації. В концентрації 1,7 та 0,5 мг/мл ін'єкційна форма препарату досить сильно, на три логарифми в порівнянні до контролю, гальмує інфекційність парагрипу. І навіть при дуже низькій концентрації 50 мкг/мл препарат знижує на один логарифм інфекційний титр вірусу парагрипу *in vitro* (табл. 1).

Капсульна форма препарату "Нуклекс" теж суттєво пригнічує гемадсорбуючу здатність клітин Her2, заражених вірусом парагрипу. В діапазоні концентрацій від 5,0 до 0,5 мг/мл відсоток гемадсорбуючих клітин знаходився в межах від 18,5% до 25%, і тільки

при зменшенні концентрації ввід 0,17мг/мл до 50 мкг/мл він падав від 56,2% до 60,0% відповідно.

Капсульна форма Нуклексу теж в усіх досліджуваних концентраціях гальмує прояв цитопатичної дії вірусу парагрипу in vitro (табл.1).

Таблиця 1. Вплив Нуклексу на титр вірусу парагрипу in vitro

Лікарська форма	Капсульна форма					Ін'єкційна форма				
Концентрація препарату в мг/мл	5,0	1,7	0,5	0,17	0,05	5	1,7	0,5	0,17	0,05
Гемадсорбція позитивних клітин в %	18,5	18,5	25	56,2	60	6,2	19	20	45,5	53,4
Титр вірусу lg EID ₅₀ / 0,2 мл	0	2	4	4	5	0	2	2	4	5

Показано, що його внесення після зараження клітин Her 2 вірусом парагрипу в концентрації 5,0 мг/мл, повністю гальмує інфекційність вірусу. Ступінь дії препарату залишається ще досить сильною пригнічуючи інфекційність вірусу на три логарифми при концентрації препарату 1,7 мг/мл і на два логарифми - в діапазоні концентрацій від 0,5 мг/мл до 50 мкг/мл.

Отже, вивчення протівірусної дії Нуклексу на вірус парагрипу в культурі клітин Her2 показало, що обидві форми препарату пригнічують експресію гемоглобину і впливають на інфекційність цього вірусу. Ступінь протівірусної дії обох лікарських форм залежить від концентрації препарату. Однак, ін'єкційна форма Нуклексу, як цього можна було очікувати, володіє більш потужною дією і в більшому діапазоні досить низьких концентрацій.

Раніше нами було показано, що Нуклекс володіє протигрипозною активністю в широкому діапазоні концентрацій в доклінічних дослідженнях [4], а також володіє специфічною протівірусною дією в клінічних дослідженнях, де було показано здатність Нуклексу ефективно лікувати хворих, заражених пандемічним штамом грипу H1N1 [5]. Тому було важливо вивчити протівірусну дію Нуклексу на інших штаммах вірусу грипу, особливо на пандемічному A/California/7/09 (H1N1)v та пташиному A/mallard/ Pennsylvania /10218/84 (H5N2).

Досліди по вивченню дії різних концентрацій Нуклексу на інфекційність вірусів пандемічного грипу (H1N1) та пташиного грипу (H5N2) показали, що препарат пригнічує інфекційність цих вірусів в клітинах Her2 (Рис.1). Так ефективна доза (ЕД50) препарату відносно пандемічного вірусу становила 0,5 мг/мл при індексі селективності >10, а найбільша переносима концентрація становила 5,0 мг/мл. Нуклекс на більш як три логарифми пригнічував титр пандемічного вірусу в культурі клітин Her2 в концентрації 5,0 мг/мл. В концентрації 1,5 мг/мл його дія була меншою, де пригнічення титру вірусу було тільки на півтора логарифма і, з подальшим зменшенням концентрації препарату до 0,17 мг/мл, ця дія залишалася в межах одного логарифма. В концентрації нижчій за 0,17 мг/мл препарат не виявив протигрипової дії.

Відомо, що на даний час немає препарату, який би міг ефективно боротися з пташиним грипом, тому цікаво було вивчити протівірусну дію Нуклексу на моделі пташиного грипу. Як видно з результатів дослідів, представлених на Рис. 1, Нуклекс лише у концентрації 1,5 мг/мл діє на вірус пташиного грипу A/mallard/Pensilvania/10218/84 (H5N), при індексі селективності >3. Оскільки Нуклекс нетоксичний препарат, володіє добре вираженою протизапальною та імунотулюючою дією і може використовуватись в досить високих дозах (до 3 г на день) на протязі тривалого часу (місяць і більше), отримані дані дають можливість передбачити ефективність нуклексу і при лікуванні пташиного грипу у людей.

Нейрамінідаза вірусних часток розщеплює нейрамінову кислоту, яка входить в склад кінцевих груп сіалової кислоти мембранних білків клітини. Завдяки

цьому розщепленню, вірус відокремлюється від поверхні клітини, що дозволяє йому вільно розповсюджуватись по всьому організму. Тому ефективне пригнічення нейрамінідазної активності вірусу грипу дозволяє блокувати вихід вірусу з клітини і подальшого інфікування ним організму.

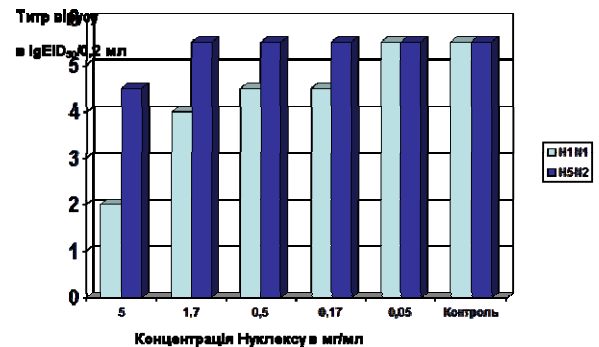


Рис. 1. Протівірусна дія Нуклексу на віруси пандемічного та пташиного грипу in vitro.

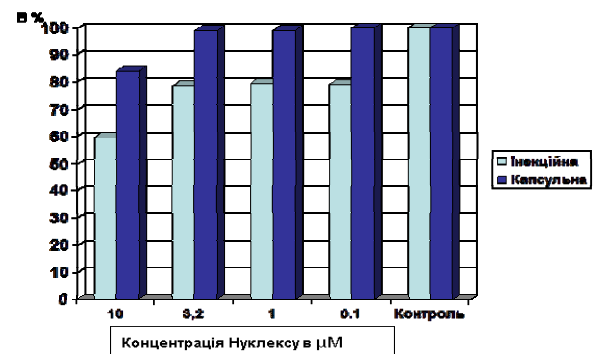


Рис. 2. Вплив ін'єкційної та капсульної форми Нуклексу на рівень активності нейрамінідази вірусу грипу A/PR8/34 (H1N1) в процентах.

Раніше нами було показано, що Нуклекс володіє специфічною протівірусною активністю, завдяки здатності пригнічувати нейрамінідазну активність адаптованого до мишей вірусу грипу A/FM/1/47(H1N1) in vitro [4]. Однак, у вказаній роботі для вивчення нейрамінідазної активності ми використовували калориметричне визначення, що має середню чутливість [6]. Тому ми провели вивчення впливу обох лікарських форм Нуклексу на нейрамінідазну активність штаму вірусу грипу A/PR8/34 (H1N1), який інфікує людей в широкому діапазоні концентрацій більш чутливим методом флуоресцентного визначення [8]. Це дозволило в даному експерименті вивчити дію препарату в десятки разів меншій концентрації, щоб більш детально встановити різницю в діях капсульної та ін'єкційної форм Нуклексу. Було показано, що обидві лікарські форми препарату пригнічують нейрамінідазну активність вірусу грипу A/PR8/34 (H1N1) (Рис.2). Так рівень активності нейрамінідази вірусу грипу при дії ін'єкційної форми Нуклексу в концентрації 10 μM досягає тільки

59,5%, а в концентрації 3,2 μ M та 1 μ M активність ферменту досягає близько 80%. В менших концентраціях ін'єкційна форма "Нуклексу" майже не діє. Капсульна форма препарату ще менш впливає на активність нейрамінідази грипу A/PR8/34 (H1N1) у вказаних концентраціях. Препарат діє в концентрації 10 μ M, де рівень активності нейрамінідази становить 83%.

Порівняння раніше отриманих даних по пригніченню нейрамінідазної активності на штамі вірусу грипу A/FM/1/47(H1N1) [4] свідчить, що в обох роботах показано ефективне пригнічення даного рецептора. Потрібно відмітити, що виявлене для штаму A/PR8/34 (H1N1) 40,5 % пригнічення нейрамінідазної активності ін'єкційною формою Нуклексу, відбувається при концентрації, яка в 50 разів менша, ніж у експерименті із штамом A/FM/1/47(H1N1). Без сумніву, це свідчить про кращу ефективність ін'єкційної лікарської форми препарату, а також про різну чутливість нейрамінідази різних штамів до інгібувальної дії Нуклексу.

Висновки: 1. Показано, що при парагрипозній інфекції найбільша нетоксична доза Нуклексу для клітин Her2 становить 5,0 мг/мл, а мінімальна ефективна доза - 0,135 мг/мл, показник селективності дорівнює 37. Виявлено потужнішу противірусну дію

ін'єкційної лікарської форми Нуклексу в порівнянні до його капсульної форми.

2. Встановлено, що механізм антипарагрипозної дії Нуклексу полягає в сильному гальмуванні експресії гемаглютиніну при взаємодії з віріоном парагрипу, що надає йому можливість блокувати проникнення парагрипу в клітину та забезпечує препарат високу специфічну противірусну активність.

3. Вивчено механізм антигрипозної дії Нуклексу, який забезпечується пригнічуючою дією препарату по відношенню до нейрамінідазної активності вірусу грипу в широкому спектрі низьких концентрацій як ін'єкційної так і капсульної лікарської форми препарату.

4. Визначено високу противірусну дію Нуклексу по відношенню до пандемічного штаму вірусу грипу in vitro. Його ефективна доза становила 0,5 мг/мл при індексі селективності >10, а найбільша переносима концентрація становила 5,0 мг/мл. Нуклекс в концентрації 5,0 мг/мл більше як на три логарифми пригнічував титр пандемічного вірусу в культурі клітин Her2.

5. Показано противірусну дію Нуклексу по відношенню до пташиного грипу A/mallard/Pensilvania/10218/84(H5N) in vitro. Ефективна доза препарату знаходиться в межах концентрації 1,5 мг/мл, при індексі селективності >3.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Resistent influenza A viruses in children treated with oseltamivir: descriptive study / M. Kiso, K. Mitamura, Y. Sakai-Tagawa, K. Shiraishi [et al.] // Lancet. -2004. - Vol. 364. - № 9436. - P. 759-765
2. Colman P.M. Influenza virus neuraminidase: structure, antibody, and inhibitors / P.M. Colman // Protein Sci. - 1994. - № 3 (10). - P. 1687-1696.
3. The dorsoventral regulatory gene cassette spätzle/Toll/cactus controls the potent antifungal response in Drosophila adults / B. Lemaître, E. Nicolas, L. Michaut [et al.] // Cell. -1996. - V 20. - № 6. - P. 973-983.
4. Toll-dependent and Toll-independent immune responses in Drosophila / J.L. Imler, D. Ferrandon, J. Royet [et al.] // J Endotoxin Res. - 2004. - № 10 (4). - P.241-6.
5. Medzhitov R. A human homologue of the Drosophila Toll protein signals activation of adaptive immunity / R. Medzhitov, P. Preston-Hurlburt, C.A. Janeway // Nature. - 1997. - № 388 (6640). - P. 394.
6. Антигрипозна активність препарату Нуклекс / З.Ю. Ткачук, С.Л. Рибалко, Л.Д. Жаркова [та інші.] // Доповіді НАН України. - 2010. - № 9. - С. 191-196.
7. Ткачук З.Ю. Специфічна противірусна дія препарату Нуклекс при серцево-судинних розладах, грипі та ГРВІ / З.Ю. Ткачук, М.І. Швед, О.А. Прокопович, П.М. Бабич // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології. Збірник наукових праць. Київ; Луганськ. -2010. -Вип.100. -С. 312-333
8. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays / T. Mosmann // J. Immunol. Methods. - 1983. - № 65. - P. 55-63.
9. Бурцева И.А. Идентификация вирусов по гемагглютинирующим свойствам / И.А. Бурцева. - Сельское хозяйство республики Саха (Якутия), Новосибирск. - 1993. - С. 136 -138.
10. Fluorometric assay of neuraminidase with a sodium (4-methylumbelliferyl-a-D-N-ctylneuraminate) substrate / M.L. Potier, Mateli M.Belisle, L. Dallaire, Melanxson // Anal. Biochem. - 1979. - № 94. -с.287-296.

Ткачук З.Ю., Зарубаєв В.В., Семерникова Л.І. Противірусна дія препарату Нуклекс на віруси грипу, парагрипу та пташиного грипу in vitro // Український медичний альманах. - 2011. - Том 14, № 6. - С. 209-212.

Показано високу противірусну дію ін'єкційної та капсульної лікарських форм Нуклексу по відношенню до пандемічного штаму вірусу грипу, де індекс селективності більше десяти, парагрипу та помірно дію по відношенню до вірусу пташиного грипу з індексом селективності більше трьох. Встановлено, що механізм антипарагрипозної дії Нуклексу полягає в сильному гальмуванні експресії гемаглютиніну при взаємодії з віріоном парагрипу, механізм антигрипозної дії препарату забезпечується його пригнічуючою дією по відношенню до нейрамінідазної активності в широкому спектрі низьких концентрацій як ін'єкційної так і капсульної лікарської форми препарату.

Ключові слова: Нуклекс, грип, парагрип, пташиний грип, ефективність.

Ткачук З.Ю., Зарубаєв В.В., Семерникова Л.І. Противовирусное действие препарата Нуклекс на вирусы гриппа, парагриппа и птичьего гриппа in vitro // Украинский медицинский альманах. - 2011. - Том 14, № 6. - С. 209-212.

Показано высокую противовирусную активность инъекционной и капсульной лекарственных форм Нуклекса в отношении пандемического штамма вируса гриппа, где индекс селективности больше десяти, парагриппа и умеренное действие в отношении вируса птичьего гриппа с индексом селективности больше трех. Установлено, что механизм антипарагриппозного действия Нуклекса заключается в сильном торможении экспрессии гемагглютинина при взаимодействии с вирионом парагриппа, а механизм антигриппозного действия препарата обеспечивается его угнетающим действием по отношению к нейраминидазной активности в широком спектре низких концентраций как инъекционной, так и капсульной лекарственными формами препарата.

Ключевые слова: нуклекс, грипп, парагрипп, птичий грипп, эффективность.

Tkachuk Z.Y., Zarubayev V.V., Semernikova L.I. The antiviral action of Nuclex on the viruses of influenza, parainfluenza, and bird flu in vitro // Украинский медицинский альманах. - 2011. - Том 14, № 6. - С. 209-212.

It was demonstrated that the injection and capsule medical forms of Nuclex have a significant antiviral action with regard to the pandemic influenza virus, where the index of selectivity is above 10, parainfluenza, and a moderate action with regard to the bird flu with the selectivity index above 3. It was determined that mechanism of the anti-parainfluenza action of Nuclex is in a strong inhibition of expression hemagglutinin interaction with parainfluenza virions and the anti-influenza action of Nuclex is based on its significant inhibition with regard to neuraminidase activity in a wide range of concentrations of the injection and capsule forms of the drug.

Key words: Nuclex, influenza, parainfluenza, bird flu, effectivity.

Надійшло 15.09.2011 р.
Рецензент: проф. І.В.Лоскутова