

НОВИЙ СПОСІБ ЕФЕКТИВНОГО КОМПЛЕКСНОГО ВПЛИВУ ПРЕПАРАТІВ З РІЗНИМ МЕХАНІЗМОМ ДІЇ НА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНУ АРБОВІРУСНУ ІНФЕКЦІЮ

Козловський М. М.¹, Геник І. Д.¹, Чіпак Н. І.¹, Семенишин О. Б.²

¹ДНП «Львівський національний медичний університет
імені Данила Галицького»
м. Львів, Україна

²ДУ «Львівський обласний центр контролю і профілактики хвороб МОЗУ»
м. Львів, Україна

Анотація. З метою розробки ефективного способу екстреної неспецифічної профілактики арбовірусної інфекції було досліджено в експериментах на лабораторних мишах ефективність комплексного застосування препаратів з різним механізмом дії, а саме: індуктора інтерферону Аміксину, природного полімінерального біокоректора Мінеролу та біоактивного фітозасобу – олії з насіння льону. На моделі експериментального кліщового вірусного енцефаліту встановлено суттєве, статистично достовірне зростання на 26,3 % (у 1,8 рази) протівірусного ефекту розробленої нами схеми сумісного оптимального введення вказаних препаратів порівняно з самостійним використанням одного лиш індуктора інтерферону Аміксину, який у сукупності досягав 58,3 % захисту. Враховуючи широкий благосприятливий спектр протівірусної дії представлених офіційних препаратів на людський організм запропонований спосіб спільного їх використання може успішно бути застосований в клініці багатьох вірусних інфекцій, особливо при невстановленій їх етіології.

Ключові слова: протівірусна активність, препарати Аміксин, Мінерол, лляна олія, вірус кліщового енцефаліту.

Вступ. Важливими засобами боротьби з вірусними інфекціями, особливо у тих випадках, коли швидко провести діагностику і встановити етіологію захворювання є доволі проблематично або практично неможливо, по праву вважаються індуктори інтерферону, які завдяки стимуляції одночасно інтерференової та імунної систем організму володіють широким спектром протівірусної дії [5; 13–15].

Ефективним таким лікарським засобом зарекомендував себе відомий вітчизняний препарат Аміксин [1]. Індукуючи при внутрішньому вживанні утворення інтерферону в крові людей в титрах 80–320 од/мл він ефективно застосовується в клініці для лікування багатьох інфекційних хвороб, у тому числі герпесі, енцефаломієлітах, гепатитах, ентеровірусних інфекціях, хламідіозі, грипі та інших ГРВЗ [4; 8; 10].

Оскільки протиінфекційна активність індукторів інтерферону великою мірою залежить від кількості синтезованого в організмі інтерферону, важливим моментом їх ефективного використання є розробка оптимальних схем їх застосування, які забезпечували б максимальну і тривалу стимуляцію інтерферогенезу.

Попередніми нашими дослідженнями було встановлено зростання циркуляції інтерферону при комбінованому введенні препарату аміксину з вітчизняним природним полімінеральним засобом – біокоректором Мінеролом. Виготовлений з сировини, отриманої в Україні з древніх поклад органомінерального походження докембрійського періоду, Мінерол містить практично всі необхідні для організму людини макро- і мікроелементи (більше 70 хімічних елементів) з високим вмістом (до 25 %) кремнію у вигляді кремній-кисневого тетраедра, що забезпечує організмові потужний біоенергоінформаційний потенціал [2; 3; 9]. Поєднане використання Аміксіну і Мінеролу призводило до посилення синтезу інтерферону в крові лабораторних мишей у 4 рази та пролонгації інтерферогенезу на 24 години [6].

Суттєве зростання утворення інтерферону в крові лабораторних мишей виявлено і при комбінованому застосуванні Аміксіну з свіжовиготовленою олією з насіння льону, яка характеризується великим вмістом незамінних ненасичених жирних кислот, у тому числі високобіологічноактивної ліноленової кислоти (Омега-3), фітоантиоксидантів лігнанів, вітамінів А, Е, F та інших сполук. Комбінація Аміксіну з даним природним фітозасобом призводила до зростання концентрації ендogenous інтерферону у 6–8 разів [11].

Мета дослідження. Визначити противірусну активність індуктора інтерферону Аміксіну при комбінованому його застосуванні з природними засобами Мінеролом та олією з насіння льону на моделі експериментального кліщового вірусного енцефаліту для їх спільного лікувально-профілактичного використання в клінічній практиці при вірусних інфекціях.

Матеріали та методи дослідження. Для досягнення поставленої мети нами було використано досліджувані препарати: Аміксин, розроблений і синтезований у Фізико-хімічному інституті НАН України ім. А. В. Богатського (м. Одеса), комерційний засіб Мінерол виробництва

НВМП «ГОБОР» (Україна) та свіжовиготовлену методом холодного віджиму олію з насіння льону виробництва “Viza Oil Group” (Україна).

Дослідження здійснювали на лабораторних білих безпородних мишах та мишах лінії СВА, вирощених у віварію НДІ епідеміології та гігієни ДНП «ЛНМУ ім. Данила Галицького», дотримуючись принципів біоетики, законодавчих норм і вимог згідно з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей» [17].

Противірусну активність визначали стосовно вірусу кліщового енцефаліту (штам № 3690) з Національної Колекції штамів арбовірусів НДІ епідеміології та гігієни ЛНМУ ім. Данила Галицького, згідно з вимогами і методами, рекомендованими для оцінки противірусних препаратів [16]. Вірус вводили тваринам масою 10–12 г доочеревинно в об’ємі 0,2 мл в дозі 30–40 ЛД₅₀/0,2 мл, що викликало загибель 80–90 % контрольних нелікованих тварин. Препарати застосовували індивідуально та комбіновано за оптимальними лікувально-профілактичними схемами, описаними нижче. На кожну експериментальну умову використовували по 20 мишей, за якими спостерігали впродовж 21 дня.

Ефективність засобів оцінювали за ступенем захисту (в %), що визначали як різницю у виживанні між дослідною і контрольною групами, а також за показником середньої тривалості життя тварин, який вираховували за методом Дж. Мейнелла, Е. Мейнелла [12]. Статистичну обробку результатів проводили за методом Фішера – Стьюдента [7].

Дослідження здійснювали в рамках виконання НДР МОЗУ «Розробка стратегії диференційної діагностики природно-вогнищевих зоонозів та способу їх екстреної неспецифічної профілактики» (№ держреєстрації 0118U004000).

Результати дослідження та їх обговорення. На першому етапі дослідження вивчали здатність Аміксину в поєднанні з Мінеролом впливати на перебіг експериментального кліщового вірусного енцефаліту у лабораторних мишей. Результати цього дослідження представлені в табл. 1.

Застосування цих препаратів за розробленими нами оптимальними схемами введення показало значне посилення (у 1,9 рази) протективного ефекту при експериментальному кліщовому вірусному енцефаліті. Так, якщо індивідуальне, триразове з інтервалом 3 дні, (починаючи за 24 год до інфікування) пероральне застосування Аміксину в дозі 100 мг/кг та Мінеролу (щоденно перорально 1 раз в день в дозі 200 мг/кг впродовж 14 днів до інфікування і 5 днів після нього) викликало захист відповідно 24,2 % та 10,5 % лабораторних мишей, то їх комбінація забезпечувала статистично достовірне ($P < 0,01$) зростання противірусної резистентності тварин до рівня 45,3 % захисту, що на 20,1 % більше, порівняно з одним лише Аміксином.

Таблиця 1

Вплив комбінованого застосування препаратів Аміксіну та Мінеролу на резистентність мишей щодо арбовірусу кліщового енцефаліту

Препарати	Доза, мг/кг	Схеми п/о введення, в годинах/днях до (-) і після (+) інфікування	виживання, %	захист, %	P*	Середня тривалість життя, дні
Аміксин	100 п/о	-24 +48 +120	40,0	24,2	<0,05	14,1
Мінерол	200 п/о	-14...-1 дні 0, +1...+5 дні	26,3	10,5	>0,05	12,2
Аміксин + Мінерол	100 п/о	-24 +48 +120	61,1	45,3	<0,01	15,3
	200 п/о	-14...-1 дні 0, +1...+5 дні				
Контроль вірусу** (30 ЛД ₅₀)			15,8	-	—	11,4

Примітки:

1. * – P – коефіцієнт достовірності.
2. ** – контрольним тваринам перорально вводили фізіологічний розчин 1 раз на добу щоденно впродовж 14 днів в об'ємі 0,2 мл.

На достовірну ефективність даного комбінованого застосування Аміксіну та Мінеролу вказує і показник середньої тривалості життя піддослідних тварин: він на 3,9 днів був вищим від аналогічного показника у контрольних тварин (11,4 дня), що на 1,2 дня більше, ніж при індивідуальному застосуванні самого лиш Аміксіну (14,1 дня).

Вивчення протиарбовірусної ефективності Аміксіну в комбінації з лляною олією також показало певне посилення виживання мишей, інфікованих вірусом кліщового енцефаліту.

Якщо захисний ефект самого лиш Аміксіну становив 30 %, а лляної олії, (введеної доочередно, щоденно 1 раз в день впродовж 14 днів до інфікування і 5 днів після нього в об'ємі 0,2 мл). – 16,3 %, то їх поєднане застосування запобігало загибелі 45,0 % тварин, що на 15,0 % більше від противірусного захисту одного лише Аміксіну.

Комбіноване застосування Аміксіну і лляної олії забезпечувало також і продовження на 1,0 дня тривалості життя інфікованих мишей у порівнянні із тривалістю життя мишей, які отримували лише Аміксин (14,2 дня) (табл. 2).

Виходячи із отриманих вищенаведених результатів можна заключити про доцільність дослідити ефективність комплексного одночасного трьохкомпонентного введення вищеназваних препаратів з різним

механізмом дії: синтетичного індуктора інтерферону Аміксину, полімінерального біокоректора Мінеролу та біологічноактивного фітозасобу, яким є лляна олія.

Таблиця 2

Вплив комбінованого застосування Аміксину та лляної олії на резистентність мишей щодо арбовірусу кліщового енцефаліту

Препарати	Доза, мг/кг	Схеми п/о введення, в годинах/днях до (-) і після (+) інфікування	виживання, %	захист, %	Р*	Середня тривалість життя (дні)
Аміксин	100 п/о	-24 + 48 + 120	40,0	30,0	<0,05	14,2
Лляна олія	0,2 мл д/о	-14...-1 дні 0, +1...+5 дні	26,3	16,3	>0,05	12,7
Аміксин + Лляна олія	100 п/о	-24 + 48 + 120	55,0	45,0	<0,01	15,2
	0,2 мл д/о	-14...-1 дні 0, +1...+5 дні				
Контроль вірусу** (40 ЛД ₅₀)			10,0	—	—	11,1

Примітки:

1. * – Р – коефіцієнт достовірності.

Примітка 2.** – контрольним тваринам перорально вводили фізіологічний розчин 1 раз на добу щоденно впродовж 14 днів в об'ємі 0,2 мл.

Результати цього підсумкового експерименту засвідчують, що вищевказане застосування даних препаратів забезпечувало найвищий рівень захисту мишей від дії вірусу кліщового енцефаліту, який досягав 58,3 %. Цей показник на 7,5 % перевищує захисний ефект комбінації Аміксину з Мінеролом, на 14,3 % – комбінації Аміксину з лляною олією, і на 26,3 % – індивідуального введення самого лиш Аміксину.

Аналогічно цим даним зафіксовано і зростання середньої тривалості життя піддослідних тварин, яке найбільше (на 4,6 дня) становило при комплексному застосуванні Аміксину, Мінеролу і олії з насіння льону.

Висновок. Підсумовуючи результати даного дослідження, слід відзначити виявлений нами новий спосіб ефективного комбінованого впливу препаратів з різним механізмом дії на інфекцію лабораторних мишей, викликаної вірусом кліщового енцефаліту шляхом сумісного використання індуктора інтерферону Аміксину, природного полімінерального засобу Мінеролу та рослинної олії з насіння льону. Апробація розробленої схеми комплексного застосування одночасно трьох вказаних препаратів на моделі даної експериментальної арбовірусної інфекції показала

її високу ефективність порівняно з самостійним використанням одного лиш індуктора інтерферону Аміксину, яка зростала у 1,8 рази (на 26,3 %) і сягала у сукупності 58,3 % захисту.

Враховуючи широкий спектр протівірусної дії індуктора інтерферону Аміксину та загальнозміцнюючу дію на людський організм лляної олії і Мінеролу, вважаємо доцільним застосовувати запропонований спосіб їх спільного використання також як спосіб ефективної неспецифічної профілактики та лікування багатьох інших вірусних захворювань, для яких етіологічний чинник з різних причин не встановлено і, зазвичай, характеризуються порушеннями інтерферонового та імунного статусу.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Андронати С. А., Литвинова Л. А., Головенко Н. Я. Пероральний індуктор ендогенного інтерферона – «Амиксин» и его аналоги (обзор литературы и собственных исследований). *Журн. АМН України*. 1999. Т. 5. № 1. С. 358–361.
2. Борисенко Л. Н. Батечко С. А. «Минерол» в программе эндоэкологической реабилитации человека К. : ООО «Червона Рута-Турс». 2006. 288 с.
3. Борисенко Л. Н., Стародубцев Е. «Минерол» – формула здоровья. Київ : 2013. – 56 с.
4. Ершов Ф. И. Антивирусные препараты. М. : ГЭОТАР-Медиа. 2006. 312с.
5. Ершов Ф. И., Киселев О. И. Интерферон и их индукторы (от молекул до лекарств). М.: ГЭОТАР-Медиа. 2005. 368 с.
6. Козловський М. М., Лозинський І. М., Бензель Л. В. та ін. Ефективний спосіб посилення індукції інтерферону. *Фармакотерапія при інфекційних захворюваннях*. 2016. С. 31–33.
7. Лакин Г. Ф. Сравнение выборочных долей. *Биометрия*. – М.: Высшая школа, 1980. С. 104–107.
8. Ляхов С.А., Литвинова Л. А. Механизмы противовирусной активности амиксина (обзор литературы) 1. Общая характеристика и индукция интерферона. *Сучасні інфекції*. 2008. № 1. С. 82–86.
9. Минерол и иммунная система. [Электронный ресурс] – Режим доступа: <http://www.minerol.ua/index.php/stat/37-immunaya-sistema>.
10. Никитин Е. В. Использование амиксина в терапии и профилактике вирусных инфекций. *Сучасні інфекції*. 2005. № 2. С. 76–82.
11. Пат. 81109 України, МПК А61К 45/00. Спосіб посилення інтерферону-утворення / М. М. Козловський, І. М. Лозинський, І. Л. Бензель та ін. ; заявник ДУ «Львівський НДІ епідеміології та гігієни МОЗ України». № у 2012 13749 ; заявл. 03.12.2012; опуб. 25.06.2013. Бюл. № 12.
12. Пшеничников В. А., Семенов Б. Ф., Зезеров Е. Г. Стандартизация методов вирусологических исследований. М.: Медицина, 1974. – 168 с.
13. Романцов М. Г., Шульдяков А. А., Ершов Ф. И., Коваленко А. Л. Индукторы ендогенного интерферона в инфектологии (Научный обзор). *Профілактична медицина*. 2013. № 1–2. С. 77–83.

14. Співак М. Я., Андронаті С. А., Ляхов С. А. та ін. Індуктори інтерферону як противірусні агенти: нові аспекти старої проблеми. *Журнал орг. та фарм. хімії*. 2007. № 1. С. 4–20.
15. Співак М. Я., Карпов О.В, Жолобак Н. М. та ін. Індуктори інтерферону – від теорії до практики. *Мікробіол. журн*. 2003. № 1–2. С. 191–204.
16. Чижов Н. П., Ершов Ф. И., Индулен М. К. Основы экспериментальной химиотерапии вирусных инфекций. Рига: Зинатне, 1988. – 171 с.
17. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes: European Communities (EC) –Strasbourg, 18.03.1986. *European Treaty Series No. 123*.

REFERENCES

1. Andronati S. A., Litvinova L. A., Golovenko N.Ya. (1999). Oral inducer of endogenous interferon – “Amixin” and its analogues (literature review and own research). *Zhurn. AMN Ukrainy*, 5, 1, 358–361.
2. Borisenko L. N., Batechko S. A. “Minerol” in the program of endoecological human rehabilitation K.: ООО “Chervona Ruta-Turs”, 2006. 288 p.
3. Borisenko L. N., Starodubtsev E. “Minerol” – health formula. K. : 2013. 56 p.
4. Yershov F., Antiviral drugs. M.: GEOTAR-Media. 2006. 312 p.
5. Yershov F., Kiselyev O. Interferon and their inducers (from molecules to drugs). M. : GEOTAR-Media. 2005. 368 p.
6. Kozlovskiy M.M., Lozynskiy I.M., Benzel L. V. et al., (2016). An effective method to enhance the induction of interferon production. *Farmaroterapiya pry infektsiynykh zakhvoryuvannyakh*, 2016. P. 31–33.
7. Lakin G. Comparison of sample shares. *Biometrics*. M. : Vysshaya shkola. 1980. P. 104–107.
8. Lyakhov S. A., Litvinova L. A. (2008). Mechanisms of antiviral activity of amixin (literature review) 1. General characteristics and induction of interferon. *Sychasni infekcii*, 1, 82–86.
9. Minerol and the immune system. [Electronic resource]. Available at: <http://www.minerol.ua/index.php/stat/37-immunnaya-sistema>
10. Nikitin E. V. (2005). The use of amixin in the therapy and prevention of viral infections. *Sychasni infekcii*, 2, 76–82.
11. Pat. 81109 Ukraine, IPC A61K 45/00. Method for enhancing interferon production / M. M. Kozlovskiy, I. M. Lozynskiy, L. V. Benzel et al. the applicant Lviv Research Institute of Epidemiology and Hygiene. № u 2012 13749; appl. 03.12.2012; publ. 25.06.2013. Bul. № 12.
12. Pshenichnov V., Semenov B., Zezerov E. Standardization of virological research methods. M.: Meditsina. 1974. 168 p.
13. Romantsov M., Shuldyakov A., Yershov F., Kovalenko A. (2013). Inducers of endogenous interferon in infectology (Scientific review). *Profilaktychna medytsyna*. 1–2, 77–83.
14. Spivak M., Andronati S., Lyakhov S. et all. (2007). Interferon inducers as antiviral agents: new aspects of the old problem. *Zhurnal org. ta farm. Khimii*, 1: 4–20.

15. Spivak M., Karpov O., Zholobak N. et al. (2003). Interferon inducers – from theory to practice. *Mikrobiol. zhurn.* 1–2, 191–204.
16. Chizhov N., Yershov F., Indulen M. The basics of experimental chemotherapy for viral infections. Riga : Zinatne, 1988. 171 p.
17. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes: European Communities (EC) – Strasbourg, 18.03.1986. *European Treaty Series No. 123*.

A NEW METHOD OF EFFECTIVE COMPLEX INFLUENCE OF DRUGS WITH DIFFERENT MECHANISMS OF ACTION ON EXPERIMENTAL ARBOVIRUS INFECTION

Kozlovskiy M. M., Genyk I. D., Chipak N. I., Semenyshyn O. B.

***Abstract.** In order to develop an effective method of emergency nonspecific prophylaxis of arbovirus infection, the effectiveness of the complex use of drugs with different mechanisms of action was investigated in experiments on laboratory mice, namely: the interferon inducer Amiksin, the natural polymineral biocorrector Mineral and the bioactive phytopreparation – flax seed oil. In the model of experimental tick-borne viral encephalitis, a significant, statistically significant increase of 26.3 % (1.8 times) of the antiviral effect of the scheme developed by us for the combined optimal administration of the specified drugs was established compared to the independent use of only one interferon inducer Amiksin, which in total reached 58.3 % protection. Considering the wide favorable spectrum of antiviral action of the presented official drugs on the human body, the proposed method of their joint use can be successfully applied in the clinic of many viral infections, especially when their etiology is unknown.*

Key words: antiviral activity, drugs Amiksin, Mineralol, linseed oil, tick-borne encephalitis virus.

Козловський Михайло Михайлович ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6440-0335>, +38 (050) 229 06 75, kmmnauka@gmail.com.

Геник Ігор Дмитрович ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8877-1982>

Чіпак Наталія Іванівна ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5149-2330>

Семенишин Оксана Богданівна ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0997-8481>