

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., Ruziindana-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 Минздравсоцразвития 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

Каждый год вирусы гриппа вызывают массовые вспышки заболеваний во всех регионах планеты. Наиболее восприимчивая часть населения – дети школьного возраста. Одновременно с этим грипп является причиной дополнительной смертности среди пожилых людей в эпидемическом сезоне [7]. Имеется достаточно данных, свидетельствующих о связи между вспышкой гриппа и количеством больных, госпитализированных или умерших от острой пневмонии или хронических сердечно-легочных болезней и других состояний, которые могут быть следствием заболевания гриппом [10, 11].

Противогриппозная вакцинация представляет собой оптимальный метод повышения устойчивости к инфекции, однако она эффективна только против штамма вируса с конкретным антигенным составом [9]. Несмотря на развитую систему мониторинга гриппа, не исключена возможность появления и быстрого распространения разновидности вируса, не соответствующей штаммовому составу вакцины.

Не менее важное значение имеет химиотерапия гриппа. Этиотропные фармакологические препараты – ремантадин, озельтамивир и рибавирин – могут снизить интенсивность и продолжительность инфекции, однако они обладают токсичностью и дают ряд побочных эффектов [2, 14]. Кроме того, вирусы гриппа способны вырабатывать резистентность к таким наиболее распространенным противовирусным препаратам, как производные адамантана (амантадин и ремантадин) и озельтамивир [12]. Таким образом, для контроля гриппозной инфекции необходимы новые противовирусные стратегии.

Одним из подобных направлений является применение препаратов иммуномодулирующей природы [4, 8]. К числу соединений, применявшихся для профилактики и лечения гриппа, относятся, в частности, дипептид глутамил-триптофан (EW), более известный как тимоген [6], бендазол и комбинированный препарат Цитовир-3 [4, 5], многочисленные индукторы интерферона [1], моноклональные антитела разной специфичности [8], а также экстракты солодки и их производные [15]. Имеющиеся данные [4] свидетельствуют о том, что значительная часть этих средств наиболее эффективна в качестве мер экстренной профилактики, применяемых либо в инкубационном периоде, либо в первые часы после инфицирования. По мере формирования клинической картины гриппа эффективность препаратов снижается, хотя даже в этой ситуации риск развития постинфекционных осложнений достоверно уменьшается. Сравнительные исследования эффективности тимогена, бендазола и их комбинации показали, что комбинированный препарат существенно превосходит по эффективности каждый из входящих в него компонентов [4]. Эти результаты согласуются с существующим мнением о том, что сочетание в одной композиции соединений, модулирующих разные иммунные реакции, более эффективно, чем каждый из образующих ее компонентов [8]. В связи с этим очевидный интерес представляет сочетание тимомиметика EW, предположительно являющегося агонистом метаболитного глутаматного рецептора, и глицерризиновой кислоты, подавляющей экспрессию провоспалительных цитокинов за счет ингибирования активности Толл-подобных рецепторов TLR-3 и TLR-4 [13]. Способность каждого

из этих соединений уменьшать тяжесть течения экспериментальной гриппозной инфекции хорошо документирована [4, 15]. В связи с изложенным представляет несомненный интерес исследование противоинфекционных свойств глицерризиновой кислоты тринатриевой соли (ГКТС), EW и их комбинации в отношении вируса гриппа *in vivo* на модели летальной гриппозной пневмонии у животных при введении в период манифестации инфекционного процесса (лечебная схема применения).

Материалы и методы

Препараты. В работе использовали ГКТС, глутамил-триптофана (EW) натриевую соль (ЗАО «МБНПК «Цитомед»», Санкт-Петербург). В качестве референс-препарата применяли ремантадин (α -метил-1-адамантил-метиламина гидрохлорид, «Aldrich Chem. Co.», Milw., WI, cat. # 39.059-3).

Вирус. Использовали адаптированный к мышам вирус гриппа A/Aichi/2/68 (H3N2). Вирус пассировали в аллантоисной полости 10–12-дневных куриных эмбрионов в течение 48 ч при 36°C.

Животные. Белых беспородных мышей (самки) массой 12–16 г получали из питомника «Рапполово» (Ленинградская обл.) и содержали на стандартном рационе в условиях вивария НИИ гриппа РАМН. Подбор животных в группы опыта проводили методом случайной выборки. До начала испытаний животные находились под наблюдением в течение 1 нед.

Экспериментальная гриппозная инфекция. Для заражения животных была использована вируссодержащая аллантоисная жидкость куриных эмбрионов. Из нее готовили серию 10-кратных разведений на физиологическом растворе, после чего инфекционную активность вируса в заражающем материале определяли в отдельном эксперименте при помощи титрования по летальности на животных. Титр вируса рассчитывали по методу Рида и Менча.

Исследуемые препараты вводили животным внутривенно в объеме 0,2 мл по лечебной схеме (1 раз в сутки в течение 5 дней, начиная с 1-х суток после инфицирования). Препарат сравнения применяли по той же схеме. Дозы препаратов: ГКТС – 10 мг на 1 кг массы животных, EW – 1000, 10 и 0,1 мг/кг, ремантадин – 50 мг/кг. В качестве плацебо животным контрольной группы вводили физиологический фосфатный буфер. В качестве отрицательного контроля использовали интактных животных, которые содержались в тех же условиях, что и опытные группы.

Вирусы вводили животным интраназально под легким эфирным наркозом по 1 LD₅₀ (25 мышей на группу) и 10 LD₅₀ (20 мышей на группу). На 3-й день после заражения 10 животных из каждой группы умерщвляли, вскрывали и изолировали легкие. Из этих 10 легких 5 использовали для выделения вируса (замораживали и хранили при -20°C до постановки соответствующих экспериментов), оставшиеся 5 легких фиксировали 10% забуференным формалином и использовали для гистологического анализа (см. ниже). Легкие животных, инфицированных вирусом в дозе 10 LD₅₀, использовали только для выделения вируса.

Наблюдение за оставшимися животными осуществляли в течение 14 дней, т. е. срока, на протяжении которого ежедневно фиксировали массу и смертность животных в контрольных и опытных группах.

На основании полученных показателей смертности в каждой группе рассчитывали процент смертности (M), индекс защиты (IP) и среднюю продолжительность жизни животных (MDD) из расчета 14 дней наблюдения в соответствии со следующими формулами:

$$MDD = (\sum N \cdot D) / Nt,$$

где N – количество животных, проживших D дней, Nt – общее число животных в группе;

$$M = M/Nt,$$

где M – число животных в группе, павших в течение 14 дней после заражения;

$$IP = ((Mc - Me) / Mc) \cdot 100\%,$$

где Mc и Me – смертность (в %) в контрольной и опытной группах соответственно.

Титрование вируса в легочной ткани. Для определения инфекционного титра вируса гриппа в легочной ткани животных легкие мышей, извлеченные на 3-и сутки после инфицирования, гомогенизировали в 10-кратном объеме стерильного физиологического фосфатного буфера и готовили из гомогенатов серии 10-кратных разведений на том же буфере. При определении титра вируса гриппа использовали культуру клеток MDCK (ATCC # CCL-34), выращенных на 96-луночных панелях на среде MEM. Клетки заражали серийными 10-кратными разведениями легочного гомогената от 10^0 до 10^{-7} и инкубировали в термостате в течение 48 ч. По окончании срока инкубации культуральную жидкость переносили в лунки планшета для иммунологических реакций, после чего добавляли равный объем 1% суспензии куриных эритроцитов в физиологическом растворе.

Уровень репродукции вируса в лунках панели оценивали по реакции гемагглютинации (РГА) эритроцитов. За титр вируса принимали величину, противоположную десятичному логарифму наибольшего разведения вируса, способного вызывать положительную реакцию гемагглютинации, и выражали в логарифмах 50% экспериментальной инфекционной дозы вируса ($\lg ЭИД_{50}$).

Гистологический анализ. Для морфологического исследования легкие фиксировали 10% формалином на фосфатном буфере, затем готовили препараты по стандартной методике с заливкой в парафин. Депарафинированные срезы окрашивали гематоксилином и эозином. В полученных препаратах оценивали интенсивность и клеточный состав воспалительного инфильтрата в очагах пневмонии и определяли степень дегенеративных и пролиферативных процессов в ткани легких.

Проявления бронхоолита и отека легких оценивали в окрашенных срезах легких полуколичественно по следующим критериям: 0 – клетки занимают от 0 до 25% поля зрения (что характерно для структуры интактных легких), 1 – 25–50% (умеренный отек), 2 – 50–75% (выраженный отек), 3 – 75–100% (тотальный отек легких). В каждой группе препараты просматривали в 10–20 полях зрения.

Статистическая обработка данных. Статистическую обработку результатов (расчет средних значений и стандартных отклонений) проводили при помощи программы Microsoft Excel. Достоверность различий оценивали по критерию Стьюдента. Различия между группами считали достоверными, если значение p не превышало 0,05.

Результаты

Протективная активность препаратов в опытах на животных. В ходе опыта не зарегистрирована неспецифическая смертность в контрольной группе интактных животных. Клинические признаки заболевания были типичными для гриппозной инфекции: затрудненное дыхание, атаксия, тремор, снижение потребления корма и воды.

Данные о динамике смертности животных в контрольных и опытных группах, уровне репродукции вируса в ткани легких и влиянии препаратов на степень воспалительных процессов и отека легких суммированы в таблице.

Инфицирование животных вирусом приводило к дозозависимой смертности в группах опыта, начиная с 6-х суток после инфицирования. Применение препаратов ГКТС и EW и ремантадина приводило к снижению смертности и повышению продолжительности жизни животных. В наибольшей степени эффект был выражен при введении EW в максимальной дозе (1 мг/кг) и комплекса EW и ГКТС (индексы защиты 41 и 77% соответственно). В последнем случае защитный эффект препаратов превосходил таковой ремантадина.

Влияние препаратов на репродукцию вируса. В ткани легких модельный вирус размножался до титров 6,9–7,3 $\lg ЭИД_{50}/20$ мг ткани в зависимости от инфицирующей дозы. Применение ГКТС не влияло на репродукцию вируса в ткани, однако использование EW приводило к достоверному снижению инфекционной активности вируса в легких, причем ингибирующий эффект не зависел от наличия в смеси ГКТС. Это относилось как к малой, так и к высокой инфицирующей дозе вируса.

Морфологический анализ. У зараженных мышей, не получавших лечение, морфологические изменения легочной ткани на 6-е сутки после инфицирования характеризовались скоплением нейтрофилов и клеточного детрита в просветах крупных бронхов, вирусспецифическим поражением клеток бронхиального эпителия с формированием в них вирусных включений и отторжением пораженных клеток в просвет бронха, интенсивным серозным интерстициальным отеком, очагами геморрагического отека, нейтрофильной инфильтрацией и распадом клеток в респираторных отделах, расширением сосудов и спадением альвеол (рис. 1, см. 2-ю полосу обложки). Значительная часть нейтрофилов при этом находилась в стадии распада. Перечисленные явления типичны для интенсивно протекающей вирусной пневмонии, и степень их выраженности может служить критерием для оценки тяжести процесса.

При введении исследуемых препаратов морфологическая структура легких животных, прошедших лечение, была сходной с таковой у контрольных животных. Основное отличие от животных, не получавших лечения, заключалось в резком ограничении признаков вирусспецифического и реактивного поражения ткани легких в острой стадии гриппозной пневмонии. Так, на 6-е сутки после инфицирования клетки бронхиального эпителия выглядели сохранными (рис. 2, а; см. 2-ю полосу обложки) в отличие от разрушенных клеток с многочисленными вирусными включениями у контрольных животных. Сами очаги воспаления занимали меньшую по сравнению с контролем площадь (рис. 2, б). Согласно полученным данным наиболее выраженное восстановление структуры ткани легких наблюдалось на фоне

Влияние EW и ГКТС на показатели гриппозной пневмонии, вызванной вирусом гриппа А/Aichi/2/68 (H3N2) у белых мышей

Препарат	Доза вируса, LD ₅₀	MDD, сут	Смертность, %	Индекс защиты, %	Увеличение MDD, сут	Титр вируса на 3-и сутки, lg ЭИД _{50/20} мг ткани	Степень отека легких, баллы
EW, 0,1 мкг/кг	10	8,4	93,3	0,0	-0,3	6,5 ± 0,3	н/о
	1	11,9	46,7	12,5	0,5	5,2 ± 1,2	1,7 ± 0,2 (<i>p</i> = 0,002)
EW, 10 мкг/кг	10	9,8	80,0	14,3	1,1	2,7 ± 1,0	н/о
	1	12,3	46,7	12,5	0,9	0,9 ± 0,3	3,2 ± 0,2 (<i>p</i> = 0,092)
EW, 1000 мкг/кг	10	11,5	60,0	35,7	2,9	2,3 ± 0,9	н/о
	1	13,4	26,7	50,0	2,1	1,8 ± 1,0	1,1 ± 0,2 (<i>p</i> = 0,000)
ГКТС, 10 мг/кг	10	9,9	80,0	14,3	1,3	7,0 ± 0,2	н/о
	1	12,0	53,3	0,0	0,7	5,8 ± 1,0	2,1 ± 0,2 (<i>p</i> = 0,073)
ГКТС + EW, 0,1 мкг/кг	10	9,9	86,7	7,1	1,2	6,9 ± 0,3	н/о
	1	12,2	53,3	0,0	0,9	5,6 ± 1,3	1,0 ± 0,2 (<i>p</i> = 0,000)
ГКТС + EW, 10 мкг/кг	10	12,1	53,3	42,9	3,4	2,0 ± 1,3	н/о
	1	12,5	33,3	37,5	1,2	1,5 ± 1,3	2,2 ± 0,2 (<i>p</i> = 0,112)
ГКТС + EW, 1000 мкг/кг	10	13,9	20,0	78,6	5,2	1,4 ± 0,5	н/о
	1	14,1	13,3	75,0	2,7	1,6 ± 0,9	0,9 ± 0,1 (<i>p</i> = 0,002)
Ремантадин, 50 мг/кг	10	13,0	26,7	71,4	4,3	2,2 ± 0,8	н/о
	1	13,9	13,3	75,0	2,6	2,3 ± 0,9	0,9 ± 0,2 (<i>p</i> = 0,000)
Контроль вируса	10	8,7	93,3	–	0,0	7,3 ± 0,2	н/о
	1	11,3	53,3	–	0,0	6,9 ± 0,4	2,7 ± 0,2 (<i>p</i> = 1,000)

Примечание. Жирным шрифтом выделены значения, отличающиеся от контрольных при уровне достоверности 95%; н/о – не определяли.

EW (1000 мкг/кг) в комбинации его с ГКТС (рис. 3, а; см. 2-ю полосу обложки). В данном случае активность этой комбинации была сопоставима с активностью ремантадина (рис. 3, б). Остальные сочетания препаратов оказывали сходное или меньшее влияние на морфологию легких при гриппозной пневмонии.

Количественно степень поражения легочной ткани животных контрольных и опытных групп была также оценена при микроскопическом исследовании легких. Было установлено (см. таблицу), что наибольшее влияние на отек и воспалительную инфильтрацию легких отмечалось при использовании ГКТС в комбинации с EW (1000 мкг/кг), что хорошо коррелирует с результатами вышеописанных тестов.

Обсуждение

Полученные результаты доказали правомерность первоначальной гипотезы относительно более высокой эффективности комбинированного препарата, состоящего из EW и ГКТС, в сравнении с каждым из компонентов по отдельности. При использовании комбинированного препарата, содержащего 10 мг/кг ГКТС и 1 мг/кг EW, выживаемость инфицированных животных была несколько выше, чем животных, получавших ремантадин. Увеличение выживаемости на фоне введения исследованной комбинации сопровождалось отчетливой тенденцией к снижению титра вируса в легких и соответственно нормализации гистологической картины легких.

Дипептидные производные активно разрабатываются в последнее время в качестве противовирусных препаратов. Наиболее интересными среди них являются

дипептиды, имеющие клеточные мишени и воздействующие на патологический процесс при вирусной инфекции опосредованно – через иммуномодуляцию, индукцию интерферона и т. п. [3]. Эти соединения не проявляют выраженные противовирусные свойства в клеточных культурах, однако имеют высокую активность при экспериментах на животных, что обусловлено взаимодействием многих клеточных популяций в процессе реализации механизма их действия. В этом смысле EW, использованный в данном исследовании, можно отнести к группе препаратов, эффективность которых обусловлена взаимодействием с системой врожденного иммунитета. С этой позиции сочетание EW с ГКТС полностью оправдано, поскольку производные солодки также реализуют свои свойства преимущественно через паттерн-распознающие рецепторы, но иного типа, чем EW. Таким образом, комбинация этих двух соединений позволяет в максимальной степени мобилизовать систему врожденного иммунитета на защиту от патогенного вируса. Полученные результаты позволяют рассматривать комбинацию ГКТС + EW как перспективное средство для лечения гриппа.

ЛИТЕРАТУРА

1. Еришов Ф. И. Антивирусные препараты. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006.
2. Киселев О. И., Деева Э. Г., Слута А. В., Платонов В. Г. Антивирусные препараты для лечения гриппа и ОРЗ. Дизайн препаратов на основе полимерных носителей. – СПб., 2000.
3. Носик Н. Н., Лаврухина Л. А., Кондрашина Н. Г. и др. Интерферониндуцирующая и противовирусная активность дипептидов // Вопр. вирусол. – 2010. – Т. 55, № 3. – С. 41–43.
4. Смирнов В. С., Селиванов А. А. Биорегуляторы в профилактике и лечении гриппа. – СПб.: Наука, 1996.

5. Смирнов В. С. Профилактика и лечение гриппа и острых респираторных вирусных инфекций. – СПб.: ФАРМИНдекс, 2010.
6. Хавинсон В. Х., Синакевич Н. В., Серый С. В. Тимоген. – СПб., 1991.
7. Clark N. M., Lynch J. R. Influenza: epidemiology, clinical features, therapy, and prevention // *Semin. Respir. Crit. Care Med.* – 2011. – Vol. 32, N 4. – P. 373–392.
8. Darwish I., Mubareka S., Liles W. C. Immunomodulatory therapy for severe influenza // *Expert. Rev. Anti. Infect. Ther.* – 2011. – Vol. 9, N 7. – P. 807–822.
9. Kent J. H., Chapman L. E., Schmeltz L. M. et al. Influenza surveillance – United States, 1991–1992 // *Morbidity and Mortality Weekly Report*. – 1992. – Vol. 41. – P. 35–46.
10. Madjid M., Miller C. C., Zarubaev V. V. et al. Influenza epidemics and acute respiratory disease activity are associated with a surge in autopsy-confirmed coronary heart disease death: results from 8 years of autopsies in 34 892 subjects // *Eur. Heart J.* – 2007. – Vol. 28, N 10. – P. 1205–1210.
11. Perotta D. M., Decker M., Glesen W. P. Acute respiratory disease hospitalization as a measure of impact of epidemic influenza // *Am. J. Epidemiol.* – 1985. – Vol. 122. – P. 468–476.
12. Pizzorno A., Abed Y., Boivin G. Influenza drug resistance // *Semin. Respir. Crit. Care Med.* – 2011. – Vol. 32, N 4. – P. 409–422.
13. Schrofelbauer B., Raffetseder J., Haunter M. et al. Glycyrrhizin, the main active compound in licorice, attenuates pro-inflammatory responses by interfering with membrane-dependent receptor signaling // *Biochem. J.* – 2009. – Vol. 421, N 3. – P. 473–482.
14. Upton D. A., Aoki F. Y., Stiver H. G. The use of antiviral drugs for influenza: Recommended guidelines for practitioners // *Can. J. Infect. Dis. Med. Microbiol.* – 2006. – Vol. 17, N 5. – P. 273–284.
15. Utsunomiya T., Kobayashi M., Pollard R. B., Suzuki F. Glycyrrhizin, an active component of licorice roots, reduces morbidity and mortality of mice infected with lethal doses of influenza virus // *Antimicrob. Chemother.* – 1997. – Vol. 41, N 3. – P. 551–556.

Поступила 30.11.11

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2012
УДК 578.833.1:578.53].083.2:577.21.08

К. Е. Кузьмина, А. Д. Забережный, А. М. Бутенко

Молекулярно-генетический анализ штаммов вируса Тягиня

ФГБУ НИИ вирусологии им. Д. И. Ивановского Минздравсоцразвития, Москва

Определена частичная нуклеотидная последовательность S- и M-сегментов генома у 13 малоизученных штаммов вируса Тягиня (*Bunyaviridae*, *Bunyavirus*, серогруппа калифорнийского энцефалита), выделенных на территории Чехословакии, Финляндии, Армении, Азербайджана, Казахстана и Таджикистана. Филогенетический анализ показал, что исследованные штаммы формируют две группы с четкой географической привязкой – европейскую и азиатскую.

Ключевые слова: вирус Тягиня, филогенетический анализ

Molecular genetic analysis of Tahyna virus strains

К. Е. Kuzmina, A. D. Zaberezhnyi, A. M. Butenko

D. I. Ivanovsky Research Institute of Virology, Ministry of Health and Social Development of Russia, Moscow

The partial nucleotide sequence of S and M genome segments was identified in 13 little studied Tahyna virus (*Bunyaviridae*, *Bunyavirus*, California encephalitis serogroup) strains isolated in Czechoslovakia, Finland, Armenia, Azerbaijan, Kazakhstan, and Tajikistan. A phylogenetic analysis indicated that the examined strains form two groups with a geographical connection: European and Asian genetic groups.

Key words: *Tahyna virus*, phylogenetic analysis

Вирус Тягиня, относящийся к роду *Bunyavirus* семейства *Bunyaviridae*, был впервые выделен в Чехословакии в 1958 г. [5]. Он входит в состав серокомплекса вируса калифорнийского энцефалита, к которому относятся также вирусы Инко, зайца-беляка и др. [9]. Переносчиками вируса Тягиня являются комары.

Вирус распространен в Восточной и Западной Европе, Закавказье, странах Средней Азии, Китае и Африке [4, 9]. Установлена его активная циркуляция в южных регионах России. Наиболее напряженные очаги лихорадки Тягиня находятся в Астраханской области в дельте Волги [2]. Доказана циркуляция вируса в Волгоградской, Саратовской, Ростовской, Московской, Рязанской областях, Калмыкии и других регионах [7, 8].

Вирус Тягиня вызывает заболевание, протекающее как без поражения ЦНС (92,5%), так и с синдромом острой нейроинфекции (редко). Инкубационный период составляет 3–7 дней. Полиорганный характер поражения в

результате вовлечения в патологический процесс бронхолегочной системы, почек, печени, ЦНС свидетельствует о возможности генерализации инфекции [1, 2].

Вирус Тягиня является оболочечным со спиральным строением нуклеокапсида, имеет сферическую форму. На поверхности в равных количествах присутствуют два структурных гликопротеина – Gn и Gc. Геном вируса состоит из 3 сегментов односторонней РНК негативной полярности – S, M и L – и имеет организацию, характерную для всех буньявирусов. L-сегмент кодирует РНК-зависимую РНК-полимеразу. M-сегмент кодирует полипротеин, включающий в себя гликопротеины Gn и Gc и неструктурный белок NSm. S-сегмент – нуклеокапсидный N-белок и неструктурный белок NSs в перекрывающихся рамках считывания [6, 11, 12].

Наличие сегментированного генома, одновременная активность в эндемичном районе двух или нескольких

Контактная информация:
Кузьмина Ксения Евгеньевна, науч. сотр.; e-mail: arboelisa@mail.ru