

16. Сейби́ль В.Б., Малышккина Л.П., Тамазян Г.В., Коноплева Т.Н., Успенская Е.С. Коллективный иммунитет к полиомиелиту у детей в Московской области. *Вопросы вирусологии*. 2009; 6: 13–8.
17. Джабиров Ш.С. *Проблема ликвидации инфекций в условиях социально-экономической и военно-политической нестабильности (на примере Республики Таджикистан)*: Дисс. ... докт. мед. наук. М.; 2005.

#### REFERENCES

1. Resolution of the 41<sup>st</sup> World Health Assembly WHA 41.28. Global Eradication of poliomyelitis by the year 2000. Geneva: WHO; 1988. Available at: <http://www.who.int/whr/polioresolution4128en.pdf>
2. Ivanova O.E., Ereemeeva T.P., Lipskaya G.Yu., Cherkasova E.A., Gavrilin E.V., Drozdov S.G. Outbreak of paralytic poliomyelitis in the Chechen Republic in 1995. In: Brown F., ed. *Progress in polio eradication: vaccine strategies for the end game*. Dev. Biol. Basel: Karger; 2001; 105: 231–7.
3. CDC. Certification of poliomyelitis eradication – European Region, June 2002. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 2002; 51 (26): 572–4.
4. CDC. Poliomyelitis in Tajikistan: first importation since Europe certified polio-free. *Wkly. Epidemiol. Rec.* 2010; 85 (18): 157–8.
5. Yakovenko M.L., Gmyl A.P., Ivanova O.E., Ereemeeva T.P., Ivanov A.P., Prostova M.A. et al. The 2010 outbreak of poliomyelitis in Tajikistan: epidemiology and lessons learnt. *EURO Surveill.* 2014; 19 (7). Available at: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20706>.
6. Khetsuriani N., Pallansch M.A., Jabirov S., Saparova N., Oberste M.S., Wannemuehler K. et al. Population immunity to polioviruses in the context of a large-scale wild poliovirus type 1 outbreak in Tajikistan, 2010. *Vaccine*. 2013; 31 (42): 4911–6.
7. Onishchenko G.G., Ezhlova E.B., Mel'nikova A.A., Lazikova G.F., Demina Yu.V., Frolova N.V. Poliomyelitis in Tajikistan. Protection of Russia from emergence and spread of wild poliomyelitis virus. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2011; 2: 12–22. (in Russian)
8. Shishov A.S., Sayfullin M.A., Shakaryan A.K., Ivanova O.E., Sachkova I.Yu. A case of poliovirus infection caused by a wild strain in the adult patient. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova*. 2011; 111 (10): 77–80. (in Russian)
9. Romanenkova N.I., Bichurina M.A., Rozaeva N.R., Pogrebnaya T.N. The role of epidemiologic surveillance of migrants in the system of

- poliomyelitis control. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2012; 6: 27–31. (in Russian)
10. van der Maas N.A., Mollema L., Berbers G.A., Rooijen D.M., van der Avoort H.G., Conyn-Van Spaendonck M.A. et al. Immunity against poliomyelitis in the Netherlands, assessed in 2006 to 2007: the importance of completing a vaccination series. *EURO Surveill.* 2014; 19 (7). Available at: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20705>
11. WHO. *Polio Eradication and Endgame Strategic Plan 2013–2018*. Available at: [http://www.polioeradication.org/Portals/0/Documents/Resources/StrategyWork/PEESP\\_EN\\_A4.pdf](http://www.polioeradication.org/Portals/0/Documents/Resources/StrategyWork/PEESP_EN_A4.pdf).
12. World Health Organization (WHO). *Manual for the virological investigation of polio*. WHO/EPI/GEN/97.1.1. Geneva: WHO; 1997. Available at: [http://whqlibdoc.who.int/hq/1997/WHO\\_EPI\\_GEN\\_97.01.pdf](http://whqlibdoc.who.int/hq/1997/WHO_EPI_GEN_97.01.pdf)
13. Dragunsky E., Ivanov A., Wells V., Ivshina A.V., Rezapkin G.V., Abe S. et al. Evaluation of immunogenicity and protective properties of inactivated poliovirus vaccine: a new surrogate method for predicting vaccine efficacy. *J. Infect. Dis.* 2004; 190 (8): 1404–12.
14. Ivanov A.P., Tkachenko E.A., Petrov V.I., Pashkov A.J., Dzagurova T.K., Vladimirova T.P. et al. Enzyme immunoassay for the detection of virus specific IgG and IgM antibody in patients with HFRS. *Arch. Virol.* 1988; 100 (1–2): 1–7.
15. Seybil' V.B., Malyskikina L.P., Khishtonova S.N., Lesnikova M.V., Baryshnikova A.S., Konopleva T.N. et al. State of collective immunity against poliomyelitis in some regions of Russia. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2013; 2: 56–64. (in Russian)
16. Seybil' V.B., Malyskikina L.P., Tamazyan G.V., Konopleva T.N., Uspenskaya E.S. Herd immunity against poliomyelitis in children in the Moscow Region. *Itoprosy Virusologii*. 2009; 6: 13–8. (in Russian)
17. Dzhabirov Sh.S. *The Problem of Elimination of Infections Under Conditions of Socio-economic and Military-political Instability (for example, the Republic of Tajikistan)*: Diss. Moscow; 2005. (in Russian)
18. Fifteenth meeting of the European Regional Commission for the Certification of Poliomyelitis Eradication. Copenhagen, June 19–21, 2002. Copenhagen: WHO; 2005.
19. CDC. Outbreaks following wild poliovirus importations – Europe, Africa, and Asia, January 2009 – September 2010. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 2010; 59 (43): 1393–9.
20. Onishchenko G., Ezhlova E., Gerasimova A., Tsvirkun O., Shulga S., Lipskaya G. et al. Progress toward measles elimination in the Russian Federation, 2003–2009. *J. Infect. Dis.* 2011; 204 (Suppl. 1): S366–72.

Поступила 30.05.14

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015  
УДК 615.32.03:616.98:578.825.111.036.8.079.6

Алимбарова Л.М.<sup>1</sup>, Лазаренко А.А.<sup>1</sup>, Баринский И.Ф.<sup>1</sup>, Дижса В.И.<sup>2</sup>

## Изучение противовирусной активности НРМ-7.0 – экстракта мицелия высшего гриба *Fusarium sambucinum* на модели экспериментальной герпесвирусной инфекции

<sup>1</sup>ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва; <sup>2</sup> ЗАО «ДижсаФарм», 129515, г. Москва

Изучена противовирусная активность НРМ-7.0 – экстракта монокультуры высшего гриба *Fusarium sambucinum* на модели экспериментальной герпесвирусной инфекции (ГИ). Установлено, что при системном применении у животных НРМ-7.0 оказывает выраженное терапевтическое воздействие на течение экспериментальной ГИ, способствуя быстрому регрессу элементов и экссудативно-воспалительных явлений, достоверному сокращению средней продолжительности заболевания, предотвращению генерализации процесса. Наиболее значимые результаты получены при использовании НРМ-7.0 по профилактической и лечебно-профилактической схемам применения. По эффективности применения НРМ-7.0 был сопоставим с таковой препарата контроля Ридостин. Полученные результаты позволяют считать НРМ-7.0 перспективной основой для создания противовирусных препаратов и использования в терапии ГИ.

Ключевые слова: *Fusarium sambucinum*; вирус простого герпеса; герпесвирусная инфекция; лечение.

Для цитирования: Вопросы вирусологии. 2015; 60 (5): 21–26.

Для корреспонденции: Алимбарова Людмила Михайловна, канд. мед. наук, доцент, вед. науч. сотр.; e-mail: virology@mail.ru

## A study of the antiviral activity of the HPM-7.0, extract of mycelium of the higher fungi *Fusarium sambucinum*, on the model experimental herpes viral infection

<sup>1</sup>Federal Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, Moscow, Russia; <sup>2</sup>DizhaFarm, Ltd., Moscow, Russia

Antiviral activity in the HPM-7.0, extract of a monoculture of the fungus *Fusarium sambucinum*, was studied on the herpesvirus infection model. It was found that in case of systematic use in animals HPM-7.0 has a strong therapeutic effect on the course of experimental herpesvirus infection, contributing to the rapid regression of elements and exudative inflammation. It also reliably reduces the average duration of the disease and prevents generalization of the process. The most significant results were obtained using the HPM-7.0 in preventive and curative-preventive modes. The efficiency of the HPM-7.0 was comparable to that of the drug Ridostin. The results obtained in this work suggest the HPM-7.0 as a promising agent to be used in antiviral drugs intended for treatment of the herpesvirus infection.

Key words: *Fusarium sambucinum*; herpes simplex virus; herpesvirus infection; treatment.

Received 22.01.15

For correspondence: Ludmila Alimbarova, MD, PhD, associate professor, leading researcher associate; e-mail: virology@mail.ru  
Citation: Voprosy virusologii. 2015; 60(5): 21–26. (In Russ.)

### Введение

Поиск и использование биологически активных соединений, обладающих лечебными свойствами, из природных источников, в том числе из высших грибов, является одним из актуальных направлений создания современных препаратов в медицине. Преимуществом данных препаратов является то, что входящие в их состав биологически активные вещества (БАВ) (полисахариды, органические кислоты, липиды, стероидные вещества, тетрациклические тритерпены, эргостеролы, нуклеозиды, антибиотики) более естественно включаются в обменные процессы человека, чем синтетические вещества, повышая эффективность терапии [1, 2]. Лекарственные средства, приготовленные из грибов, широко используются в традиционной медицине в лечении ряда соматических, онкологических и инфекционных заболеваний. Установлена противовирусная активность экстракта гриба *Trametes versicolor* в отношении ВИЧ и цитомегаловируса, экстракта гриба *Lentinula edodes* в отношении вируса везикулярного стоматита, аденовируса 12-го типа, вируса гриппа А, ВИЧ, экстракта гриба *Inonotus obliquus* в отношении вируса гепатита С и вируса гриппа А [1]. В последние годы внимание ученых привлекли внимание грибы *Fusarium sambucinum*, являющиеся источниками БАВ, а также белка пищевого и кормового назначения [3–6]. Сбалансированный состав грибов *F. sambucinum* стал основанием для изучения их терапевтических свойств. Цель настоящего исследования – изучить противовирусную активность НРМ-7.0, разработанного на основе мицелия монокультуры гриба *F. sambucinum*, на модели экспериментальной герпесвирусной инфекции (ГИ).

### Материалы и методы

**Вирус.** В работе использовали вирус простого герпеса (ВПГ) 2-го антигенного типа, штамм ВН, полученный из Государственной коллекции вирусов РФ ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского» в виде вирусосодержащей взвеси с инфекционным титром  $5,5 \pm 0,2 \lg \text{ТЦИД}_{50}/\text{мл}$ . Вирус поддерживали в серийных пассажах и титровали на перевиваемой культуре клеток почек зеленых мартышек (VERO) в среде Игла, содержащей 2% сыворотки эмбрионов телят («Gibco», США), глутамин и антибиотики. Титр вируса рассчитывали по методу Рида и Менча [7].

**Животные.** Для моделирования экспериментальной формы ГИ использовали самцов морских свинок массой 250–300 г, полученных из питомника «Столбовая» РАМН и содержащихся в стандартных условиях вивария на стандартном рационе в соответствии с правилами содержания и использования лабораторных животных.

**Препараты.** НРМ-7.0 – композиция, разработанная на основе мицелия монокультуры гриба *Fusarium sambucinum* Fuckel var. *ossiculum* (Berk et Curt) bilai ВСБ-917 (ВКПМ F-165), полученного способом глубинного культивирования, позволяющим получить чистое сырье (субстанцию с заданными свойствами) в более короткие сроки. Штамм *F. sambucinum* ВСБ-917 (ВКПМ F-165) является продуцентом комплекса БАВ профилактического и лечебного назначения в биомассе и культуральной жидкости, не патогенен и не токсичен. НРМ-7.0 представляет собой концентрат низкомолекулярного пептидного соединения и дефрагментированных ДНК диаметром от 1 до 50 нм и имеет следующий состав: общий белок – 55–57%, минеральные элементы – 24–26%, витамины (группы В, фолиевая и никотиновая кислоты) – 0,8–0,86%, липиды – 4,2–7,6%, полисахариды – 14,6% и т. д. [5]. В состав НРМ-7.0 входят 22 аминокислоты, в том числе незаменимые (триптофан, лизин, метионин), ненасыщенные жирные кислоты, 50% которых приходится на долю линоленовой кислоты, коэнзимы Q<sub>6</sub>, Q<sub>9</sub>, Q<sub>10</sub>, углеводы (представленные гликанами, лентинаном, органическими кислотами (яблочной, лимонной, янтарной)). Токсикологические исследования НРМ-7.0, проведенные в лаборатории лекарственной токсикологии Института экспериментальной кардиологии РКПНК МЗ РФ, показали, что состав НРМ-7.0 является нетоксичным, не влияет на гематологические показатели и функциональное состояние основных органов и систем организма подопытных животных.

Для получения жидкой формы НРМ-7.0 грибной мицелий трехкратно замораживали (–40°C) и оттаивали, гомогенизировали, обрабатывали ультразвуком и центрифугировали 15 мин при 8000–12 000 об/мин для освобождения от хитиновой оболочки мицелия. Полученный супернатант отсасывали, фильтровали через фильтр с размером пор 0,22 мкм («Millipore»), проверяли на стерильность и использовали в экспериментах.

В качестве препарата сравнения применяли Ридостин (рибонуклеат натрия) – смесь натриевых солей дуспиральной и однопочечной РНК в виде лиофилизированного порошка для приготовления инъекционного раствора производства ЗАО «Вектор-Медика», Россия.

**Оценку противовирусной эффективности** НРМ-7.0 осуществляли в соответствии с официальными требованиями к доклиническим испытаниям [8]. Активность НРМ-7.0 в отношении ВПГ изучали на самцах морских свинок, которых заражали культуральной, вирусосодержащей жидкостью (ВПГ-2, ВН) по стандартной методике [8, 9]. Вирусосодержащую жидкость (в дозе 100 ТЦД<sub>50</sub>) наносили с помощью пипетки (с последующим

втиранием) на предварительно скарифицированную кожу пениса. Скарифицирование проводили с помощью хирургического ланцета после анестезирования животных лидокаином. Размер площади скарификации составлял 4–7 мм<sup>2</sup>. С учетом цели эксперимента все животные были разделены на 5 опытных и 3 контрольные группы по 5 особей в каждой. Группа 1 (контрольная) содержала инфицированных ВПГ-2 животных, получавших интраперитонеально плацебо (физиологический фосфатный буфер). В группу 2 вошли животные, инфицированные ВПГ-2 и получавшие НРМ-7.0 интраперитонеально по профилактической схеме за 3 сут до инфицирования, ежедневно в дозе 10 мг/мл на 1 животное 2 раза в сутки в 1-й день и 3 раза в сутки в последующие дни. Группа 3 содержала инфицированных животных, получавших НРМ-7.0 интраперитонеально по лечебной схеме через 3 ч после инфицирования и далее ежедневно в течение 7 сут в дозе 50 мг/мл на 1 животное 3 раза в сутки. В группу 4 вошли инфицированные животные, получавшие НРМ-7.0 интраперитонеально по лечебной схеме через 48 ч после инфицирования и далее ежедневно в течение 7 дней в дозе 50 мг/мл на 1 животное 3 раза в сутки. В группу 5 включили животных, инфицированных ВПГ-2 и получавших НРМ-7.0 интраперитонеально по лечебно-профилактической схеме за 3 сут до инфицирования и через 3 ч после инфицирования ежедневно в течение 7 дней. Группа 6 содержала животных, инфицированных ВПГ-2 и получавших НРМ-7.0 интраперитонеально по лечебно-профилактической схеме за 3 сут до инфицирования и через 48 ч после инфицирования ежедневно в течение 7 дней в дозах, указанных выше. Для изучения побочного действия НРМ-7.0 5 свинок были выделены в отдельную группу (отрицательный контроль). Животных этой группы содержали в тех же условиях, что и подопытных животных и инфицированию не подвергали.

Референс-препарат Ридостин вводили в соответствии с инструкцией по его медицинскому применению с учетом равноэквивалентности доз для человека: по профилактической схеме (за 3 сут до инфицирования ежедневно однократно внутримышечно в дозе 200 мкг на 1 животное 1 раз в сутки (группа 7)); по лечебно-профилактической схеме (за 3 сут до инфицирования внутримышечно ежедневно однократно и через 24 и 72 ч после инфицирования в дозе 200 мкг на 1 животное (группа 8)).

Наблюдение за животными осуществляли в течение 21 дня. Тяжесть инфекционного процесса оценивали ежедневно перед проведением лечения и прослеживали в течение всего периода болезни по следующим параметрам: площадь и степень специфических поражений (везикулы, пустулы, изъязвления, корочки), наличие отека, гиперемии, орхита. Максимальная выраженность каждого признака составляла 4 балла. Основными критериями оценки эффективности препаратов *in vivo* были интенсивность клинических проявлений, средняя продолжительность заболевания (СПЗ), индекс лечебного действия (ИЛД), уровень накопления вируса в смывах в разные сроки после инфицирования ( $\Delta$ , Ig).

$ИЛД (в \%) = \frac{\text{сумма баллов} - \text{сумма баллов в группе животных, в контроле}}{\text{сумма баллов в контроле}} \cdot 100$ .

**Вирусологические исследования.** Выделение и титрование вируса из биоматериала животных (содержимого везикул, корочек, смывов со слизистой оболочки уrogenитального тракта), взятого в разные сроки после инфицирования, проводили *in vitro* на культуре клеток VERO с использованием стандартных вирусологических методов исследования [8]. Клетки, выращенные на 96-луночных панелях на среде Игла, заражали серийными 10-кратными разведениями биоматериала от 10<sup>-1</sup> до 10<sup>-6</sup>, приготовленными на стерильном физиологическом фосфатном буфе-

ре, и инкубировали в термостате в течение 96 ч. По окончании срока инкубации оценивали инфекционную активность биоматериала по стандартной методике (по Риду и Менчу) и выражали в Ig ТЦД<sub>50</sub>/мл [7].

Статистическую обработку результатов проводили с использованием прикладных программ математико-статистического анализа Microsoft Office-Excel 7.0, Statistica 6.0. Полученные результаты после проверки соответствия данных нормальному распределению обрабатывали с использованием параметрических и непараметрических методов вариационной статистики с заданным уровнем значимости  $\alpha = 0,05$  и достоверностью  $p = 95\%$  [10].

## Результаты

**Клинические признаки генитального герпеса (ГГ).** ГИ, вызываемая ВПГ, является одной из распространенных инфекций человека, заболеваемость которой неуклонно растет во всех странах мира [11]. Одной из приоритетных моделей изучения ГИ является модель ГГ, воспроизводимая на морских свинках [8]. В ходе опыта по определению эффективности применения НРМ-7.0 у морских свинок установлено, что клинические признаки были типичными для ГИ гениталий и развивались через 24–48 ч после инфицирования. Вначале на слизистой оболочке полового члена и прилежащих участках кожи появлялись единичные везикулезные высыпания на эритематозном фоне, затем при прогрессировании заболевания число везикул увеличивалось, возникали сливные очаги с геморрагическим содержимым, кровоточащие эрозии, изъязвления, умеренно выраженный орхит. В последующие дни эрозии и язвы эпителизировались либо под коркой, либо без ее образования. Максимальное развитие симптоматики отмечали на 5-е сутки после инфицирования. У 2 инфицированных животных, получавших плацебо (группа 1), с 6-го дня после инфицирования отмечали симптомы генерализации ГИ (повышение температуры тела, вялость, адинамичность, нарушение функции тазовых органов, паралич задних конечностей), подтвержденные вирусологическими методами. На 10-е сутки после инфицирования при нарастающих явлениях менингоэнцефалита зафиксировали гибель 1 особи. У другой особи к 18-м суткам после инфицирования наблюдали снижение показателей клинических проявлений заболевания, выражающееся в заживлении эрозий, эпителизации слизистой оболочки, восстановлении функции тазовых органов, при частичном сохранении парезов. Суммарный индекс выраженности симптоматики (СИБС) в контрольной группе составил 66 баллов, СПЗ – 16,4±2,1 сут.

Иная картина заболевания наблюдалась у инфицированных животных на фоне терапии с использованием НРМ-7.0. Результаты изучения эффективности НРМ-7.0 в отношении экспериментального ГГ с использованием НРМ-7.0 представлены в таблице.

Данные, представленные в таблице, свидетельствуют о том, что использование НРМ-7.0 по лечебной, профилактической, лечебно-профилактической схемам оказывало на течение ГГ у самцов морских свинок положительное воздействие разной степени выраженности. Наиболее значимые результаты лечения получены в группе инфицированных животных на фоне использования НРМ-7.0 по профилактической схеме – за 3 сут до инфицирования (группа 2) (см. таблицу; рисунок).

Применение НРМ-7.0 приводило к статистически достоверному терапевтическому эффекту (ИЛД составил 42,4%), снижению почти в 2 раза выраженности симптоматики, сокращению СПЗ в среднем на 7,1 сут по сравнению с аналогичными показателями у инфицированных животных, получавших плацебо, предотвращало развитие генерализованной инфекции. Инфекционный процесс отличало мягкое течение, отсутствие выраженных

Эффективность НРМ-7.0 на модели ГГ у морских свинок

№ группы	Группа животных	СПЗ, сут, $M \pm m$	СИВС, баллы, $M \pm m$	ИЛД, %
1	Контроль (плацебо)	16,4±2,1	66,0±4,5	
2	НРМ-7.0 -72, -48, -24 ч	9,25±0,6*	38,0±2,0*	42,4*
3	НРМ-7.0 +3, +24, +48, +72, +96, +120, +144 ч	11,0±1,8*	44,0±2,0*	33,0*
4	НРМ-7.0 +48, +72, +96, +120, +144, +168, +192 ч	12,0±1,4*	51,0±3,0*	22,7*
5	НРМ-7.0 -72, -48, -24, +3, +24, +48, +72, +96, +120, +144 ч	10,5±1,5*	43,5±2,5*	34,0*
6	НРМ-7.0 -72, -48, -24, +48, +72, +96, +120, +144, +168, +192 ч	11,4±1,2*	42,0±2,0*	36,0*
7	Ридостин -72, -48, -24 ч	10,75±1,7*	45,0±1,5*	31,8*
8	Ридостин -72, -48, -24, +24, +72 ч	12,66±1,4*	49,0±2,5*	25,7*

Примечание. \* – статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой (плацебо) ( $p < 0,05$ ).

экссудативно-воспалительных явлений, малочисленность высыпаний, сокращение сроков разрешения элементов, отсутствие орхита. Необходимо отметить, что по эффективности применения НРМ-7.0 был сопоставим с референс-препаратом Ридостин (ИЛД равен 31,8%). Доказательством противовирусной активности НРМ-7.0 являются результаты, полученные в опытах по титрованию образцов биоматериала на 24-часовом монослое линии клеток VERO. Так, титры вируса, изолированного у животных, леченных НРМ-7.0, были в 50 раз ниже титров вируса, изолированного у животных контрольной группы, и составили на 5-е сутки после инфицирования  $3,5 \pm 0,1$  и  $5,25 \pm 0,25 \text{ lg TЦД}_{50}/\text{мл}$ , на 7-е сутки –  $1,5 \pm 0,1$  и  $3,25 \pm 0,15 \text{ lg TЦД}_{50}/\text{мл}$  соответственно.

При использовании НРМ-7.0 по лечебной схеме наибольший терапевтический эффект (ИЛД 33,0%) был достигнут в группе инфицированных животных, обработанных препаратом в ранние сроки после инфицирования (группа 3). Следует отметить, что как и при назначении по профилактической схеме, НРМ-7.0 приводил к уменьшению выраженности экссудативно-воспалительных явлений и оказывал достоверное влияние на сроки и стадию появления элементов. Применение НРМ-7.0 как в ранние сроки после инфицирования (группа 3), так и на фоне выраженных проявлений инфекционного процесса (группа 4) приводило к статистически достоверному сокращению СПЗ в среднем на 4,9 сут по сравнению с аналогичными показателями в контрольной группе. Признаки генерализованной инфекции были отмечены у 1 особи из групп 3 и 4 на 8-е сутки после заражения, однако гибель при нарастающих явлениях менингоэнцефалита была отмечена только в группе 4 на 12-е сутки после заражения (на 2 сут позже, чем в контроле).

У животных, получавших НРМ-7.0 по лечебно-профилактической схеме, в том числе через 3 ч после инфицирования (группа 5) или в более поздние сроки (48 ч после инфицирования в группе 6), были выявлены сходные показатели СИВС, СПЗ, ИЛД. Генерализованной инфекции, как и гибели животных, в данных группах отмечено не было, в то время как в контрольной группе и на фоне применения Ридостина наблюдалась генерализация процесса, приведшая к гибели 1 животного.

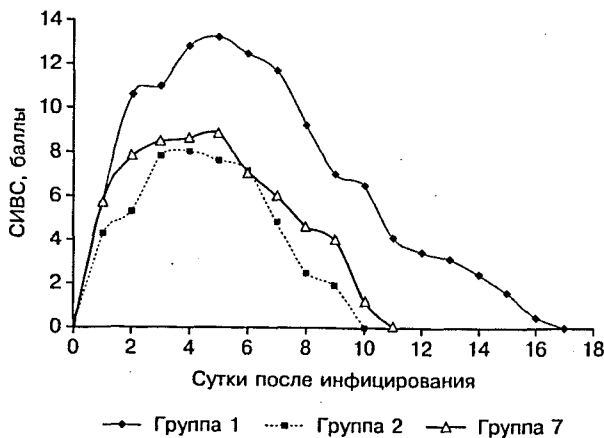
Изучение влияния НРМ-7.0 на уровень выделения ВПГ 2-го типа у самцов морских свинок. У инфицированных животных на фоне лечения НРМ-7.0 и препаратом Ридостин выделение вируса из очагов поражения отмечалось до 7-го дня после инфицирования, в то время как у животных, получавших плацебо, выделение вируса происходило до 9-го дня включительно. Титры вируса из смывов у животных, получавших плацебо, составили на 5-е сутки после инфицирования  $5,25 \pm 0,25 \text{ lg TЦД}_{50}/\text{мл}$ , у животных, леченных НРМ-7.0, –  $3,5 \pm 0,1 \text{ lg TЦД}_{50}/\text{мл}$ , у животных, леченных ридостином, –  $3,0 \pm 0,1 \text{ lg TЦД}_{50}/\text{мл}$  ( $p < 0,05$ ). Титры вируса под влиянием НРМ-7.0 были достоверно ниже в 50 раз по сравнению с титрами вируса у животных в контрольной группе. Достоверная разница в титрах вируса, выделенного у животных на фоне лечения НРМ-7.0 и препаратом Ридостин, отсутствовала ( $p > 0,05$ ).

При изучении общей переносимости НРМ-7.0 у неинфицированных животных, получавших препарат интра-

перитонеально, видимых побочных реакций (изменений в массе тела, состоянии их шерстного покрова и слизистых оболочек, поведенческих реакциях) в течение всего периода наблюдения зарегистрировано не было.

Обсуждение

Поиск и изучение новых методов лечения ГИ является актуальной задачей [11]. В настоящее время в качестве потенциальных препаратов с противовирусной активностью рассматриваются средства на основе экстрактов, полученных из различных грибов (высших и низших мицелиальных грибов), что связано с их уникальным составом и способностью синтезировать БАВ [1, 2, 12, 13]. Микромицеты используются в различных отраслях народного хозяйства – в медицине, сельском хозяйстве, биотехнологии (для получения белков, липидов, пищевых волокон, антибиотиков, ферментов, витаминов). Среди грибов наибольший интерес вызывают высшие мицелиальные грибы *F. sambucinum*, особенно их непатогенные штаммы, обладающие выраженными полифункциональными свойствами, в том числе антибактериальной, детоксикационной, антиоксидантной,



Динамика течения ГГ у самцов морских свинок на фоне использования НРМ-7.0 – экстракта биомассы мицелия гриба *F. sambucinum* по профилактической схеме.

Группа 1 – плацебо; группа 2 – введение НРМ-7.0 по профилактической схеме (-72, -48, -24 ч); группа 7 – введение референс-препарата Ридостин по профилактической схеме (-72, -48, -24 ч).

адаптогенной, иммуностимулирующей активностью, противовоспалительными и ранозаживляющими свойствами, способностью стимулировать выработку эндогенного гамма- и альфа-интерферона, корригировать местный иммунитет [6]. Указанные свойства обусловлены составом входящих в *F. sambucinum* БАВ: протеина, липидов, углеводов, нуклеиновых кислот, аминокислот, минеральных элементов, витаминов [18].

В последние годы грибы *F. sambucinum* благодаря своему составу и выраженным лечебно-профилактическим, биопротекторным и пребиотическим свойствам широко используются в качестве биологически активных препаратов – нутрицевтиков, пребиотиков – в медицине для лечения и профилактики различных заболеваний, в косметике для оздоровления и омоложения кожных покровов [3].

Известно несколько непатогенных штаммов гриба *F. sambucinum* – продуцентов БАВ, депонированных во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (ВКПМ): штаммы ВКМ N F 3051 D и МКФ 2001-3 (ВКПМ № F-867) – продуценты простагландинов, ВКМ 139 – продуцент убихинона Q<sub>10</sub>; МКФ 2001-3 (ВКПМ № F-867), ВКПМ F 3051 D – продуценты широкого спектра БАВ в биомассе и культуральной жидкости; ВСБ-917 (ВКПМ № F-169) – продуцент белка пищевого и кормового назначения и БАВ, на основе которого получен препарат «Милайф», влияющий на тканевый обмен [4]. Однако данный штамм характеризуется низким уровнем синтеза углеводов, в том числе высокомолекулярных полисахаридов – гликанов, проявляющих биологическую активность. Штамм *Fusarium sambucinum* var. *ossicolum* (Berk et Curt) bilai PS-64 (ВКПМ № F-165) используется в качестве продуцента белка пищевого и кормового назначения и БАВ, характеризуется более высоким уровнем синтеза углеводов до 23%. На основе штамма создана биологически активная добавка (БАД) к пище «Микро-ВИТ». Недостатком штамма PS-64 (ВКПМ № F-165) является низкая скорость роста и ограниченный спектр продуцируемых физиологически активных веществ. Известны препараты Флоравит (водный и масляный растворы) [5], Таис славянская, разработанные на основе *F. sambucinum* Fuckel var. *ossicolum* штамм ВСБ-917, которые нашли широкое применение в гастроэнтерологии (для лечения вирусных гепатитов В и С, заболеваний ЖКТ), в гинекологии (для нормализации репродуктивной функции), косметологии (для лечения различных заболеваний кожи и слизистых оболочек), реабилитации больных после инфекционных (в том числе ГИ) и неинфекционных заболеваний (расширяют диапазон адаптации организма к неблагоприятным условиям, стрессовым ситуациям) ветеринарии, сельском хозяйстве (при разработке фунгицидов) [5, 14–17].

Нами проведено исследование препарата НРМ-7.0, полученного из мицелия гриба *Fusarium sambucinum* Fuckel var. *ossicolum* (Berk et Curt) bilai ВСБ-917 (ВКПМ № F-165). Препарат характеризуется высоким содержанием аминокислот, в том числе незаменимых (триптофан, лизин, метионин), ненасыщенных аминокислот (50% линоленовой кислоты), витаминов группы В (фолиевая и никотиновая кислоты), микро- и макроэлементов (представленных цинком, медью, кобальтом, молибденом, марганцем, фосфором, кальцием, калием, железом), убихинонов, гликанов, органических кислот (яблочная, лимонная, янтарная), низкомолекулярных олигопептидных соединений, щелочных пептидов, необходимых для жизнедеятельности организма [6]. В составе углеводов мицелия представлены активные полисахариды – гликаны (глюканы и галактотрипептиды), регулирующие работу иммунной системы [18]. Следует отметить, что штамм ВСБ-917 является не только продуцентом БАВ, но и лишен недостатков, характерных для некоторых мицелиальных грибов (в том числе способ-

ности в определенных условиях культивирования продуцировать микотоксины), что позволяет рассматривать его в качестве основы для получения препаратов с противовирусной активностью.

Ранее была установлена специфическая активность НРМ-7.0 в отношении вируса кори (штамм Эдмонстон) *in vitro*: препарат оказывает прямое вирулицидное действие, при этом наблюдается нарушение синтеза вирусспецифических структур, в частности нуклеокапсидов, и процесса формирования вирионов, что в свою очередь приводит к продукции дефектной низкоинфекционной вирусной популяции, обеспечивающей развитие иммунитета [19]. Также была установлена активность в отношении вируса гриппа A/Aichi 1/68 (H3N2) (препарат приводит к полному исчезновению пепломеров из оболочки вируса и частичному нарушению структуры рибонуклеопротеидного комплекса) и вируса гепатита С *in vitro* [20]. В результате проведенного нами исследования была установлена противовирусная активность НРМ-7.0 в отношении ВПГ 2-го типа. Показано, что НРМ-7.0 в широком диапазоне доз и схем применения обладает протективной активностью на модели ГТ, снижая выраженность клинических проявлений заболевания, а также СПЗ по сравнению с таковой в группе плацебо. При этом терапевтический эффект сопровождается достоверным снижением инфекционной активности ВПГ, выделенного у животных, получавших НРМ-7.0, по сравнению с таковой у животных, получавших плацебо. Это проявлялось тем, что инфекционный процесс отличало мягкое течение, отсутствие выраженных экссудативно-воспалительных явлений, малочисленность высываний, сокращение сроков разрешения элементов, отсутствие орхита. Наиболее значимые результаты получены при использовании НРМ-7.0 по профилактической и лечебно-профилактической схемам. Выявленный эффект НРМ-7, возможно, обусловлен синергическим взаимодействием входящих в его состав БАВ (пептидных биорегуляторов, полисахаридов, витаминов, антиоксидантов, ферментов, микроэлементов), полученных в результате глубинного культивирования гриба *F. sambucinum*, а также их способностью повышать бактерицидную и лизоцимную активность крови, активировать эритропоз, повышая неспецифическую резистентность организма, что было показано в работах [21, 22], активировать пролиферацию лимфоцитов периферической крови, продукцию интерлейкинов (ИЛ-2), а также оказывать дифференцирующее действие на Т-клетки, приводящее к увеличению общего числа CD3<sup>+</sup>-клеток, CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup>-лимфоцитов, не вызывающему нарушение баланса CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> [19, 23].

Представленные в данном исследовании результаты свидетельствуют о возможности применения препаратов на основе *F. sambucinum* в качестве лекарственных средств в комплексной терапии ГИ (для профилактики и лечения рецидивов инфекции).

## Выводы

1. НРМ-7.0 – экстракт монокультуры высшего гриба *F. sambucinum* при системном использовании на модели экспериментальной ГИ у самцов морских свинок в широком диапазоне доз и схем применения оказывает выраженное терапевтическое воздействие на течение заболевания, способствуя быстрому регрессу элементов и экссудативно-воспалительных явлений, достоверному сокращению СПЗ, снижению инфекционной активности вируса у животных.

2. Наиболее значимые результаты получены при использовании НРМ-7.0 по профилактической и лечебно-профилактической схемам.

3. Системное применение НРМ-7.0 не сопровождается развитием побочных реакций у морских свинок.

## ЛИТЕРАТУРА (ил. п. 1, 7, 11, 17 см. REFERENCES)

- Филиппова И.А., Фунтик Т.В. Фунготерапия – естественная медицина будущего. *Успехи медицинской микологии*. 2005; 5: 279–81.
- Неминушная Л.А., Воробьева Г.И., Токарик Э.Ф., Еремед В.И., Самуйленко А.Я. Возможность получения пребиотиков из биомассы дрожжей-сахаромицетов и гриба *Fusarium sambucinum* шт. MKF-2001-3. В кн.: *Материалы международной научно-практической конференции посвященной 35-летию ВНИИТБП «Научные основы производства ветеринарных биологических препаратов»*. Щелково; 2005: 511–6.
- Морозова Г.Р., Морозов А.Л. *Препарат, влияющий на тканевой обмен, и применение штамма гриба *Fusarium sambucinum* Fuckel var. *Ossicolium* (Berk. et. Curf) Bilai для его получения. Патент РФ № 93057876; 1993.*
- Григораш А.И., Зайкина М.Ю., Погорельская Л.В., Бредихина Н.А., Трифонов А.В. БАД «Флоравит-Э» на основе экстрактов гриба *Fusarium sambucinum* – эффективный иммуномодулятор и адаптоген. *Успехи медицинской микологии*. 2006; 7: 346.
- Диза Е.Н., Дизза В.И. *Средство, обладающее системным действием, его применение, фармкомпозиции, способы лечения и профилактики. Патент РФ № 2366697; 2007.*
- Миронов А.Н., Бунатян Н.Д., Васильев А.Н., Верстакова О.Л., Журалева М.В., Лепакхин В.К. и др. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*. М.: Гриф и К; 2012.
- Маренникова С.С., Матевич Г.Р., Чекунова Э.В. и др. Разработка и практическое использование новых экспериментальных моделей разных форм герпетической инфекции. *Вопросы вирусологии*. 1986; 1: 59–65.
- Гланц С. *Медико-биологическая статистика*. М.: Практика; 1999.
- Огарков Б.Н., Огаркова Г.Р., Самусенок Л.В. Пути создания некоторых лекарственных препаратов из микро- и макромицетов. *Успехи медицинской микологии*. 2005; 5: 206–10.
- Григораш А.И., Соловьев Б.В., Погорельская Л.В., Кудрявцев А.Е., Михайлова Н.А. Антигены и биорегуляторы – перспективные инструменты борьбы с инфекционными болезнями. Материалы IV Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням. *Инфекционные болезни*. 2012; 10, прил. 1: 107.
- Турьянов М.Х., Погорельская Л.В., Бредихина Н.А. и др. *Биологически активная добавка «Флоравит Э» в гастроэнтерологии. Методические рекомендации для врачей*. М.: Российская медицинская академия последипломного образования; 2005.
- Брагинцева Л.М., Григораш А.И., Коваленко В.А., Макланов А.И., Устынюк Т.К. *Биологически активная добавка к пище и способ ее получения. Патент РФ № 2177699 C1; 2002.*
- Лоенюк Н.Н., Чернова И.Е., Пучков А.В. Применение экстракта биомассы гриба *Fusarium sambucinum* в рационах соболей. *Кролиководство и звероводство*. 2010; 6: 6–8.
- Кашкина М.А., Елинов Н.П. Иммуномодулирующая активность полисахаридов из грибов. *Микология и фитопатология*. 1985; 19 (4): 345–56.
- Тихонова Н.Т., Лоте В.Д., Мамаева Т.А., Наумова М.А., Дизза В.И. О вирулицидной активности иммунокорректирующего препарата природного происхождения Миллиф. *Клиническая фармакология и терапия*. 1999; 8 (4): 41–5.
- Дизза В.И. Миллиф (MILIFE) – препарат с выраженным антивирусным и иммуностимулирующим эффектами. *Медицинская картотека*. 2006; 1: 42–4.
- Супрун С.М., Донченко Г.В., Пархоменко Ю.М., Харкевич Е.С. и др. Витаминно-протеиновый продукт на основе селекционированных штаммов грибов: характеристика и применение. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2013; 13: 258–61.
- Богданов В.В., Фаткулина Э.Ф., Березин Б.Б., Ильина А.П., Ямскова В.П., Ямсков И.А. Пептидосодержащая фракция из культуральной среды *Fusarium sambucinum*: состав и биологическое действие. *Прикладная биохимия и микробиология*. 2014; 2: 177–83.
- Свирищевская Е.В., Вискова Н.Ю., Сапожников А.М., Дизза В.И., Кучерова И.В. Изучение иммуномоделирующих свойств экстракта мицелия высшего гриба *Fusarium sambucinum*. *Иммунология*. 1995; 11–12: 45–51.
- Filippova I.A., Funtik T.V. Fungoterapiya – natural medicine of the future. *Uspekhi meditsinskoy mikologii*. 2005; 5: 279–81. (in Russian)
- Neminushchaya L.A., Vorob'eva G.I., Tokarik E.F., Eremets V.I., Samuylenko A.Ya. The possibility of prebiotics from biomass yeast *Saccharomyces* and fungus *Fusarium sambucinum* piece MKF-2001-3. In: *Proceedings of the International Scientific-practical Conference Dedicated to the 35th Anniversary of VNIITBP "Scientific Basis for the Production of Veterinary Biologicals Preparations."* [Materialy mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii posvyashchennoy 35-letiyu VNIITBP "Nauchnye osnovy proizvodstva veterinarnykh biologicheskikh preparatov"] J. Shchelkovo; 2005: 511–6. (in Russian)
- Morozova G.R., Morozov A.L. *Agents Acting on the Tissue Metabolism and the Use of a Strain of the Fungus *Fusarium Sambucinum* Fuckel var. *Ossicolium* (Berk. Et. Curf) Bilai to Obtain it. Patent RF N 93057876; 1993.* (in Russian)
- Grigorash A.I., Zaykina M.Y., Pogorelskaya L.V., Bredikhina N.A., Trifonov A.V. BAA "Floravit-E" on the basis of extracts of the fungus *Fusarium sambucinum* – effective immunomodulator and adaptogen. *Uspekhi meditsinskoy mikologii*. 2006; 7: 346. (in Russian)
- Dizha E.N., Dizha V.I. *Agent having systemic action, its application, farmkompozitsii, methods of treatment and prevention. Patent RF N 2366697; 2007.* (in Russian)
- Reed L.J., Muench H. A simple method of estimating fifty percent endpoints. *Am. J. Hyg.* 1938; 27: 493–7.
- Mironov A.N., Bunatyan N.D., Vasil'ev A.N., Verstakova O.L., Zhuravleva M.V., Lepakhin V.K. et al. *Guidelines for Preclinical Studies of Drugs [Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv]*. Moscow: Grif i K; 2012. (in Russian)
- Marennikova S.S., Matsevich G.R., Chekunova E.V. et al. Development and practical use of new experimental models of different forms of herpes infection. *Voprosy virusologii*. 1986; 1: 59–65. (in Russian)
- Glanz S. *Biomedical Statistics. [Mediko-biologicheskaya statistika]*. Moscow: Praktika; 1999. (in Russian)
- Bradley H., Markowitz L.E., Gibson T., McQuillan G.M. Seroprevalence of herpes simplex types 1 and 2—United States, 1999–2010. *J. Infect. Dis.* 2014; 209 (3): 325–33.
- Ogarkov B.N., Ogarkova G.R., Samusenok L.V. Towards the creation of some drugs of micro- and macromycetes. *Uspekhi meditsinskoy mikologii*. 2005; 5: 206–10. (in Russian)
- Grigorash A.I., Solov'ev B.V., Pogorel'skaya L.V., Kudryavtsev A.E., Mikhaylova N.A. Antigens and Regulators – promising tools to fight infectious diseases. Materials IV Annual All-Russian Congress on Infectious Diseases. *Infektsionnye bolezni*. 2012; 10 Suppl. 1: 107. (in Russian)
- Tur'yanov M.Kh., Pogorel'skaya L.V., Bredikhina N.A. et al. *Dietary Supplement "Floravit E" in Gastroenterology. Guidelines for Physicians [Biologicheski aktivnaya dobavka "Floravit E" v gastroenterologii. Metodicheskie rekomendatsii dlya vrachey]*. Moscow: Rossiyskaya meditsinskaya akademiya posleddiplomnogo obrazovaniya; 2005. (in Russian)
- Bragintseva L.M., Grigorash A.I., Kovalenko V.A., Maklanov A.I., Ustynyuk T.K. *Biologically Active Food Supplement and its Method of Preparation. Patent RF N2177699 C1; 2002.* (in Russian)
- Loenok N.N., Chemova I.E., Puchkov A.V. The use of biomass extract of the fungus *Fusarium sambucinum* in rations sables. *Krolikovodstvo i zverovodstvo*. 2010; 6: 6–8. (in Russian)
- Dzhavakhiya V., Shcherbakova L., Semina Y., Zhemchuzhina N., Campbell B. Chemosensitization of plant pathogenic fungi to agricultural fungicides. *Front. Microbiol.* 2012; 9: 3:87.
- Kashkina M.A., Elinov N.P. Immunomodulatory activity of polysaccharides from mushrooms. *Mikologiya i fitopatologiya*. 1985; 19 (4): 345–56. (in Russian)
- Tikhonov N.T., Lotte C.D., Mamaeva T.A., Naumov, M.A., Dizha V.I. About virucidal activity of immune correcting drug of natural origin Milife. *Klinicheskaya farmakologiya i terapiya*. 1999; 8 (4): 41–5. (in Russian)
- Dizha V.I. Milife (MILIFE) – a drug with significant antiviral and immunostimulatory effects. *Meditsinskaya karteika*. 2006; 1: 42–4. (in Russian)
- Suprun S.M., Donchenko G.V., Parkhomenko Yu.M., Kharkevich E.S. et al. Vitamin and protein-based product selection strains of fungi: characterization and application. *Faktori eksperimental'noi evolyutsii organizmiv*. 2013; 13: 258–61. (in Russian)
- Bogdanov V.V., Fatkulina E.F., Berezin B.B., Il'ina A.P., Yamskova V.P., Yamskov I.A. Fraction of peptide from the culture medium *Fusarium sambucinum*: structure and biological activity. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*. 2014; 2: 177–83. (in Russian)
- Svirshchevskaya E.V., Viskova N.Yu., Sapozhnikov A.M., Dizha V.I., Kucheroва I.V. Study of immunomodulatory properties of the extract of the mycelium of higher fungus *Fusarium sambucinum*. *Immunologiya*. 1995; 11–12: 45–51. (in Russian)

## REFERENCES

- Wasser S.P., Weis A.L. Therapeutic effects of substances occurring in Higher Basidiomycetes mushrooms: a modern perspective. *Crit. Rev. Immunol.* 1999; 1: 65–96.

Поступила 22.01.15