

УДК: 615.281.8:615.37:523:616.31:615.03.001.5

**Попова О.І., Рибалко С.Л., Жаркова Л.Д., Даніленко В.П.**

Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова  
кафедра стоматології дитячого віку

**Вивчення впливу комбінації амізону та біфіформу на перебіг герпетичної інфекції в експерименті.**

**Резюме.** Вивчено вплив імуномодулятора амізона та комбінованого застосування амізона з пробіотиком біфіформ на перебіг експериментального генітального герпесу мурчаків. Застосування амізона призводить до скорочення тривалості захворювання. Використання амізона в комбінації з біфіформом майже повністю запобігає виникненню специфічної симптоматики.

**Ключові слова:** амізон, біфіформ, експериментальний герпес.

**Вступ.** На теперішній час для етіотропної терапії герпетичної інфекції найбільш часто застосовують пуринові та пиримідинові аналоги нуклеозидів (ацикловір, зовіракс, віролекс, герпевір, герперакс, відарабин, ідоксуридин), а також аналоги пірофосфата (фосфоноцетову кислоту та фоскарнет). Ці препарати діють на стадії реплікації ДНК вірусу простого герпесу, мішенями їх є вірусспецифічні ферменти.

Серед вірусних ферментів, що можуть бути потенційними мішенями для антивірусної терапії, саме тимидинкінази важливі для дії сучасних противірусних препаратів [Ершов Ф.И., Оспельникова Т.П., 2000]. Вірусні тимидинкінази відрізняються від клітинних більш широкою субстратною специфічністю, що дозволяє їм фосфорилувати крім природніх субстратів, синтетичні нуклеозидні аналоги. На сьогоднішній день антигерпететики складають близько 80 % існуючих антивірусних препаратів [Ершов Ф.И., Оспельникова Т.П., 2000].

Загальним недоліком всіх протигерпетичних засобів є їх нездатність призводити до повного видужання. Більш того, при відміні препаратів, наприклад ацикловіру, захворювання рецидивує з попередньою частотою, так як ацикловір не впливає на персистуючі та латентні віруси в гангліях [Wald A., Selke S., 2006]. В основному ці засоби найбільш активні при гострих стадіях рецидивуючого герпесу та мало впливають на тривалість ремісії. Крім того, широке застосування противірусних препаратів здатне викликати появу резистентних штамів [Suzuki M., Okuda T., 2006].

Перспективним є застосування противірусних препаратів, що інгібують вірусну тимидинкіназу. Дія їх направлена на попередження рецидивів, так як експресія гену тимидинкінази необхідна для реактивації латентного вірусу простого герпесу [Gentry B.G.,

Boucher P.D., 2006]. Фермент тимідинкіназа (ТК) входить до складу всіх герпесвірусів. Цей фермент є складовою частиною нуклеозидного комплексу, який каталізує реакцію між АТФ та нуклеотидами для утворення нуклеозидів і трифосфатів, тому інгібування ТК-активності герпесвірусів є одним з важливих механізмів дії антигерпетичних хіміопрепаратів. До інгібіторів вірусної тимідинкінази належить препарат амізон.

Амізон (Amizonum) – це нестероїдний протизапальний препарат, відноситься до похідних ізонікотинової кислоти. Амізон створений в Інституті фармакології й токсикології АМН України та за рішенням Фармакологічного комітету МЗ (протокол №8 від 31.10.1996 р.), дозволений до застосування як протизапальний, противірусний та жарознижуючий препарат, зареєстрований в Україні (реєстраційне посвідчення Р/97/70/16 та Р/97/70/15). В попередніх дослідженнях встановлено, що амізон гальмує ТК-активність вірусу герпесу до 8 % залишкової активності в дозі 20 мкг/мл [Рибалко С.Л., Нестерова Н.В., 2003].

Все більшу увагу дослідників привертають асоційовані бактеріально-вірусні інфекції. Клінічні спостереження та експериментальні дослідження показали, що активація бактеріальної флори при вірусних інфекціях досягає 40-50 %, що визначає її значення в формуванні, перебігу та наслідках хвороби. Такі зміни в мікроекології організму потребують обов'язкової корекції. Прогрес науки в області вивчення мікрофлори людини призвів до виникнення принципово нових мікробних препаратів, отримавших назву пробіотики. Пробіотики призначені для відновлення складу та фізіологічних властивостей природної мікрофлори людини [Отт В.Д., Місник В.П., 2001].

Механізм дії пробіотиків продовжує вивчатись. Це пов'язано з тим, що не дивлячись на високі технологічні можливості продукції бактерійних препаратів, іноді зберігання їх при кімнатній температурі призводить до зниження активності. Ці дані безпосередньо стосуються препарату Йогурт. Виробництво таких препаратів як Біфіформ, забезпечує можливості зберігання їх поза холодильником і високу лікувальну й терапевтичну ефективність.

**Мета дослідження.** Дослідити вплив комбінованого застосування амізону та пробіотика біфіформ на перебіг експериментальної герпетичної інфекції.

#### **Матеріали та методи дослідження.**

В досліді використовували вірус простого герпесу тип II, виділений від хворого генітальним герпесом зі змиву ураженої поверхні, що підтримували серійними пасажами в

культури клітин Vero. Інфекційний титр за ЦПД в культурі клітин Vero складав 5,5-6,0 Ig ТЦД<sub>50</sub>/0,1 мл. До початку експериментальних досліджень вірус зберігали при мінус 70 °С.

Використовували перещеплювану культуру клітин Vero - клітин нирки мавпи, які культивували на середовищі RPMI – 1640 + 10 % фетальної сироватки (Nunclon, Surface, Denmark) + антибіотики при температурі 37 °С.

Преперати: 4-(N-бензил)амікокарбонід-1-метилпіридиній йодиди (амізон), розроблений в інституті фармакології і токсикології АМН України (м.Київ); біфіформ, виробництва компанії Ферросан (Данія), 1 капсула якого містить 10000000 бактерій *Bifidobacterium longum* та 10000000 бактерій *Enterococcus faecium*, мазь герпевір 2,5 % виробництва „Медпрепарат” (м.Київ).

Модель генітальної герпетичної інфекції на 20 мурчаках вагою 300-350 г відтворювали шляхом зараження останніх вірусмісткою рідиною за рекомендаціями [Маренникова С.С., 1986]. Вірусмістку рідину наносили на попередньо скарифіковану шкіру *penis*. Скарифікацію проводили за допомогою хірургічного ланцету, після того як тварини були анестезовані ефіром. Розмір поверхні скарифікації дорівнював 4-7 мм<sup>2</sup>. Вірусмістку рідину наносили за допомогою піпетки відразу після скарифікації з наступним втиранням. Клінічні симптоми експериментального герпесу геніталій реєстрували щоденно перед проведенням лікування і слідкували протягом всього періоду хвороби.

На скарифіковану та заражену поверхню 1 раз на добу протягом 5 днів наносили 3 % мазь амізона та референс-препарат – мазь герпевір 2,5 %. Лікування починали через 2 години після інфікування. Біфіформ вводили по 1 капсулі *per os*.

Критеріями оцінки важкості інфекційного процесу були поверхня і ступінь специфічних уражень, наявність набряку, гіперемії, орхіту. Максимальна вираженість кожної ознаки складала 4 бала. Оцінку активності препарату проводили згідно методичних рекомендацій [Щербинська А.М., Дяченко А.С., 2001].

Індекс лікувальної дії (ІЛД) оцінювали за різницею балів в вираженості симптоматики між основною та контрольною групами та виражали в відсотках.

Спостереження за тваринами проводили протягом 22 діб. Кожна дослідна група складалася із 5 тварин.

Всього в досліді було 4 групи тварин:

1-а – тварини, яких заражали тільки вірусом герпесу;

2-а – тварини, яких заражали вірусом герпесу та лікували герпевіром;

3-а – тварини, яких заражали вірусом герпесу та лікували 3 % маззю амізону;

4-а – тварини, яких заражали вірусом герпесу та лікували 3 % маззю амізону та біфіформом.

### Результати та їх обговорення.

При дослідженні ефективності мазі герпевіру, амізону та комбінованого застосування амізону з біфіформом на моделі генітального герпесу у мурчаків було отримано наступні результати (табл. 1): в контрольній групі, в якій не проводили лікування, тривалість захворювання була найбільшою та становила  $22,0 \pm 4,1$  доби. Клінічні симптоми захворювання також були найбільш виражені в контрольній групі (61 бал).

Застосування мазі герпевір 2,5 % раз на добу протягом 5 діб знижувала вираженість симптоматики до 27,0 балів, що відповідає терапевтичному ефекту на рівні 55,8 % та статистично достовірно скорочувало тривалість захворювання до  $9,65 \pm 1,53$  діб.

Таблиця 1

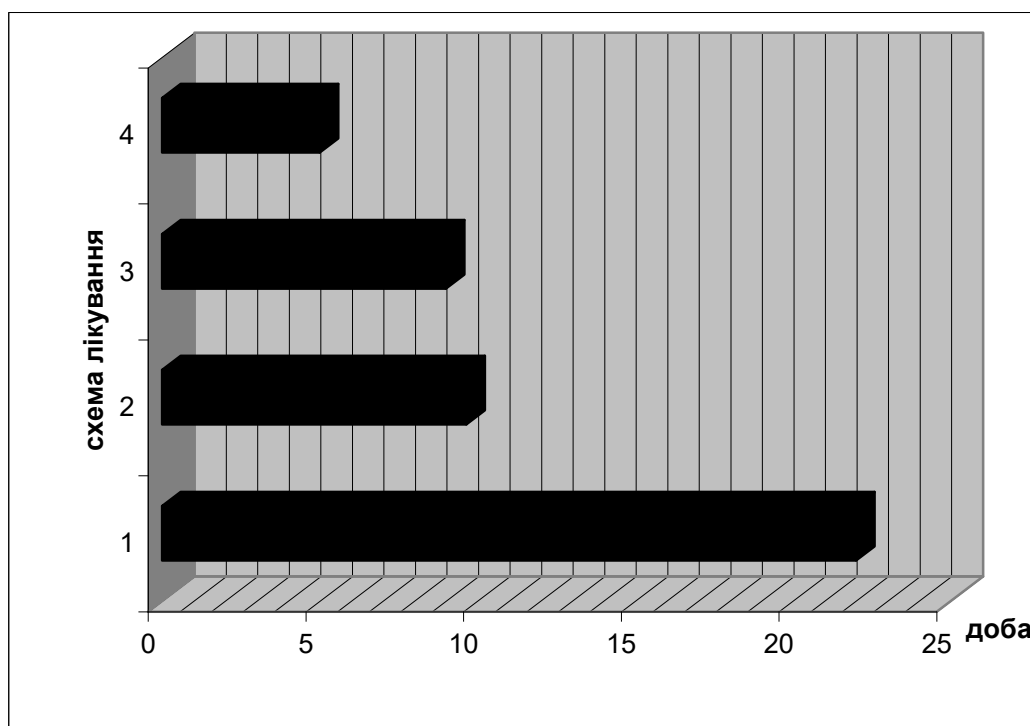
### Ефективність амізонової мазі з біфіформом при експериментальному генітальному герпесі у мурчаків

Групи тварин	Препарат	Тривалість захворювання (доби)	Вираженість симптоматики (бали)	ІЛД, %
1	Контроль зараження	$22,0 \pm 4,1$	61,0	
2	2,5 % мазь герпевір	$9,65 \pm 1,53^*$	27,0	55,8
3	3 % мазь амізона	$9,00 \pm 1,39^*$	20,0	67,3
4	3 % мазь амізона + біфіформ	$5,0 \pm 0,5^{*\blacktriangledown\bullet}$	4,0	95

Примітка. \* $p < 0,05$  - різниця показників з 1-ю групою;  $\blacktriangledown p < 0,05$  - різниця показників з 2-ю групою;  $\bullet p < 0,05$  - різниця показників з 3-ою групою.

При застосуванні 3 % мазі амізону вираженість симптоматики становила 20,0 балів, а терапевтичний ефект визначався на рівні 67,3 %. Тривалість захворювання була  $9,00 \pm 1,39$  доби ( $p < 0,05$  в порівнянні з контролем,  $p > 0,05$  в порівнянні з герпевіром).

При використанні 3 % амізонової мазі з біфіформом 1 раз на добу протягом 5 діб вираженість симптоматики у тварин була незначна (4 бали): ледь помітна гіперемія в місці скарифікації і нанесення вірусу, без набряку та орхіту. Тривалість гіперемії складала 5 діб, терапевтичний ефект – 95 %). Тривалість хвороби була достовірно меншою в порівнянні зі всіма групами спостереження (рис. 1).



1-контрольна група; 2-герпесвір; 3-амізон; 4-амізон+біфіформ.

Рис. 1. Тривалість перебігу експериментального генітального герпесу у мурчаків в залежності від методу лікування.

Таким чином, на моделі генітального герпесу мурчаків доведено, що комбінація амізону з біфіформом проявляє виражену протигерпетичну активність та може бути рекомендована для лікування хворих з герпетичною інфекцією.

#### **Висновки та перспективи подальших досліджень:**

1. Застосування 3 % амізонової мазі скорочує тривалість перебігу експериментального генітального герпесу у мурчаків ( $p < 0,05$ ).

2. Поєднане використання 3 % мазі амізону та біфіформу майже повністю запобігає виникненню специфічної симптоматики генітального герпесу у мурчаків. Тривалість хвороби найменша та становить  $5,0 \pm 0,5$  ( $p < 0,05$ ).

Визначена виражена протівірусна активність комбінації амізону з біфіформом дозволяє рекомендувати запропонований метод для лікування хворих з герпетичною інфекцією порожнини рота, так як на теперішній час підтверджений загальний для обох типів вірусу простого герпеса тропізм. На нашу думку включення пробіотика в схему лікування хворих забезпечить нормалізацію стану мікроекології порожнини рота та попередить активацію патогенної бактеріальної флори, що в поєднанні з протівірусним, протизапальним, імуномодуючим, знеболюючим та жарознижуючим ефектами амізону призведе до скорочення тривалості хвороби.

### **Список літератури:**

1. Вивчення антивірусної дії потенційних лікарських засобів. Щербинська А.М., Дяченко А.С., Рибалко С.Л. та співавт. В книзі „Доклінічні дослідження лікарських засобів” під ред. чл.-кор. АМНУ О.В. Стефанова, К.-2001.-С.371-395.
2. Ершов Ф.И., Оспельникова Т.П. Современный арсенал антигерпетических лекарственных средств // Инфекции и антимикробная терапия.-2000.-Т.3.-№4.-С.100-104.
3. Інгібітор тимідинкіназної активності вірусу герпесу: UA 62004 С2. Україна, 7 А61К31/44, А61Р31/22 /Рибалко С.Л., Нестерова Н.В., Завелевич М.П., Даниленко В.П., Даниленко Г.І, Бухтіарова Т.А. - №2001042429; Бюл. №12, 2003.-4 с.
4. Маренникова С.С., Мацевич Г.Р., Чекунова Э.В. и др. Разработка и практическое использование новых экспериментальных моделей разных форм герпетической инфекции // Вопросы вирусологии.-1986.-№1.-С.59-65.
5. Отт В.Д., Місник В.П., Янковський Д.С. Димент Г.С., Муквіч Е.Н. Застосування мультикомпонентних пробіотиків у профілактиці та лікуванні мікроекологічних порушень у дітей: Метод. посібник.-Київ, 2001.-28 с.
6. Gentry B.G., Boucher P.D., Shewach D.S. Hydroxyurea induces bystander cytotoxicity in cocultures of herpes simplex virus thymidine kinase-expressing and nonexpressing HeLa cells incubated with ganciclovir // Cancer Res.-2006.-Vol. 66(7).-№4.-P.3845-3851.
7. Suzuki M., Okuda T., Shiraki K. Synergistic antiviral activity of acyclovir and vidarabine against herpes simplex virus types 1 and 2 and varicella-zoster virus // Antiviral Res.-2006.-Vol. 30.-№5.-P.254-270.
8. Wald A., Selke S., Warren T., Aoki F.Y., Sacks S. Comparative Efficacy of Famciclovir and Valacyclovir for Suppression of Recurrent Genital Herpes and Viral Shedding // Sex Transm. Dis.-2006.-№3.-P.181-188.

**Попова Е.И., Рыбалко С.Л., Жакркова Л.Д., Даниленко В.Ф.**

Винницкий национальный медицинский университет им. Н.И. Пирогова  
кафедра стоматологии детского возраста.

**Изучение влияния комбинации амизона и бифиформа на течение  
герпетической инфекции в эксперименте.**

**Резюме.** Изучено влияние иммуномодулятора амизона и комбинированного применения амизона с пробиотиком бифиформ на течение экспериментального генитального герпеса морских свинок. Использование амизона приводит к сокращению длительности заболевания. Применение амизона в комбинации с бифиформом практически полностью предупреждает возникновение специфической симптоматики.

**Ключевые слова:** амизон, бифиформ, экспериментальный герпес.

**Popova O.I., Rybalko S.L., Zharkova L.D., Danilenko V.F.**

Vinnitsa State Medical University

Chair of Children Dentistry

**Study of amisonone with bifiform combination influence on the experimental herpetic  
infection.**

**Summary.** The influence of immunomodulator amisonone and combination of amisonone with bifiform on the experimental genital herpes of the guinea pigs were investigated. The employment of amisonone results to decreasing of disease. The application of amisonone with bifiform combination almost completely prevents beginning of specific symptoms.

**Key words:** amisonone, bifiform, experimental herpes.

