



УДК 619:578.245:615.371:57.082.26

## ВЛИЯНИЕ ПОЛУДАНА НА РЕПРОДУКЦИЮ ВИРУСОВ РЕПРОДУКТИВНО-РЕСПИРАТОРНОГО СИНДРОМА, ТРАНСМИССИВНОГО ГАСТРОЭНТЕРИТА И АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ В ПЕРВИЧНЫХ И ПЕРЕВИВАЕМЫХ КУЛЬТУРАХ КЛЕТОК

Д. В. Шарыпова<sup>1</sup>, И. Ю. Жуков<sup>2</sup>, Али Мазлум<sup>3</sup>, Н. Н. Власова<sup>4</sup>, О. С. Пузанкова<sup>5</sup>, В. Л. Гаврилова<sup>6</sup>, А. С. Иголкин<sup>7</sup>

<sup>1</sup> Аспирант, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: sharipova@arriah.ru

<sup>2</sup> Ведущий биолог, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: Zhukov@arriah.ru

<sup>3</sup> Аспирант, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: ali.mazloum6@gmail.com

<sup>4</sup> Главный научный сотрудник, доктор биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: vlasova\_nn@arriah.ru

<sup>5</sup> Старший научный сотрудник, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: puzankova@arriah.ru

<sup>6</sup> Научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: gavrilo\_vl@arriah.ru

<sup>7</sup> Заведующий лабораторией, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: igolkin\_as@arriah.ru

### РЕЗЮМЕ

В настоящее время актуальным вопросом в профилактике и лечении вирусных инфекций является изучение действия на организм человека и животных индукторов синтеза интерферона – веществ природного или синтетического происхождения, стимулирующих продукцию собственного интерферона. Одним из синтетических индукторов интерферона является полудан. Он предназначен для стимуляции клеточного иммунитета, который способен предотвращать заражение и развитие заболевания, а также обладает противовирусным и иммуномодулирующим действием. В клетках и тканях организма полудан в основном стимулирует выработку α-интерферона и в меньшей степени – β- и γ-интерферона, образование которых препятствует размножению вируса в клетке. Представлены результаты влияния полудана на репродукцию ряда вирусов свиней в первичных и перевиваемых культурах клеток путем индукции

синтеза интерферона и других цитокинов, понижающих уровень инфицирования клеток. В результате проведенных исследований выявили взаимосвязь внесения индуктора интерферона и изменения уровня репродукции вирусов репродуктивно-респираторного синдрома свиней, трансмиссивного гастроэнтерита свиней и африканской чумы свиней. Также установлен высокий уровень интерферон-генной активности полудана в первичных культурах клеток тестикул и селезенки свиней по сравнению с перевиваемыми линиями клеток почки эмбриона свиньи (СПЭВ) и почки макаки-резуса (MARC-145). Интерферон-генная способность полудана была умеренной для клеток MARC-145 и не установлена для клеток СПЭВ.

**Ключевые слова:** репродуктивно-респираторный синдром свиней, трансмиссивный гастроэнтерит свиней, африканская чума свиней, полудан, интерферон.

UDC 619:578.245:615.371:57.082.26

## POLUDANUM'S INFLUENCE ON REPRODUCTIVE AND RESPIRATORY SYNDROME, TRANSMISSIBLE GASTROENTERITIS AND AFRICAN SWINE FEVER VIRUSES IN PRIMARY AND CONTINUOUS CELL CULTURES

D. V. Sharypova<sup>1</sup>, I. Yu. Zhukov<sup>2</sup>, Ali Mazlum<sup>3</sup>, N. N. Vlasova<sup>4</sup>, O. S. Puzankova<sup>5</sup>, V. L. Gavrilova<sup>6</sup>, A. S. Igolkin<sup>7</sup>

<sup>1</sup> Post-Graduate Student, FGBI "ARRIAH", Vladimir, e-mail: sharipova@arriah.ru

<sup>2</sup> Leading Biologist, FGBI "ARRIAH", Vladimir, e-mail: Zhukov@arriah.ru

<sup>3</sup> Post-Graduate Student, FGBI "ARRIAH", Vladimir, e-mail: ali.mazloum6@gmail.com

<sup>4</sup> Chief Researcher, Doctor of Science (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir, e-mail: vlasova\_nn@arriah.ru

<sup>5</sup> Senior Researcher, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, e-mail: puzankova@arriah.ru

<sup>6</sup> Researcher, Candidate of Science (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir, e-mail: gavrilo\_vl@arriah.ru

<sup>7</sup> Head of the Laboratory, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, e-mail: igolkin\_as@arriah.ru

### SUMMARY

Today studies of the influence of interferon synthesis inducer on human and animal body is a topical issue. Interferon synthesis inducers are substances of natural or artificial origin stimulating production of body's own interferon. One of the synthetic inducers of interferon is Poludanum. It is used for stimulation of cell immunity which is capable of preventing infection and disease development and has antiviral and immunomodulatory effect. Poludanum mainly stimulates induction of α-interferon and, to a lesser extent, β- and γ-interferon in cells and tissues which prevent virus reproduction in a cell. The paper presents results of poludanum's influence on reproduction of some porcine viruses in primary and continuous cell cultures by induction of inter-

feron synthesis and other cytokines lowering the level of cell infection. As a result of performed tests it was found out that there is a link between introduction of interferon inducer and change in the PRRS, TGE, ASF virus reproduction. There was detected a high level of Poludanum's interferon inducing activity in pig testicular primary cell cultures and spleen compared to the continuous pig embryo kidney (SPEV) and rhesus monkey kidney (MARC-145) cell lines. Poludanum's interferon inducing activity was moderate for MARC-145 cells and it was not determined for SPEV.

**Key words:** porcine reproductive and respiratory syndrome; transmissible gastroenteritis in pigs, African swine fever, poludanum, interferon.

## ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время внимание многих ученых приковано к исследованию факторов неспецифической защиты организма, в частности к роли интерферонов и иммуномодуляторов в профилактике и лечении различных вирусных инфекций [5].

Противоинфекционную защиту обеспечивают такие факторы врожденного иммунитета, как  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -интерфероны, натуральные киллеры (NK), системы пропердина, комплемента, лизоцим, фагоцитоз и др., а также специфические факторы гуморального (В-клетки секретируют соответствующие иммуноглобулины) и клеточного иммунитета (CD4, CD8, Т-клетки) [8, 9].

Интерфероны (ИФН) – это семейство белков, относящихся к цитокинам – медиаторам иммунитета, которые проявляют противовирусную активность, участвуют в антимикробной и противоопухолевой защите, а также обладают антипролиферативными, противовоспалительными, иммуномодулирующими и радиопротекторными свойствами [2, 8, 9].

ИФН начинают вырабатываться внутри клеток в ответ на внедрение в организм инфекционного вируса. Они многофункциональны, так как препятствуют проникновению инфекционных агентов внутрь чувствительных клеток; ингибируют синтез белка в клетке и, следовательно, замедляют размножение вируса; являются пусковым механизмом цитотоксического ответа и адаптивного иммунитета, что в конечном итоге влияет на течение и исход болезни [8, 9].

Использование экзогенных ИФН с целью успешного лечения острых и хронических заболеваний или для профилактики заражения может привести к побочным эффектам, например аллергическим реакциям. Поэтому альтернативой является использование индукторов эндогенного интерферона – высоко- и низкомолекулярных природных и синтетических соединений, способных в той или иной степени стимулировать синтез собственных ИФН [8, 9].

Данные иммуномодуляторы эффективно индуцируют выработку ИФН, как правило, не вызывают аллергических реакций, безопасны и нетоксичны, поскольку представляют собой природные или синтетические препараты нуклеиновых кислот (полудан, амплиген, полигуацил, ларифан, ридостин) или полифенолы природного происхождения, в том числе флуореноны и акриданоны – производные карбоновых кислот [7, 8].

Полигуацил, амплиген, ридостин – это природные и синтетические препараты нуклеиновых кислот (дс-РНК), а полудан представляет собой биосинтетический полирибонуклеотидный комплекс, состоящий из полирибоадениловой и полирибоуридиловой кислот [7].

Индукторы, относящиеся к разным классам соединений, различаются по диапазону доз, стимулирующих образование ИФН. Из известных сегодня индукторов наиболее активную продукцию ИФН вызывает метилглюкамина акридоацетат, индуцирующий в организме животных до 1 млн ЕД/мл, а в культурах клеток лимфоцитов человека – до 1280–2560 ЕД/мл ИФН. Метилглюкамина акридоацетат уже в дозе 4–14 мг/кг вызывает продукцию  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\lambda$ -ИФН начиная с 2 до 72 ч от момента введения, таким образом обеспечивая противовирусную и иммуномодулирующую активность [1, 2, 5, 8].

Одним из широкодоступных индукторов ИФН является полудан, который обладает противовирусным и иммуномодулирующим действием. В клетках и тканях организма он в основном стимулирует выработку  $\alpha$ -ИФН

и в меньшей степени –  $\beta$ - и  $\gamma$ -ИФН, образование которых препятствует размножению вируса в клетке [6, 11, 16].

В свою очередь, для определения эффективности индукторов ИФН *in vitro* используют различные культуры клеток, такие как первичная культура клеток лимфоцитов человека, а также перевиваемая ИФН-чувствительная линия клеток BSC-1. Тем не менее подбор первичных и перевиваемых культур клеток животных для изучения противовирусной активности различных иммуномодуляторов также является актуальной проблемой и для ветеринарии.

Целью данной работы являлось изучение противовирусной активности полудана *in vitro* с использованием различных вирусов болезней свиней и соответствующих культур клеток.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использованы вирусы репродуктивно-респираторного синдрома свиней (PPCC), трансмиссивного гастроэнтерита свиней (ТГЭС) и африканской чумы свиней (АЧС).

Использовали штаммы вируса PPCC американского («Иркутский-2007-В» и NVSL – слабовирулентные, «БД» – авирулентный вакцинный) и европейского генотипа («КПР» – авирулентный вакцинный, «Итальянский-2165» – слабовирулентный); вируса ТГЭС («Ленинградский» – слабовирулентный вакцинный, «Ильиногорский» и «Краснодонский» – авирулентные вакцинные); изолят вируса АЧС «Лазаревское 01/14», выделенный из пробы селезенки домашней свиньи (Тульская обл., Щекинский р-н, ООО ПХ «Лазаревское»), и штамм вируса АЧС 8-№ 2 «Одинцово 02/14», полученный из пробы селезенки отстрелянного кабана (Московская обл., Одинцовский р-н, Таракановское лесничество).

С целью изучения влияния индукторов ИФН использовали лиофильно высушенный препарат полудана (ООО «Лэнс-Фарм», дочерняя компания ОАО «Верофарм», г. Москва), 100 ЕД, который растворяли в питательной среде Игла и добавляли в культуральные флаконы с субконфлюэнтным монослоем культуры клеток в дозах 25–100 ЕД за 24 ч до заражения вирусом.

Использовали перевиваемые культуры клеток (КК) СПЭВ (клетки почки эмбриона свиньи) и MARC-145 (клетки почки макаки-резуса), которые получали из сектора культур клеток отдела инноваций ФГБУ «ВНИИЗЖ».

Первичные КК тестикул свиней (ТС) и селезенки свиньи (СС) получали в референтной лаборатории по африканской чуме свиней путем трипсинизации тканей с использованием питательной среды Игла, в которую добавляли 20% фетальной сыворотки КРС (PAN-Biotech, Германия) и противомикробные средства широкого спектра действия [2].

Суспензию КК СПЭВ, MARC-145 и ТС в посевной концентрации 500, 150–200 и 250 тыс. кл/см<sup>3</sup> соответственно использовали для посева в культуральные флаконы (матрасы) площадью 25 см<sup>2</sup> или лунки 96-луночных культуральных микропланшетов. Подсчет клеток проводили с помощью автоматического счетчика клеток Countess™ (Invitrogen™, Корея). Инкубировали планшеты с КК в СО<sub>2</sub>-инкубаторе с содержанием 5% СО<sub>2</sub>.

Опыты с использованием полудана проводили по следующей схеме: из матрасов с монослоем удаляли культуральную среду, в одну группу матрасов на монослой клеток вносили по 0,5 см<sup>3</sup> раствора полу-

дана в дозе 25–100 ЕД, в другую – такое же количество питательной среды, по 2 матраса оставляли в качестве контроля культуры клеток. Матрасы с полуданом и без него инкубировали в термостате в течение 1 ч при температуре (37 ± 0,5) °С. Затем вносили по 9 см<sup>3</sup> питательной среды в каждый матрас. Спустя 24 ч в каждый из матрасов вносили по 1 см<sup>3</sup> препарата вируса в разведениях 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-4</sup>, 10<sup>-5</sup>, 10<sup>-6</sup>, 10<sup>-7</sup>, заранее приготовленных в пенициллиновых флаконах. Все пробы исследовали с помощью светового инвертированного микроскопа «Биолам П-1» (ОАО «ЛОМО»).

Через 72–144 ч после внесения вируса, когда наблюдалось существенное по степени выраженности цитопатическое действие (ЦПД), матрасы с полуданом и без полудана помещали в морозильную камеру (–70 °С) на 1–2 ч. Затем вирусосодержащую жидкость «замораживали – оттаивали» и отбирали пробы для определения инфекционной активности вируса.

Титрование проводили в 96-луночных культуральных микропланшетах с соответствующей КК. Инфекционный титр вируса рассчитывали по методу Кербера (1931) в модификации И. П. Ашмарина (1959, 1962) и выражали в Ig ТЦД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Первичный анализ интерферогенной активности полудана проводили с использованием КК MARC-145, инфицированной вирусом РРСС. Для штамма «Иркутский-2007-В» разведение вируса составляло 10<sup>-6</sup>, т. е. ~3 ТЦД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>, для всех остальных используемых в работе штаммов – 10<sup>-5</sup>, т. е. 10–17 ТЦД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>. Через 24–48 ч после инокуляции вируса во всех матрасах с полуданом и без него наблюдали незначительные изменения в монослое – 5–10% округлившихся клеток. Постепенно монослой деадегезировался, отдельные клетки слущивались в питательную среду, а уже через 120 ч поражение охватывало более 85% монослоя, причем в контроле КК монослой оставался неповрежденным.

ЦПД штамма «Иркутский-2007-В» вируса РРСС более четко проявилось в матрасах с культурой клеток, обработанной полуданом в дозе 50 ЕД, по сравнению с культурой клеток без обработки полуданом (табл. 1).

Показано, что инокуляция полудана в культуру клеток MARC-145 способствовала снижению титра штамма «Иркутский-2007-В» вируса РРСС на 0,75 Ig ТЦД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>, а штамма NVSL – на 1,50 Ig ТЦД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>. Следовательно, для вируса РРСС под влиянием полудана отмечалось снижение инфекционной активности в среднем на 1,25 Ig ТЦД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>. Однако внесение полудана не оказало существенного влияния на репродукцию штамма «БД» вируса РРСС.

Таким образом, в результате проведенного исследования выявили снижение титров вируса РРСС в культуре клеток MARC-145 под влиянием полудана, так как данный препарат активизировал выработку ИФН в клетках MARC-145.

Анализ влияния индукции ИФН на репродукцию вируса ТГЭС (штаммы «Ленинградский», «Ильиногорский» и «Краснодонский»), адаптированного к росту в культуре клеток СПЭВ, проводили с использованием указанной КК.

В КК СПЭВ ЦПД вируса ТГЭС проявлялось в виде округления клеток и их дегенерации. Признаками дегенерации клеток являлись их сморщивание, исчезно-

**Таблица 1**  
Титры инфекционной активности вируса РРСС в культуре клеток MARC-145 с добавлением полудана и без полудана (n = 3)

Штамм вируса	Генотип вируса	Титр вируса (lg ± 0,25 lg ТЦД <sub>50</sub> /см <sup>3</sup> )	
		с полуданом	без полудана
«Иркутский-2007-В»	Американский	5,75	6,50
«БД»		6,25	6,50
NVSL		5,00	6,50
«Итальянский-2165»	Европейский	4,50	4,75
«КПР»		5,75	6,50

**Таблица 2**  
Результаты титрования вируса ТГЭС в культуре клеток СПЭВ с полуданом и без полудана (n = 3)

Штамм вируса	Титр вируса (lg ± 0,25 lg ТЦД <sub>50</sub> /см <sup>3</sup> )	
	с полуданом	без полудана
«Ленинградский»	7,00	7,00
«Краснодонский»	7,75	7,75
«Ильиногорский»	4,75	4,75

вание контура ядра и наступление гибели клеток в течение 24–36 ч после инокуляции вируса.

В результате экспериментов установлено, что при добавлении полудана в дозе 50 ЕД и без него не наблюдались различия в проявлении ЦПД вируса ТГЭС при инфицировании клеток в дозе 10 ТЦД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup> (разведение 10<sup>-6</sup>) при 144-часовой экспозиции вируса (табл. 2).

Вирус ТГЭС всех трех исследуемых штаммов при добавлении полудана репродуцировался так же, как при культивировании данного вируса без использования полудана.

С целью определения возможной интерферогенной дозы полудана для клеток СПЭВ провели серию опытов по анализу изменений вирусной активности при внесении разных количеств полудана (табл. 3).

Сделали вывод, что внесение полудана в дозах от 25 до 100 ЕД не вызывает существенных изменений в инфекционной активности вируса ТГЭС. Таким образом, полудан не обладает интерферогенной способностью для клеток СПЭВ, и использование этой линии

**Таблица 3**  
Сравнительные данные титров инфекционной активности вируса ТГЭС, штамм «Ленинградский», в культуре клеток СПЭВ с разными дозами полудана и без полудана (n = 3)

Разведение вируса	Титр вируса (lg ± 0,25 lg ТЦД <sub>50</sub> /см <sup>3</sup> )			
	с полуданом			без полудана
	25 ЕД	50 ЕД	100 ЕД	
10 <sup>-5</sup> (100 доз)	7,75	7,75	7,75	7,50
10 <sup>-6</sup> (10 доз)	7,50	7,50	7,50	7,75

**Таблица 4**  
Титры инфекционной активности вируса ТГЭС, штамм «Ленинградский», в культуре клеток ТС с полуданом и без полудана ( $n = 3$ )

Доза вируса, ТЦД <sub>50</sub> /см <sup>3</sup>	Титр вируса ( $Ig \pm 0,25 Ig$ ТЦД <sub>50</sub> /см <sup>3</sup> )			
	250 тыс. кл./см <sup>3</sup>		500 тыс. кл./см <sup>3</sup>	
	с полуданом	без полудана	с полуданом	без полудана
100	5,00	7,25	4,00	7,37
10	4,75	7,25	3,37	7,37
1	2,50	7,25	2,00	7,37

**Таблица 5**  
Результаты титрования вируса АЧС в культуре клеток СС с полуданом и без полудана ( $n = 5$ )

Заражающая доза, ГАД <sub>50</sub> /см <sup>3</sup>	Титр вируса ( $Ig \pm 0,25 Ig$ ГАД <sub>50</sub> /см <sup>3</sup> )			
	«Лазаревское 01/14»		8-№ 2 «Одинцово 02/14»	
	с полуданом	без полудана	с полуданом	без полудана
1000	7,00	7,25	6,50	7,00
100	6,75	7,25	5,25	7,00
10	6,50	7,25	4,00	7,00

клеток для изучения влияния ИФН на репродукцию вируса нецелесообразно.

На следующем этапе изучали интерферогенную способность полудана в первичных КК ТС с использованием вируса ТГЭС, штамм «Ленинградский».

С этой целью приготовили разведения от  $10^{-1}$  до  $10^{-7}$  вируса ТГЭС. Последними разведениями (с  $10^{-5}$  до  $10^{-7}$ ) заражали матрасы с монослоем ТС, обработанные полуданом и без обработки. В течение первых 24 ч репродукции вируса ТГЭС в монослое ТС наблюдали появление округлых клеток, увеличенных в размере. Через 48 ч вирус ТГЭС начал более активно разрушать монослой: на 35–45% – с полуданом, на 75–80% – без полудана.

В период максимального различия ЦПД вируса в матрасах (через 48 ч после инокуляции) пробы были заморожены, и в дальнейшем в планшетах с первоначальной посадочной концентрацией клеток 250 и 500 тыс. кл./см<sup>3</sup> был определен титр накопившегося вируса в клетках ТС (табл. 4). Доза полудана составила 50 ЕД.

Результаты показали различия в титрах в сто и более раз (от 2,25 до 5,37  $Ig$  ТЦД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>). Это свидетельствует о том, что полудан значительно увеличивает выработку ИФН в первичной КК ТС.

Поскольку для вируса АЧС установлено, что ИФН оказывают существенное воздействие на его репликацию в зависимости от вирулентности изолята, особый интерес представлял анализ чувствительности к ИФН российских изолятов [15]. Для этого были выбраны два варианта вируса с различающейся степенью вирулентности для свиней: изолят «Лазаревское 01/14» обладал 100%-й летальностью, а летальность штамма 8-№ 2 «Одинцово 02/14» была не менее 80%. Доза полудана для клеток СС составила 50 ЕД.

Результаты анализа (табл. 5) показали, что снижение уровня накопления вируса для изолята «Лазаревское 01/14» было достоверным, но незначительным и не превышало значения 1,00  $Ig$  ГАД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>. Для штамма 8-№ 2 «Одинцово 02/14» разница в титрах вируса в пробах с полуданом и без него варьировала в более широких пределах: от 0,50 до 3,00  $Ig$  ГАД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>.

Таким образом, в результате проведенных исследований выявили, что полудан обладает высокой интерферогенной активностью для первичных КК ТС и СС, которые способны продуцировать ИФН в большей степени, чем перевиваемые КК. Это выражается в ингибировании развития ЦПД вирусов, снижении уровня их накопления.

## ОБСУЖДЕНИЕ

По литературным данным известно, что клетки первичной культуры в большей степени, чем перевиваемые, секретируют ИФН типа I (включающий  $\alpha$ - и  $\beta$ -ИФН), который защищает соседние клетки от инфицирования различными вирусами, например РРСС, ТГЭС (табл. 6), и тормозит их репликацию [12, 17, 18]. В свою очередь, некоторые вирусы способны с помощью определенных неструктурных белков подавлять синтез ИФН в клетках, что облегчает их репродукцию в определенных КК. Так, например, неструктурный белок 2 вируса РРСС обладает не только деубиквитинилирующей активностью, но и является антагонистом ИФН [18].

Для вируса АЧС было установлено наличие генов, продукты экспрессии которых ингибируют выработку ИФН в моноцитах и макрофагах свиньи. Причем для вирулентных изолятов было доказано, что при их репродукции наблюдается существенное снижение уровня выработки ИФН в инфицированных клетках [13].

По данным А. L. Reis и соавт., удаление генов мультигенных семейств MGF 360 и MGF 505, ответственных за синтез ингибиторов ИФН, из генома вирулентного вируса АЧС снижает его летальность для домашних свиней [14].

В проведенных экспериментах наблюдали существенную разницу в чувствительности к воздействию ИФН у изолята «Лазаревское 01/14» и штамма 8-№ 2 «Одинцово 02/14» вируса АЧС. Этот факт полностью согласуется с выводами А. L. Reis и соавт., поскольку в геноме штамма 8-№ 2 «Одинцово 02/14» выявлена делеция в гене 4R мультигенного семейства MGF 505, отсутствующая в геноме изолята «Лазаревское 01/14» [3].

Следовательно, в результате работы определены основные параметры влияния интерферогенной активности полудана при изучении особенностей репродукции вирусов РРСС, ТГЭС и АЧС. Обобщенные результаты представлены в таблице 6.

Таким образом, принимая во внимание важную роль интерферона при развитии защитного иммунитета *in vivo*, важно научиться определять *in vitro* способность различных штаммов испытываемых вирусов стимулировать и/или ингибировать продукцию интерферона в клетках; подбирать наиболее эффективные индукторы интерферона, которые можно будет использовать для профилактики и лечения различных заболеваний животных.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенной работы для перевиваемой культуры клеток MARC-145 была установлена

умеренная интерферогенная активность полудана, которая проявилась в снижении титра вируса РРСС на 0,25–1,50 Ig ТЦД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup> в зависимости от штамма. Эти результаты согласуются с данными, полученными L. C. Miller и соавт. [17].

В то же время при использовании перевиваемой линии клеток СПЭВ не удалось выявить влияния полудана на репродукцию вируса ТГЭС, что может быть вызвано либо отсутствием интерферогенного воздействия полудана на данные клетки, либо тем, что клетки СПЭВ не обладают способностью эффективно продуцировать интерферон, поэтому они не могут быть использованы для изучения интерферогенной активности полудана.

Для клеток ТС отмечалось снижение титров вируса ТГЭС, штамм «Ленинградский», в 2 раза и более (от 2,25 до 5,37 Ig ТЦД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>) в культуре клеток, предварительно обработанной полуданом, по сравнению с титрами накопления данного вируса в культуре, не обработанной полуданом.

При анализе интерферогенной активности полудана и его воздействия на репродукцию вируса АЧС в первичной культуре клеток СС установлено снижение титра накопления для изолята «Лазаревское 01/14» на 0,25–0,75 Ig ГАДЕ<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>, а для штамма 8-№ 2 «Одиноково 02/14» – на 0,50–3,00 Ig ГАДЕ<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>, что связано с особенностями структуры его генома.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Андронати С. А., Литвинова Л. А., Головенко Н. Я. Пероральный индуктор эндогенного интерферона «Амиксин» и его аналоги // Журн. АМН Украины. – 1999. – Т. 5, № 1. – С. 53–66.
2. Изучение репродукции вируса африканской чумы свиней на первичной культуре клеток костного мозга свиней до и после криоконсервирования / И. Ю. Жуков, И. В. Шевченко, Н. Н. Власова [и др.] // Ветеринария сегодня. – 2016. – № 1. – С. 7–15.
3. Исследование молекулярно-генетических особенностей изменчивости вируса АЧС, циркулирующего на территории РФ / Н. Н. Власова, А. А. Елсукова, А. А. Варенцова [и др.] // Актуальные проблемы в промышленном свиноводстве: 6-й Междунар. вет. конгр., Сочи, 12–15 апр. – Сочи, 2016. – С. 11.
4. Кузнецов В. П. Интерфероны в каскаде цитокинов: исторический и современный аспекты // Антибиотики и химиотерапия. – 1998. – Т. 43, № 5. – С. 28–40.
5. Медведева М. В., Беляк А. С. Воздействие препарата полудан на иммунологические и биохимические показатели крови животных с экспериментальным конъюнктивитом в магнитном поле повышенной напряженности // Человек и его здоровье. – 2015. – № 4. – С. 104–107. – URL: <http://www.kursk-vestnik.ru/jour/article/view/82/83> (дата обращения: 24.04.17).
6. Митягина О. Н., Павлюк А. С. Влияние иммуномодулятора «полудана» на клеточную регенерацию и состояние апоптоза в эксперименте // Тезисы 1-го российского симпозиума по рефракционной хирургии. – М., 1999. – С. 66.
7. Никитин Е. В., Чабан Т. В., Лапай В. С. Использование индуктора интерферона амиксин в комплексной терапии острых и хронических вирусных гепатитов. – Одесса, 2000. – 16 с.
8. Полудан. – URL: [http://www.rlsnet.ru/tn\\_index\\_id\\_6054.htm](http://www.rlsnet.ru/tn_index_id_6054.htm) (дата обращения: 24.04.17).
9. Результаты и перспективы использования индукторов интерферона в лечении инфекционных болезней / Ф. И. Ершов [и др.] // Вестник РАМН. – 2013. – Т. 68, № 10. – С. 46–52.

**Таблица 6**  
Влияние полудана на репродукцию испытуемых вирусов

Вирус	Штамм	Характеристика штамма	Культура клеток	Эффект от введения полудана
РРСС	«Иркутский-2007-В»	Слабовирулентный	MARC-145	+
	«БД»	Авирулентный	MARC-145	±
	NVSL	Слабовирулентный	MARC-145	+
	«Итальянский-2165»	Слабовирулентный	MARC-145	±
	«КПР»	Авирулентный	MARC-145	+
ТГЭС	«Ленинградский»	Слабовирулентный	ТС	+
	«Ленинградский»	Слабовирулентный	СПЭВ	–
	«Ильиногорский»	Авирулентный	СПЭВ	–
	«Краснодонский»	Авирулентный	СПЭВ	–
АЧС	«Лазаревское 01/14»	Летальность 100%	СС	±
	8-№ 2 «Одиноково 02/14»	Летальность ≥ 80%	СС	+

«+» – положительный результат; «±» – сомнительный результат; «–» – отрицательный результат.

10. Романцов М. Г., Ершов Ф. И., Коваленко А. Л. Противовирусные препараты для лечения ОРВИ и гриппа у детей (клинический обзор) // Фундамент. исследования. – 2010. – № 9. – С. 76–87.
11. Хаитов Р. М., Пинегин Б. В. Современные иммуномодуляторы. Классификация. Механизм действия. – М.: Фармарус принт, 2005. – 27 с.
12. Charley B., Lavenant L. Characterization of blood mononuclear cells producing IFN alpha following induction by coronavirus-infected cells (porcine transmissible gastroenteritis virus) // Res. Immunol. – 1990. – Vol. 141, No. 2. – P. 141–151.
13. Costa E. Viral modulation of interferon (IFN) responses to African swine fever virus (ASFV): Dissertação. – Departamento de Biologia Animal, Lisboa, 2011. – 61 p.
14. Deletion of African swine fever virus interferon inhibitors from the genome of a virulent isolate reduces virulence in domestic pigs and induces a protective response / A. L. Reis, C. C. Abrams, L. C. Goatley [et al.] // Vaccine. – 2016. – Vol. 34, No. 39. – P. 4698–4705.
15. Esparza I., González J. C., Viñuela E. Effect of interferon-α, interferon-γ and tumour necrosis factor on African swine fever virus replication in porcine monocytes and macrophages // J. Gen. Virol. – 1988. – Vol. 69. – P. 2973–2980.
16. Immunomodulators in the prevention of acute respiratory viral infections / T. A. Semenenko [et al.] // Rus. J. Immunol. – 2002. – Vol. 7, No. 2. – С. 105–114.
17. Interferon type I response in porcine reproductive and respiratory syndrome virus-infected MARC-145 cells / L. C. Miller, W. W. Laegreid, J. L. Bono [et al.] // Arch. Virol. – 2004. – Vol. 149, No. 12. – P. 2453–2463.
18. The cysteine protease domain of porcine reproductive and respiratory syndrome virus nonstructural protein 2 possesses deubiquitinating and interferon antagonism functions / Z. Sun, Z. Chen, S. R. Lawson, Y. Fang // J. Virol. – 2010. – Vol. 84, No. 15. – P. 7832–7846.