



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **85068** (13) **U**
(51) МПК (2013.01)
A61B 17/00

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2013 05594	(72) Винахідник(и): Дегтяренко Валентин Іванович (UA)
(22) Дата подання заявки: 29.04.2013	(73) Власник(и): Дегтяренко Валентин Іванович, вул. Набережна, 31, с. Арчепігівка, Любашівський р-н, Одеська обл., 66531 (UA), ОДЕСЬКА РЕГІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК, вул. Корольова, 45, корп. 1, кв. 20, м. Одеса, 65013 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 11.11.2013	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 11.11.2013, Бюл.№ 21	

(54) СПОСІБ ЛІКУВАННЯ ГРИПУ ІНГІБІТОРАМИ ПРОТЕОЛІТИЧНИХ ФЕРМЕНТІВ

(57) Реферат:

Спосіб лікування грипу, при якому застосовують інгібітори протеолітичних ферментів

U
UA 85068

Корисна модель належить до області медицини, переважно до області вірусології.

Відомий спосіб лікування грипу за допомогою інгібіторів нейрамінідази вірусу грипу: озельтамівіру і занамівіру (Кисельов О.І., Єршов Ф.І., Биков А.Т., Покровський В.І.) Пандемія грип 2009/2010: протівірусна терапія і тактика лікування. - СПб., 2010. - 97 с.,
 5 www.Wikipedia.org/neiraminidasa/

Недоліком цього способу є те, що вказані лікувальні засоби викликають ряд побічних дій, таких як нудоту, блювання, діарею і ряд психічних розладів: порушення свідомості, галюцинації, психози і звикання.

Відомий спосіб лікування грипу за допомогою інгібіторів білка М2, так званих амантадинів - амантадину і ремантадину, які блокують протонні насоси в чутливих до вірусу грипу клітин і тим самим перешкоджають проникненню вірусу в клітини (Киселев О.І. і інші - 2010; Грип - Вікіпедія; Єршов Ф.І., Романцов М.Г. Протівірусні препарати в педіатрії. - М., 2005; Єршов Ф.І. Протівірусні препарати. Довідник (Вид. 2-е). - М., 2006)

Недоліком цього засобу є те, що ці засоби активні тільки відносно вірусу грипу типу А і не активні відносно грипу типу В. При прийомі всередину у пацієнтів в 14 % випадків виникають болі в животі, у 3-6 % виникає сонливість, безсоння, головний біль, запаморочення, порушення зору, дратівливість, парестезії, тремор, судоми. І головним недоліком вказаних протигрипозних засобів є формування резистентності вірусів грипу.

Як вважає академік Кисельов О.І., немає підстав бути задоволеними результатами клінічного застосування цих препаратів, оскільки не забезпечується радикальний ефект в результаті ОРБІ і грип продовжують залишатися малоконтрольованими інфекціями.

В основу даної корисної моделі поставлено задачу удосконалити спосіб лікування грипозної інфекції на базі іншого механізму, який використовується вірусом грипу при його репродукції в чутливих клітках, а саме, вважаючи можливу роль системи протеолітичних ферментів і їх інгібіторів.

На той час - 1972-1974 рр. - час нашого світового пріоритету, метою наукової роботи, яка спланована особисто автором цієї корисної моделі в 1972 році, керівником лабораторії біохімії Одеського НДІ вірусології і епідеміології ім. І.І. Мечникова, і незабаром була виконана, була поставлена задача вивчити значення системи протеолітичних ферментів і їх інгібіторів при грипі.

Мова йде про тем-карти 1972-1974 рр. (1, 2, 3), публікації в НІР і ОКР в 1972 г (4).

Основним задумом наукових досліджень автора, які були встановлені в основу корисної моделі було ліквідувати недоліки наведених способів лікування грипу

В результаті проведених широких наукових досліджень в 1972-1974 рр., а потім продовжених в 1975-1980 і в 1985 рр., були одержані зовсім нові дані, які показали, що інгібітори протеолітичних ферментів трипсину і трипсиноподібних ферментів гальмують репродукцію вірусів грипу типу А і Б в культурі клітин тканини хоріоантаноїсних оболонок курячого ембріона (ХАО), а також підвищують виживання чутливих до вірусу грипу експериментальних тварин - білих мишей при зараженні їх смертельними дозами різних штамів патогенних вірусу грипу. Таким чином експериментально вперше був доведений факт гальмування /блокади/ інгібіторами протеолітичних ферментів Е-АМІНОКАПРОНОВОЇ КИСЛОТОЮ, КОНТРИКАЛОМ, ЦАЛОЛОМ, СОЙОВИМ ІНГІБІТОРОМ ТРИПСИНУ і іншими репродукції вірусів грипу штамів АО/32 /Н0Н1/, А2/Вікторія/35/72 /Н3Н2/, А2/Вікторія/36/73 /Н3Н2/, вірус грипу В В/Японія, вірус хвороби Ньюкасла /ВХН ШТАМ Ла-Сота, А/Гонконг/1/68 /Н3/Н2/, а також проявляють лікувальний ефект при зараженні білих мишей смертельною дозою вірусу грипу. Ці результати депоновані у вигляді трьох наукових звітів в Одеському НДІ вірусології ім. І.І. Мечникова в Одесі (4-6). Нижче ми приводимо основні результати досліджень, які підтверджують приклад здійснення справжньої корисної моделі.

Приклад здійснення 1

Гальмування репродукції міксовірусів Е-АМІНОКАПРОНОВОЇ КИСЛОТОЮ /Е-АКК/ в культурі тканини /ХАО/.

Для цього шматочки ХАО, прикріплені до шкаралуп, заражали падаючими 10-кратними концентраціями вірусів. При титруванні інфекційної активності вірусу підтримуюче середовище не містило інгібіторів (контроль) або містило інгібітор в певній концентрації. Після 48-годинної інкубації зараженої культури при +36 градусів Цельсія (віруси грипу серотипу А І ВБН) або при +33 град. (вірус грипу серотипу В) для визначення наявності вірусу по РГА шкаралупу видаляли, а в лунки з вірусомісним підтримуючим середовищем додавали 0,1 мл 5 % суспензії курячих еритроцитів. Інфекційну активність вірусів розраховували методом Кербера в модифікації І.П. Ашмаріна (7) і виражали в log ТІД 50/0,1 мл.

Встановлено, що Е-АКК гальмує репродукцію всіх досліджених штамів вірусу грипу серотипів А і В І ВХН (вірусу хвороби Ньюкасла) в культурі ХАО (див. таблицю 1 і Фіг. 1). Особливо чітко протівірусна дія інгібітору протеаз Е-АКК виявлялося при використуванні препарату в дозі 30 мг/мл.

5 Подальше дослідження впливу інгібіторів протеолізу на репродукцію вірусу грипу проводили на штамі АО/32 (H0N1), оскільки він міг бути використаний в досліді при вивченні дії інгібіторів протеаз на протікання летальної грипозної інфекції у мишей.

10 І хоча вищеописаний метод встановлення протівірусних властивостей препарату є загальноприйнятим і рекомендований в Методичних вказівках ВНДІ грипу МЗ СРСР "Методи випробування і оцінки протівірусної активності нових препаратів відносно вірусу грипу". - Л., 1973, проте не можна виключити, що при цьому паралелізм між інфекційністю знову синтезованого вірусу і його гемаглютинуючою активністю може порушуватися випробовуваною речовиною (наприклад, за рахунок синтезу неінфекційного, але гемаглютинуючого вірусу, або інфекційного вірусу без поверхневої оболонки, тобто без гемаглютиніну).

15 Щоб виключити можливість такого спотворення ми дослід модифікували таким чином.

20 Однакову дозу вірусу, що заражає, вносили в 10 паралельних проб культури ХАО, що містять (дослід) або не містять інгібітор (контроль). Через 8 або 24 годин інкубації при +36 °С культуральну рідину з 10 паралельних окремих контрольних і окремо дослідних зразків об'єднували і концентрацію інфекційного вірусу визначали на нормальній культурі ХАО, використовуючи по 6 зразків на кожне 10-кратне падаюче розведення вірусу. Така постановка досліді також дозволяє понизити витрату досліджуваного препарату і в результаті об'єднання матеріалу з лунок сприяє нівеляції випадкових змін і накопиченню і посиленню закономірних.

Таблиця 1

Гальмуючий вплив Е-амінокапронової кислоти /Е-АКК/ в концентрації 30 мг/мл на репродукцію міксовірусів в культурі ХАО

Дослідний вірус	Група	t° інкубації впродовж 48 год.	Репродукція (по даних РГА) вірусу, використаного в наступних розведеннях ^х											Інфекційна активність вірусу в ІД 50/мл	
			10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹	10 ⁻¹⁰			
													<u>xx</u>		
Вірус грипу А2/Вікторія/35/72	контр. дослід	36	10/10 10/10	10/10 2/10	10/10 3/10	10/10 0/10	10/10 0/10	10/10 0/10	10/10 0/10	н/д	н/д	н/д	7,1 3,0	4	
Вірус грипу А2/ПортЧалмерс/73	контр. дослід	36	10/10	10/10	10/10	8/10	7/10	1/10	0/10	н/д	н/д	н/д	6,1 2,8	3	
Вірус грипу А0/32	контр. дослід	36	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	4/10	0/10	н/д	н/д	н/д	6,9 3,1	3	
Вірус грипу В/Японія	контр. дослід	36	10/10	9/10	6/10	1/10	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	4,1 2,5	3	
ВХН штам Ла-Сота	контр. дослід	36	н/д	18/18 18/18	18/18 14/18	18/18 10/18	18/18 5/18	18/18 6/18	8/10 5/10	8/10 3/10	5/10 1/10	0/18 0/18	9,6 5.35	4	

^х - Відношення числа проб з виявленням синтезом вірусного потомства до загального числа заражених культур

^{xx} - не досліджували

25 ІgТm 50/0,1 мл

30 У вказаній модифікації досліджували протівірусну ефективність різних за походженням і механізми дії інгібіторів протеолітичних ферментів. Інгібітори використовували у високих концентраціях: Е-АКК - 30 мг/мл, соєвий інгібітор трипсину Кунітца 2 мг/мл, контрикал - 500 АТрЕ/мл, Триелін - 500 од/мл. При цьому заздалегідь переконувалися, що інгібітори протеаз у вказаних концентраціях не мають вируліцидної дії відносно позаклітинного вірусу, а також не чинять впливу на здатність тканини репродукувати вірус при її попередній обробці з подальшим видаленням препаратів перед зараженням вірусом.

35 Результати дії інгібіторів протеолітичних ферментів протягом одного (протягом 8 годин) або декількох циклів репродукції вірусу грипу АО/32 (протягом 24 годин) в культурі тканини представлені в таблицях 2 і 3 і на Фіг. 2-4. Дані дослідів, поставлених у вказаній модифікації,

свідчать про достовірний характер гальмуючого репродукцію вірусу грипу дії всіх випробуваних інгібіторів протеолітичних ферментів ($p < 0,05$ по критерію знаків).

Таким чином, в результаті описаних вище досліджень нами експериментально встановлено невідоме раніше явище гальмування репродукції міксовірусів специфічними інгібіторами протеолітичних ферментів (В.І. Дегтяренко і інші, 1976) (8).

Суть знайденого явища визначається втручанням інгібіторів протеолітичних ферментів безпосередньо в процес репродукції вірусів в чутливих клітках, оскільки інгібітори не виявляли вируліцидних властивостей і не впливали на здатність незаражених клітин надалі підтримувати репродукцію вірусів.

Досліджені нами інгібітори протеолітичних ферментів гальмували репродукцію вірусів в такому ступені, що це чітко можна було виявити по зниженню врожаю вірусів вже через 8 годин після інфікування культури клітин ХАО. Оскільки нами встановлено, що при зараженні культур ХАО вірусом грипу АО/32, поява вірусу першого врожаю виявляється в позаклітинному середовищі через 6 годин, а достатньо чітко накопичення вірусу першого врожаю виявлено до 7-8 годині.

Саме це після зараження дозволило вивчити вплив інгібіторів протеолізу на різні етапи репродукційного циклу.

Як самий універсальний інгібітор протеолітичних ферментів в цій серії дослідів використовували Е-АКК. Інгібітором впливали в різні строки після інфікування культури: впродовж 2-х перших, 3-4 або 5-8 годин після зараження. Такі строки впливу інгібітору були вибрані, оскільки відомо, що вірус грипу протягом перших двох годин після зараження проходить ранні етапи репродукції, значно гальмуючи при цьому синтез хазайських клітинних білків, тоді як впродовж 3-4 годин після зараження в клітині здійснюються синтези вірусних білків з швидкістю, в 2 рази більшою, ніж синтезується білок в незараженій культурі (9).

Таблиця 2

Гальмуючий вплив інгібіторів протеаз на репродукцію вірусів грипу штами АО/32 при одноциклового розмноженні в культурі ХАО

Досліджувальний препарат	№ досл.	Група	Інфекційна активність вірусів в ІД ₅₀ /мл по даних РГА після 8-годинної репродукції на ХАО	Розведення рідини, що містить вірус з досліді по одноциклової репродукції, що підлягає розтитровці	Інфекційна активність розтитрованого вірусу в ІД ₅₀ /мл по даних РГА після 48-годинної репродукції на ХАО	ІД ₅₀ /мл
Е-амінокапронова кислота в концентрації 30 мг/л	1	контр. дослід	3,8 3,5	10 ⁻³	5,1 3,3	1,8
	2	контр. дослід	3,5 3,5	10 ⁻³	4,5 3,3	1,2
	3	контр. дослід	3,5 2,5	10 ⁻²	5,5 3,6	1,9
	4	контр. дослід	4,2 3,8	10 ⁻²	5,1 3,8	1,3
	5	контр. дослід	4,5 3,7	10 ⁻³	4,8 3,5	1,3
Соевий інгібітор трипсину Кунітца в концентрації 2 мг/мл	6	контр. дослід	3,8 3,5	10 ⁻³	5,1 3,1	2,0
	7	контр. дослід	3,5 3,5	10 ⁻³	4,5 2,8	1,7
	8	контр. дослід	3,5 3,2	10 ⁻²	5,5 4,6	0,9
	9	контр. дослід	4,2 3,5	10 ⁻²	5,1 4,5	0,6
	10	контр. дослід	4,5 3,2	10 ⁻³	4,8 4,0	0,8
Препарат "Триелін" в концетрації 500 КІЕ/мл	11	контр. дослід	4,5 3,3	10 ⁻³	4,8 3,6	1,2
	12	контр. дослід	3,5 3,2	10 ⁻³	4,5 3,8	0,7
	13	контр. дослід	3,5 3,5	10 ⁻³	4,7 4,3	0,4
	14	контр. дослід	3,5 3,5	10 ⁻³	5,0 3,8	1,2
	15	контр. дослід	3,5 3,5	10 ⁻³	4,3 4,0	0,3

Таблиця 3

Гальмуючий вплив інгібіторів протеаз на репродукцію вірусів грипу штами АО/32 при багатоцикловому розмноженні в культурі ХАО

Досліджувальний препарат	№ досл.	Група	Інфекційна активність вірусів в ІД ₅₀ /мл по даних РГА після 24-годинної репродукції на ХАО	Розведення рідини, що містить вірус з досліді по багатоциклової репродукції, що підлягає розтитровці	Інфекційна активність розтитрованого вірусу в ІД ₅₀ /мл по даних РГА після 48-годинної репродукції на ХАО	ІД ₅₀ /мл
Е-амінокапронова кислота в концентрації 30 мг/л	1	контр. дослід	6,1 3,5	10 ⁻⁵	6,5 2,6	3,9
	2	контр. дослід	6,3 4,5	10 ⁻⁵	6,5 5,3	1,2
	3	контр. дослід	6,3 4,0	10 ⁻⁵	8,8 4,1	4,7
	4	контр. дослід	6,8 4,5	10 ⁻⁵	6,6 4,6	2,0
	5	контр. дослід	6,2 3,3	10 ⁻⁵	5,8 2,8	3,0
Соєвий інгібітор трипсину Кунітца в концентрації 2 мг/мл	6	контр. дослід	6,1 3,3	10 ⁻⁵	6,5 3,6	1,9
	7	контр. дослід	6,3 3,5	10 ⁻⁵	6,5 4,1	2,4
	8	контр. дослід	6,3 5,2	10 ⁻⁵	8,8 3,6	5,2
	9	контр. дослід	6,8 5,5	10 ⁻⁵	6,6 5,6	1,0
	10	контр. дослід	6,2 4,5	10 ⁻⁵	5,8 4,3	1,5
Препарат "Триелін" в концентрації 500 КІЕ/мл	11	контр. дослід	6,3 4,5	10 ⁻⁵	8,8 4,3	4,5
	12	контр. дослід	6,8 5,8	10 ⁻⁵	6,6 5,0	1,6
	13	контр. дослід	6,2 5,2	10 ⁻⁵	5,8 4,8	1,0
	14	контр. дослід	5,2 3,5	10 ⁻⁵	5,1 2,6	2,5
	15	контр. дослід	7,5 5,0	10 ⁻⁵	8,1 6,0	2,1

Таблиця 4

Вплив Е-АКК (30 мг/мл) на ранній стадії репродуктивного циклу вірусу грипу Ао/32 при одноциклового (8 годин при 37 °С) розмноженні його в культурі ХАО

	Група	Час взаємодії								
		0/30 хвилин			0-1 годин			0-1,5 годин		
		інфекційна активність вірусу в ІД ₅₀ /мл	ІД ₅₀ /мл	% зниження репродукції	інфекційна активність вірусу в ІД ₅₀ /мл	ІД ₅₀ /мл	% зниження репродукції	інфекційна активність вірусу в ІД ₅₀ /мл	ІД ₅₀ /мл	% зниження репродукції
1	Дослід Контроль	2,66 2,83	0,17	32,40	2,16 2,83	0,67	78,7	н/д	----	-
2	Дослід Контроль	н/д	-	-	1,83 2,45	0,66	7,82	1,66 2,66	1,00	90,0
3	Дослід Контроль	2,50 2,66	0,16	30,09	2,00 2,66	0,66	78,2	1,83 2,16	0,33	53,3
4	Дослід Контроль	1,50 2,33	0,83	85,3	0,82 1,49	0,67	78,7	0,33 1,16	0,83	85,3
5	Дослід Контроль	1,83 2,16	0,33	53,3	0,66 2,20	1,34	97,2	0,83 1,16	0,33	53,3
6	Дослід Контроль	1,33 1,83	0,50	68,4	0,50 1,49	0,99	89,8	1,16 1,66	0,50	68,4
7	Дослід Контроль	2,16 2,49	0,33	53,3	1,99 2,66	0,67	78,7	1,83 2,83	1,00	90,0

Таблиця 5

Вплив Е-АКК (30 мг/мл) на різні стадії репродукційного циклу вірусу грипу штаму АО/32 при одноциклового (8 годин при 37 °С) розмноженні його в культурі ХАО

		Час впливу препарату								
		0-2 години			3-4 години			5-8 годин		
		Інфекційна активність вірусу в Іг ІД ₅₀ /мл	Гальмування репродукції вірусу в Іг ІД ₅₀ /мл	%	Інфекційна активність вірусу в Іг ІД ₅₀ /мл	Гальмування репродукції вірусу в Іг ІД ₅₀ /мл	%	Інфекційна активність вірусу в Іг ІД ₅₀ /мл	Гальмування репродукції вірусу в Іг ІД ₅₀ /мл	%
1	Дослід Контроль	3,3 4,8	1,5	96,7	3,63 4,3	0,67	78,7	4,13 3,8	активація на 0,3,	114
2	Дослід Контроль	2,97 4,13	1,16	93,6	2,63 3,63	1,0	90	3,72 4,3	0,58	73,7
3	Дослід Контроль	2,8 3,97	1,17	93,7	1,97 3,13	1,16	93,6	2,8 3,63	0,83	85,3
4	Дослід Контроль	2,3 3,47	1,17	93,7	2,97 3,64	0,67	78,7	2,13 2,30	0,17	32,4
5	Дослід Контроль	1,8 3,13	1,33	95,3	2,13 2,97	0,84	85,5	2,13 2,13	ні	ні
6	Дослід Контроль	1,97 3,63	1,66	97,3	2,47 3,13	0,66	78,1	2,47 2,47	ні	ні

Достовірність відмінності по критерію знаків /Р/

<0,05

<0,05

>0,05

Результати дії Е-АКК в концентрації 30 мг/мл на різні етапи репродукції вірусу грипу АО/32 в культурі ХАО представлені в таблиці 4 і Фіг. 2. Показано, що при впливі інгібітором впродовж перших двох або третьої-четвертого години після зараження мало місце статистично достовірне зниження урожаю вірусу грипу АО/32 на 78-97 %, більш виражене в ранній термін. Вплив Е-АКК після 4 годин з строки репродукції вірусу грипу може бути пов'язано з участю протеолітичних ферментів в депротейнізації вірусу.

Приклад здійснення 2

Дослідження захисної дії інгібіторів протеолітичних ферментів в дослідях на мишах.

Цим дослідженням передувала підготовча робота, яка полягала в наступному:

1. Пасирування вірусу грипу штаму АО/32 на мишах.

Для цього тваринам під легким ефірним наркозом інтраназально заражали 0,1 мл алантоїсної рідини, що містить вірус. Через 48 годин мишей убивали, стерильно витягували легені, розтирали їх в ступці з склом, додавали фізіологічного розчину з антибіотиками з розрахунку 2 мл фізіологічного розчину на легені однієї тварини. Після видалення осаду центрифугуванням при 2000 об/хв. протягом 10 хвилин, 0,1 мл надосадової рідини вводили інтраназально іншій тварині і т.д.

2. Накопичення вірусу грипу штаму АО/32 на курячих ембріонах.

Після декількох пасажів вірусу на мишах, отриманий після видалення осаду низькошвидкісним центрифугуванням екстракт легенів, що містить вірус, служить матеріалом, що заражає, для курячих ембріонів. 11-ти денні курячі ембріони заражалися в алантоїсну порожнину 0,1-0,2 мл цільні або розведені в логарифмічній пропорції матеріали, що заражають, інкубувалися 48-72 години при температурі +36 °С, потім у них стерильно відсмоктувалася алантоїсна рідина, в якій визначали титри в РГА. Зразки з титрами РГА на +++ і ++++ з 1:128 і вище об'єднувалися і після перемішування стерильно розливалися по флаконах по 1-2 мл і зберігалися при температурі -40 °С.

3. Титрування інфекційності вірусу грипу на курячих ембріонах.

По 4 11-денних курячих ембріонів в групі заражали в алантоїсну порожнину 0,1 мл цільні або розведені в логарифмічній пропорції заражені матеріали (алантоїсної рідини або екстракту легенів), після чого ембріони інкубувалися 48 годин при +36 °С. Потім, руйнуючи крупні судини курячого ембріона, ставили РГА на склі з алантоїсною рідиною. Результати обробляли методом Кербера в модифікації І.П. Ашмаріна (7).

4. Титрування інфекційності вірусу грипу штаму АО/32 вірусу грипу на мишах при інтраназальному і аерозольному методах зараження.

При інтраназальному методі зараження по 4-6 мишей заражали під легким ефірним наркозом 0,1 мл алантоїсної рідини - цільної і розведеннями з кратністю 10 (lg). При аерозольному методі зараження групи з 4-12 мишей поміщали в камеру особистої конструкції, куди за допомогою компресора при 1 атм подавали інфекційний аерозоль, створюваний з цільної алантоїсної рідини або розведень її з кратністю 10 (1 lg) або 3,16 (0,5 lg). Аерозоль створювався за допомогою ежекторної системи розпилювача для рідких антибіотиків. Тварини знаходилися в атмосфері інфекційного аерозолю протягом 15 хвилин. Умови роботи компресора були стандартними: 2 хвилини роботи, 3 хвилини інтервал, 1 хвилина роботи, 3 хвилини інтервал, 1 хвилина роботи, 3 хвилини інтервал, 1 хвилина роботи, 1 хвилина інтервал, 2 хвилини - видування інфекційного аерозолю з камери. Спостереження за тваринами здійснювалося 14 днів, облік загибелі тварин вели, починаючи з третього дня після зараження. У загиблих тварин при розтині оглядали легені на наявність пневмонії і в деяких випадках ставили РГА з екстрактами легенів.

Результати обробляли методом Кербера в модифікації І.П. Ашмаріна.

5. Розрахунок ЛД 50 /ЕІД 50 /проводили методом Кербера.

6. Розрахунок і порівняння % загиблих тварин в дослідній і контрольній групах.

Спочатку обчислюється відсоток загиблих тварин в лікованій і нелікованій групі.

Він дорівнює

$$M = \frac{a \cdot 100}{n},$$

де М - відсоток летальності;

а - кількість загиблих тварин;

п - кількість заражених тварин.

Потім розраховується середня помилка процентного відношення по формулі

$$m_p = + \sqrt{\frac{P(100 - p)}{n - 1}},$$

де m_p - середня помилка процентного відношення;

Р - процент (в нашому випадку - % летальності);

п - загальне число спостережень (в нашому випадку число заражених мишей в групі). Якщо число спостережень більше 30, то в знаменнику $n-1$ замінюється на п.

7. Визначення індексу захисту випробуваного з'єднання проводили як наведено в методичних вказівках (Методи випробування і оцінки противірусної активності нових препаратів відносно вірусу грипу. - М., 1973).

Показником противірусної активності з'єднання може бути індекс захисту (ІЗ).

Використовування цього показника можливо як у випадку одномоментного випробування декількох препаратів, так і при порівнянні дослідів, поставлених в різний час, і мають різні контролі. Розрахунки проводяться в наступній послідовності:

1. Обчислюється летальність або, наприклад, відсоток ембріонів в кожній групі:

$$M = \frac{a \cdot 100}{B}$$

2. Обчислюється коефіцієнт або кратність захисту (КЗ) тварин або ембріонів препаратом:

$$K3 = \frac{\% \text{ летальності тварин (або ембріонів) з вірусом (в контролі)}}{\% \text{ летальності тварин (або ембріонів) з вірусом в умовах введення препарату}}$$

КЗ показує, в скільки разів летальність більше в контрольній групі тварин або в скільки разів частіше вірус був знайдений в контрольній групі ембріонів.

3. Індекс захисту розраховується по формулі:

$$I3 = \frac{K3 - 1}{K3} \times 100$$

Отриманий результат розраховується по таблиці:

Таблиця оцінки активності з'єднань

Розрахована величина Індексу захисту	Оцінка активності препарату
0-29	Препарат не активний
30-39	+ Результати сумнівні або препарат має дуже слабку активність
40-59	++
60-79	+++ Препарат активний
80 і вище	

8. Розрахунок коефіцієнта кумулятивної активності виживаності /ККВ/ розраховується таким чином:

1) Визначається кумулятивне число тварин, що вижили. Воно рівне сумі складових, якими є кількість тварин, що вижили, на кожний день спостереження.

2) Визначається кумулятивне число заражених тварин. Воно рівне кількості заражених тварин на кількість днів спостереження.

3) Результат від ділення першого показника на другий і буде ККВ.

$$KKB = \frac{\text{сума тварин, що вижили (по днях спостереження)}}{(\text{кількість заражених тварин}) \cdot (\text{кількість днів спостереження})}$$

Таким чином, контрольним зараженням тваринам замість препаратів інгібіторів протеолітичних ферментів вводили підшкірно аналогічні кількості 0,85 % розчини хлористого натрію по відповідній схемі.

Кожним розведенням вірусу заражали в дослідіх №№ 1, 2, 3, 4, 6 і 7 по 6 тварин, в досліді № 5 першим і останнім розведеннями по 6 мишей, а рештою трьох розведень - по 12 тварин.

В дослідіх по схемі "Комплекс" і "Профілактика" не було отримано однозначних результатів, неоднозначний також результат застосування інгібітору Триеліну при його використуванні по схемі "Лікування".

Ін'єкції ж Е-ККА по схемі "Лікування" у всіх трьох дослідіх збільшили виживання мишей. Що підтвердилося підвищенням на 78 % - 107,5 % ЛД50 вірусу АО/32 (див. табл. 4.1).

Виразивши дози, що заражають, через кількість ЛД50, що доводиться на кожне використане для зараження розведення ВСП, ми об'єднали дані, що стосуються тварин в дослідіх №№ 3-5, заражених дозою вірусу в межах 1-2 ЛД50 (тобто 1×10 в дослідіх 3 і 4 і 1×10 в досліді № 5) і обробили ці сумарні дані. З'єднаний матеріал за даними дослідів №№ 3-5 представлений в таблиці 4.2, а результати обробки його в таблиці 4.3.

Результати, представлені в таблиці 4.3, показують достовірне зниження % летальності, підвищення коефіцієнта кумулятивної виживаності, достовірне збільшення виживаності, визначуване по критерію Х, істотне збільшення термінів виживання лікованих тварин, визначуване тестом медіани, яке мало місце при парентеральному введенні 15 % розчину Е-АКК по схемі "Лікування". Величина індексу захисту також підтверджує активність препарату.

Використовування Триеліну, за даними дослідів №№ 3-5, не надало лікувального ефекту при експериментальному грипі.

Тому в досліді № 8 ми випробували дію 1 % і 15 % розчину Е-АКК, що вводяться парентерально на великих групах (40-50 мишей), заражених дозою вірусу, що викликає загибель 60-80 % нелікованих тварин. Вибір концентрацій Е-АКК обумовлювався тим, що 15 % концентрація була ефективною в дослідіх №№ 3-5, а 1 % концентрація забезпечує дозування на 1 кг ваги, порівнянню з вживаною в клінічних умовах. В той же час відомо, що доза Е-АКК, що перевищує лікувальну в 25 разів, не є токсичною (10), тоді як в дослідіх №№ 3-5 ми працювали приблизно з 15-ти кратною дозою.

В досліді № 8 смертність мишей була вищою, ніж в дослідіх №№ 3-5, і по результатах на 14-й день спостереження істотного поліпшення показників під впливом лікування не наголошувалося. Проте, в методичних вказівках Всесоюзного ВНДІ грипу "Методи випробування і оцінки протівірусної активності нових препаратів відносно вірусу грипу" /11/ наголошується, що «...слід врахувати, що для амантадину і більшості інших препаратів істотні відмінності спостерігаються лише при обліку на 7-8 дні і вони майже повністю зникають до 14 дня /стор. 21/.

Тому ми обробили такі результати, що мали місце до 8-го дня. Показано достовірне поліпшення показників, що вивчаються, на 8-й день після зараження, більш виражене у разі застосування 1 % розчину Е-АКК.

Об'єднавши дані дослідів №№ 3, 4, 5, 8 і 9, у випадках, коли тварини заражалися дозою вірусу, що викликає загибель 65-80 % тварин в контролі, ми розраховували показники ефективності дії розчину Е-АКК на перебіг експериментальної грипоної інфекції у мишей по підсумках на 8-й і 14-й день після зараження. З'єднаний матеріал представлений в таблиці 4.5, а результати обробки його в таблиці 4.5.

Матеріали, представлені в таблиці 4.6 свідчать про позитивний вплив ін'єкції Е-АКК на показники виживаності при експериментальному грипі. Як на 8-й, так і на 14-й день після зараження. Особливо важливим і цікавим нам представляється той факт, що позитивна дія Е-АКК виявляється при введенні її протягом перших п'яти діб з моменту зараження, тобто в гострому періоді експериментальної грипоної інфекції, коли по даних В.Н. Парусова і Е.К. Колба /12/ має місце генералізований васкуліт. Тому застосування інгібіторів протеаз в гострому періоді грипоної інфекції виправдано не тільки з точки зору можливого гальмування депротейнізації віріонів і звільнення нуклеокапсидів, але і може з'явитися патогенетичною терапією, оскільки в механізмах судинних порушень, в підвищеній проникності капілярів важливу роль грають вазоактивні кініни, що утворюються в результаті дії протеолітичного ферменту калікреїну на кініногени плазми крові або кініногени тканин.

Загальним висновком за прикладом здійснення корисної моделі 2 є наступний.

Парентеральне введення універсального інгібітору протеаз Е-АКК має лікувальну дію на білих мишей, заражених адаптованим штамом вірусу грипу АО/32, при використуванні її в гострий період інфекції. Цей висновок зроблений на підставі вірусологічних, біохімічних і гістологічних досліджень, а також вивчення летальності.

Таблиця 4.1

Результати вивчення змін в смертності мишей від грипу при парентеральному використанні препаратів інгібіторів протеаз

Схема	№ досліді	Тваринам ін'єктували										
		0,85 % NaCl		15 % Е-АКК			Триелін 500 АтрЕд/мл			Цалол 250 од/мл		
		ЛД50		ЛД50			ЛД50			ЛД50		
		Ig±σ	в розвед. почат. вірусного розчину	Ig±σ	в розвед. почат. вірусного розчину	в % відн. к контр. групі	Ig±σ	в розвед. почат. вірусного розчину	в % відн. к контр. групі	Ig±σ	в розвед. почат. вірусного розчину	в % відн. к контр. групі
Профілактика	1	-	1/825	-	1/825	100 %	-	1/383	216 %	-	1/708	116 %
	2	2,017±0,174	1/208	2,917±0,136	1/215	96,3 %	2,583±0,136	1/261	79,5 %	-	-	-
Лікування	3	2,317±0,186	1/542	2,333±0,108	1/262	207,5 %	2,417±0,152	1/383	142 %	2,583±0,136	1/316	172 %
	4	2,734±0,166	1/562	2,417±0,136	1/316	178 %	2,583±0,136	1/383	147 %	-	-	-
	5	-2,750±0	1/3224	2,500±0,177	1/681	179 %	3,166±0,129	1/1466	64 %	-	-	-
Комплекс	6	-3,088±0,14	1/463	2,833±0,083	1/316	147 %	2,417±0,256	1/361	177 %	2,500±0,174	1/316	147 %
	7	2,666±0,177	1/825	3,166±0,174	1/1466	56,3 %	3,166±0,219	1/1466	56,3 %	-	-	-

Таблиця 4.2

Динаміка загибелі тварин, заражених 1-2 ЛД50 по даних дослідів № 3, 4 і 5

День після зараження	Тваринам ін'єктували		
	0,85 % р-н NaCl	15 % Е-АКК	Триелін 500 АтрЕд/мл
4	-	-	-
5	-	-	-
6	-	-	-
7	1	-	1
8	1	2	2
9	4	2	4
10	6	-	3
11	2	1	3
12	1	1	1
13	-	-	-
14	-	-	1
Із загальної кількості заражених тварин	22	22	24
Вжило на 14-й день після зараження	7	16	9

Таблиця 4.3

Показники препаратів інгібіторів протеаз при експериментальній грипоznій інфекції у мишей, що викликана зараженням 1-2 ЛД50 поданих дослідів № 3, 4 і 5

Показники	Тваринам ін'єктували		
	0,85 % р-н NaCl	15 % Е-АКК	Триелін 500 АтрЕд/мл
n	22	22	24
% летальності М±m t P	68,2 %±10,2 %	27,2 %±9,7 % 3,53 <0,01	62,5 %±10,1 % 0,99 >>0,65
Перевищення в % летальності в контрольній групі над дослідною Різниця в %, при якій різниця не випадкова	-	41 % 22 %	5,7 % 24 %
Коефіцієнт кумулятивної виживаності	0,55	0,81	0,53
Індекс захисту в % по четирихрестовій системі	-	60 % +++	9 % -
Середній інкубаційний період	9,7 днів	9,5 днів	9,9 днів
Критерій χ^2 P	-	5,83 <0,05	0,089 >>0,05
Тест медіани χ^2 P	-	7,96 <0,01	0,784 >>0,05

Таблиця 4.4

Показники ефективності 1 % і 15 % розчинів Е-АКК, що парентерально вводять, при експериментальному грипі у мишей по даних досліді № 8 при констатації на 8-й і 14-й дні після зараження

Показники	Інфікованим тваринам ін'єктували					
	0,85 % р-н NaCl		15 % 1	Е-АКК	Триелін 500 АтрЕд/мл	
n	45		59		40	
	на 8-й день	на 14-й день	на 8-й день	на 14-й день	на 8-й день	на 14-й день
% летальності $M \pm m$ 49 % $\pm 7,6$ % t P	49 % $\pm 7,6$ % - -	79 % $\pm 6,2$ % - -	14 % $\pm 6,1$ % 3,16 <0,01	77,5 % $\pm 9,7$ % 0,22 >>0,05	25 % $\pm 6,9$ % 3,32 <0,05	72 % $\pm 7,1$ % 0,69 >>0,05
Перевищення в % летальності в контрольній групі над дослідною	-	-	31 %	2 %	21 %	69 %
Різниця в %, при якій розбіжності не випадкові	-	-	20 %	15 %	24 %	18 %
Коефіцієнт кумулятивної виживаності	0,77	0,51	0,94	0,62	0,91	0,61
Індекс захисту в % по 4-хрестовій системі	- -	- -	6,15 % +++	1,96 % -	49 % ++	8,25 % -
Середній інкубаційний період	-	8,2 дня	-	8,8 дня	-	9,1 дня
Критерій χ^2	-	-	<0,01	>>0,05	<0,05	>>0,05
Тест медіани χ^2 P	-	-	-	1,76 >0,05	-	2,39 <0,05
Середній інкубаційний період						

Таблиця 4.5

Динаміка загибелі тварин по даних дослідів №№ 3, 4, 5, 8 і 9, заражених дозою, яка є 65-80 мг ЛД-100, і що одержали в ін'єкціях 40-60 мг Е-АКК на добу

День після зараження	Тваринам ін'єктували	
	0,85 % р-н NaCl	15 % Е-АКК
4	3	
5	4	1
6	-	
7	4	1
8	16	4
9	12	8
10	9	11
11	5	10
12	5	5
13		3
14	1	
Із загальної кількості заражених тварин	79	79
Відповідь на 14-й день після зараження	19	93

Таблиця 4.6

Показники ефективності 1 % і 15 % розчинів Е-АКК, що парентерально вводять, при експериментальному грипі у мишей по даних досліді № 8 при констатації на 8-й і 14-й дні після зараження

Показники	Тварин ін'єктували			
	0,85 % р-н NaCl		15-20 % Е-АКК	
n	79		76	
	на 8-й день	на 14-й день	на 8-й день	на 14-й день
% летальності M±m t P	35,5 %±5,4 %	76 %±4,8 %	18,4 %±4,4 % 2,43 <0,05	56,8 %±7 % 0,22 <0,01
Перевищення в % летальності в контрольній групі над дослідною	-	-	17,10 %	19,40 %
Різниця в %, при якій розбіжності не випадкові	-	-	14 %	15 %
Коефіцієнт кумулятивної виживаності	0,85	0,56	0,94	0,70
Індекс захисту в % по 4-хрестовій системі	-	-	48,2 %	25,6 %
Середній інкубаційний період	-	9,7 дня	-	9,1 дня
Критерій χ^2 P	-	-	5,7 <0,05	4,85 <0,05
Тест медіани χ^2 P	-	-	-	4,39 <0,05

Проведений комплекс досліджень послужив серйозною підставою логічного продовження робіт, направлених на клінічне застосування інгібіторів протеолітичних ферментів в клініці і, зокрема найбільш вивченого офіціального препарату - Е-амінокапронової кислоти, що з'явилося логічним завершенням і продовженням експериментальних досліджень, виконаних на моделі заражених вірусом грипу клітин ХАО і заражених вірусом грипу тварин.

Згідно плану подальших наукових досліджень, отримавши експериментальні докази гальмування репродукції патогенного адаптованого до тварин штаму вірусу грипу АО/32 при парентеральному введенні Е-АКК -інгібітору трипсину і трипсиноподібних ферментів білим мишам, зараженим цим вірусом, ми приступили до організації, обґрунтовування і планування комплексних клінічних досліджень застосування інгібіторів протеолітичних ферментів для профілактики і лікування грипу і гострих респіраторних вірусних захворювань в клініці, для чого, з одного боку була вибрана дитяча захворюваність тобто найсприйнятливішого контингенту населення до грипу і гострим респіраторним вірусним інфекціям, так званим грипоподібним захворюванням. А, з другого боку, були відібрані представники тих інгібіторів протеолітичних ферментів, які були добре відомі і давно застосовуються в клініці, а саме Е-амінокапронова кислота, контрикал, апротинін /гордокс/. Особливу увагу, як ми вже відзначили, надали Е-амінокапронової кислоті, як самому вивченому інгібітору протеаз в клініці.

Зважаючи на всю складність вивчення клінічного матеріалу, що визначається різноманітністю симптоматики і тяжкості клінічної течії, а також одночасного використання багатого арсеналу симптоматичних засобів лікування грипу і ОРВЗ у дітей, ми привернули для роботи лікарів-педіатрів ряду лікувальних закладів.

Для цього організаційно були укладені договори про сумісну творчу роботу з кафедрою дитячих хвороб Одеського медичного інституту ім. М.І. Пирогова і Херсонською дитячою інфекційною лікарнею /копії додаються/.

Для проведення клінічних спостережень і досліджень були розроблені методичні рекомендації, в яких були вказані дозування і спосіб застосування інгібіторів протеаз і, зокрема, Е-амінокапронової кислоти /копії також додаються/.

До часу оформлення нами заявки на передбачуване відкриття "Явище гальмування репродукції міковірусів специфічними інгібіторами протеолітичних ферментів" (заявка від 3-16 червня 1977 г. за № 32 ОТ- 9602) були отримані клінічні результати з Херсонської міської інфекційної лікарні (головний лікар Горбачевський Г.І.) і вони були включені в заявку на передбачуване відкриття.

Приклад здійснення 3

10 (Клінічний матеріал отриманий в Херсонській міській інфекційній лікарні лікарями Горбачевським Г.І., Мосуною Е.З., Поповою Г.С. і Баумерт Г.С. в 1977 році)

Використовування Е-АКК в переліку засобів, які були застосовані для лікування грипу у дітей сприяло нормалізації температури, пом'якшенню і зникненню симптомів захворювання при токсикозі на 2-3 дні раніше, ніж у хворих, що не одержували препарат. У хворих, лікованих Е-амінокапроновою кислотою, не з'являлися свіжі геморагічні елементи і рідше, ніж в контрольній групі, розвивалися ускладнення у вигляді дрібноточкової пневмонії, катарального і гнійного отитів.

Використовування контрикалу в комплексі з антибактеріальною терапією приводило до зворотного розвитку запального процесу у верхніх дихальних шляхах і легенях, без розплавлення легеневої тканини.

Час перебування дітей в стаціонарі у віці до року скорочувалося на 6 днів, а у дітей у віці до 1-3 років - на 2 дні.

Нижче приводиться дещо детальна характеристика клінічного матеріалу по нозологічних одиницях, віку, по ступеня тяжкості захворювання і по загальному числу хворих на грип і ОРЗ, а також про дозування вживаної Е-амінокапронової кислоти і контрикалу.

Одержані нами в 1977 році клінічні дані свідчать про доцільність включення інгібіторів протеолітичних ферментів Е-АКК і контрикалу в комплекс засобів для лікування грипу і ОРЗ.

Використання інгібіторів протеолізу (контрикал, Е-АКК) при лікуванні хворих з ОРЗ, ОРЗ+стафілокок

30 1. Загальна кількість хворих, які одержували інгібітори протеолізу, 51 чоловік, 21 хворий одержав амінокапронову кислоту; 20 чоловік одержали контрикал з Е-АКК, 10 чоловік отримали в комплексному лікуванні контрикал. Крім того, хворі одержали в комплексному лікуванні антибактеріальну і патогенетичну терапію.

35 2. Амінокапроновою кислотою застосовувалася в дозах з розрахунку 0,5 грам на 1 кг ваги хворого на добу, ½ дози вводилося внутрішньовенно 2 рази на добу крапельно, впродовж 5-7 днів.

В легких випадках час лікування скорочувався до 2-3 днів.

40 Контрикал вводився при ускладненнях (при деструкції легенів, при токсикоінфекційному шоці (від 5 тис. од. до 40 тис. од. з розрахунку 2-3 тис. од. на 1 кг ваги), протягом 3-5 діб, внутрішньовенно крапельно на 10 % розчину глюкози.

3. По віку хворі розподілялися таким чином:

0-3 міс.	12
3-6 міс.	20
з 0,6-1 рік	11
старше за 1 рік	6
дорослі	2.

4. По ступеню тяжкості хворі розподілялися:

Легкий перебіг	1
хворі середньої тяжкості	2
важкий перебіг	48.

5. По нозологічних одиницях

грип, пневмонія	12	{ стафілокок, сепсис - 2 стафілокок, пневмонія м/с - 20 абсцедивна - 5.
парагрип, пневмонія	7	
ОРЗ/ДЗ, аденовіруси і інші	5	
грип + стафілокок	27	

45 В подальшому, в період з 1977 по 1980-1984 рр. проводилося накопичення клінічних спостережень, спланованих згідно з науковою темою НДР "Дослідити ефективність сумісного використання інгібіторів протеолітичних ферментів і гамма-глобуліну і його дериватів при грипі на основі сучасних уявлень про механізм репродукції вірусу і патогенезу цієї інфекції і

розробити рекомендації по комплексному способі профілактики і лікування грипу" з деякими змінами цієї теми непринципового характеру (див. звіт по НДР за 1977-1980 рр. з № державної реєстрації 770041992 і інв. номер Б935494). Оформлене в рамках теми НДР Інформаційний лист "Лікування грипу і його ускладнень у дітей" Одеса - 1980 р. з розширенням учасників клінічних спостережень і підприємств-виконавців впевнено підтверджує всі основні висновки по наведеній корисній моделі, зокрема:

1. В період 1972-1980 рр. був отриманий експериментальний матеріал, який став основою корисної моделі, підтверджуючий гальмування репродукції вірусу грипу в культурі клітин ХАО інгібіторами протеолітичних ферментів Е-амінокапронової кислоти, контрикалом.

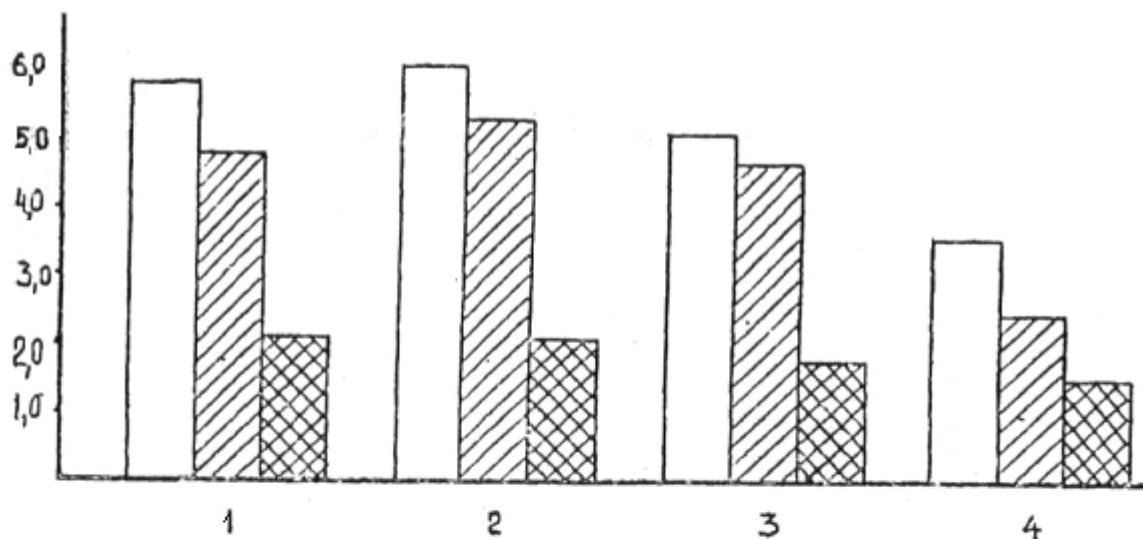
2. Парентеральне введення універсального інгібітору протеаз Е-АКК має лікувальний ефект на білих мишей, заражених адаптованим патогенним штамом вірусу грипу АО/32 при використуванні Е-АКК в гострий період смертельної вірусної інфекції у мишей.

3. Результати клінічних досліджень в період 1976-1977 рр. підтверджують доцільність застосування в клініці для лікування грипу і вірусних захворювань вірусної природи (ОРВІ) інгібіторів протеолітичних ферментів Е-АКК і контрикалу і служать серйозним обґрунтуванням етіопатогенетичного лікування грипу і вірусних ОРВІ у людей.

4. Розширені клінічні спостереження, отримані іншими дослідниками в різних лікувальних закладах на великому клінічному матеріалі, підтверджують обґрунтованість нового способу лікування грипу, розробленого автором цієї корисної моделі.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб лікування грипу, при якому застосовують інгібітори протеолітичних ферментів.



Фіг. 1

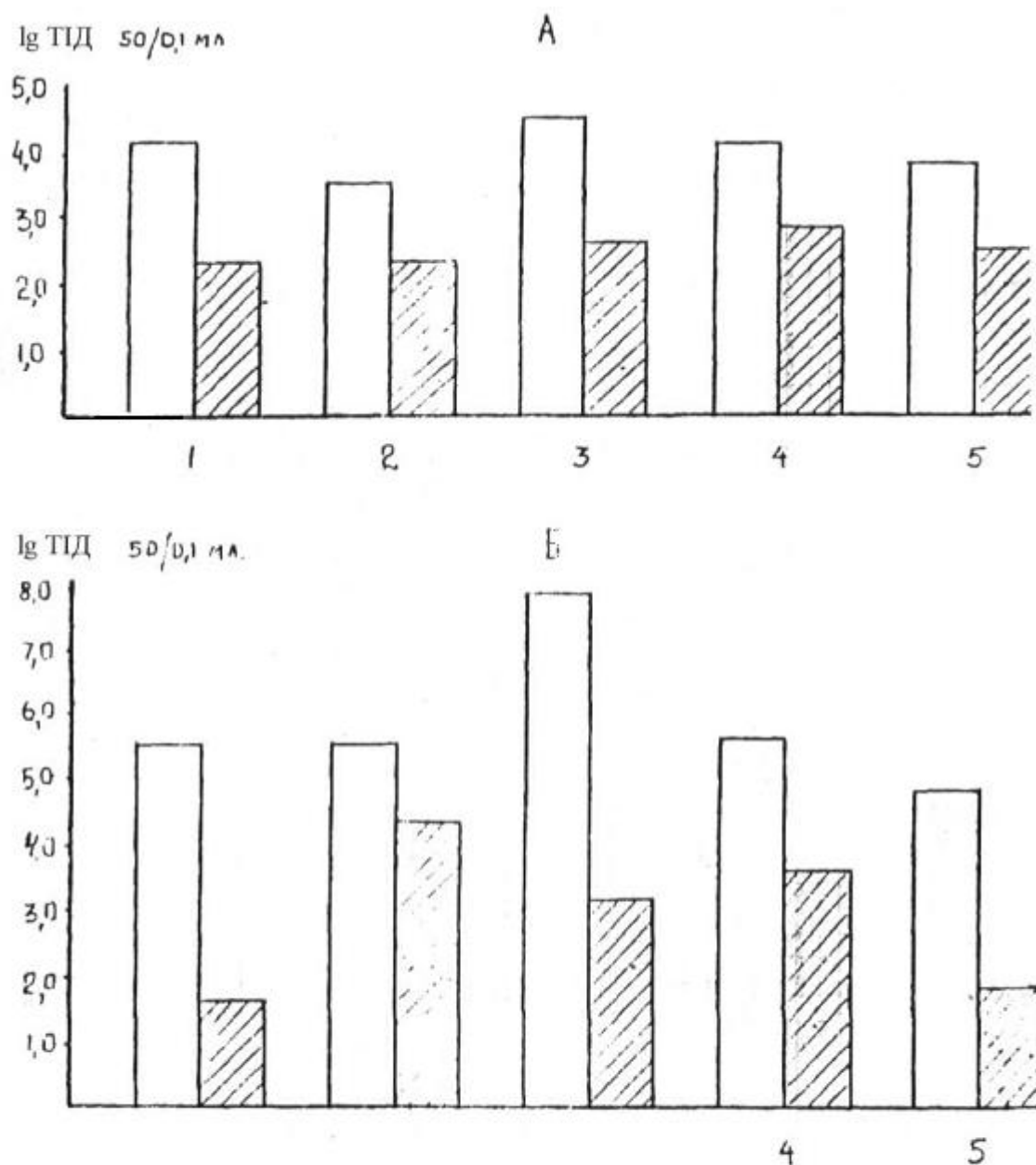
Вплив Е-аминокапронової кислоти на врожай вірусу грипу серотипів А і В

□ - проба не містить Е-АКК (контроль)

▨ - содержание Е-АКК в пробі 10

▩ або 30 мг/мл

1-4 - віруси грипу штамів АО/32/Н0Н1/, А2/Вікторія/35/72/Н3К2/, А2/ПортЧалмерс/1//Н3Н2/ і В/Японія відповідно

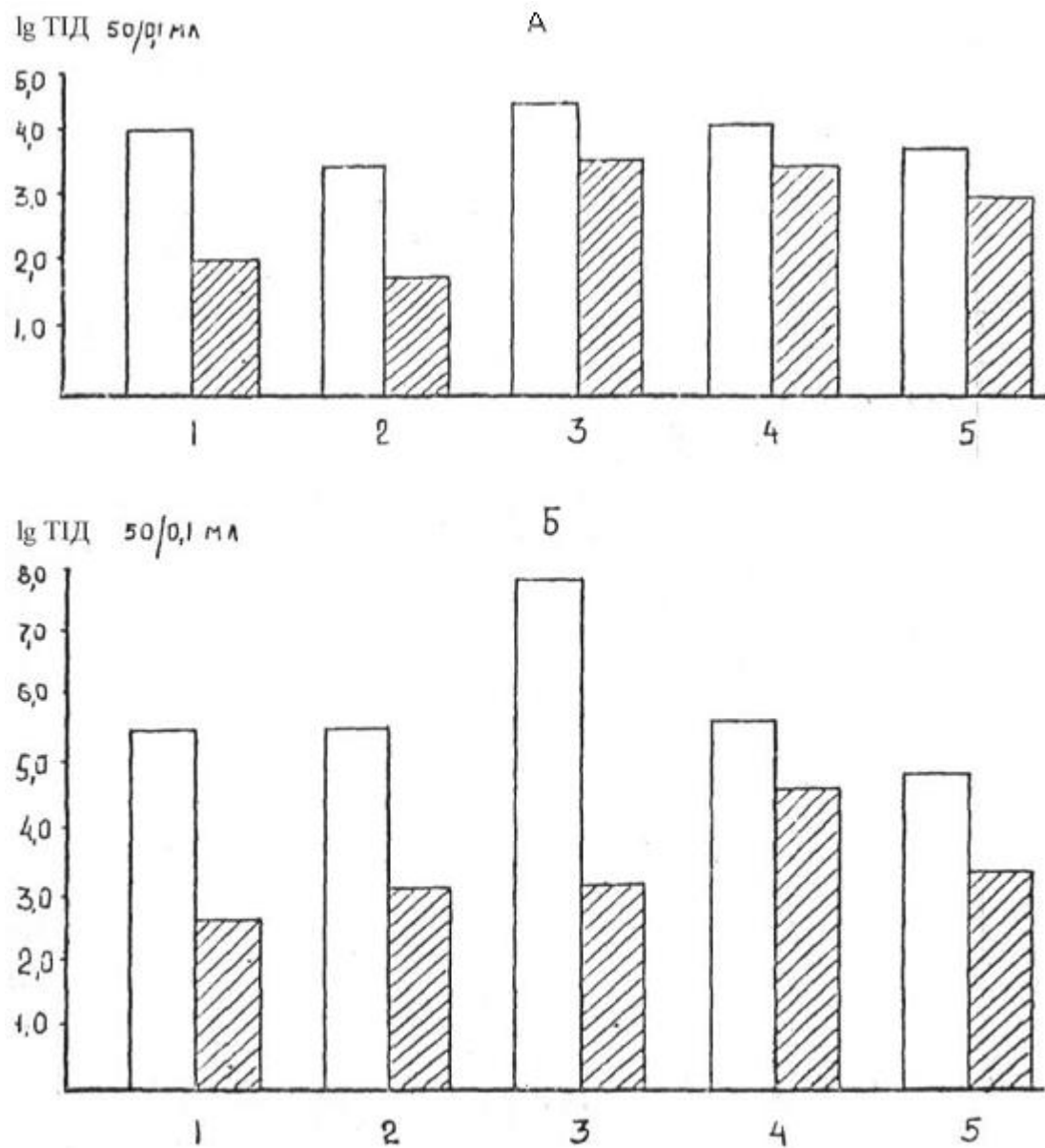


Фіг. 2

Противірусна дія Е-амінокапронової кислоти (30 мг/мл) в культурі ХАО, зараженої вірусом грипу АО/32

1

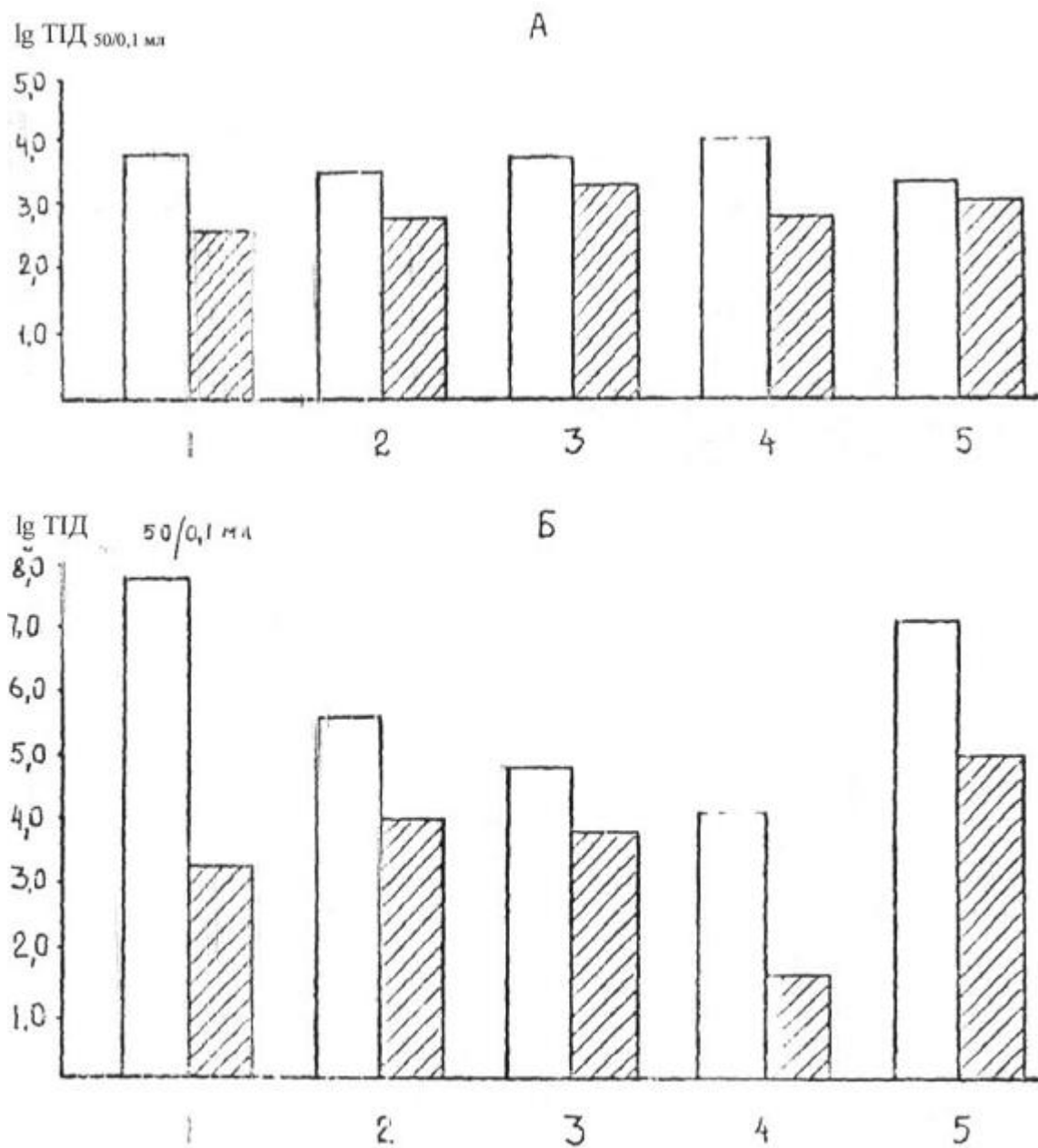
Вірус репродуцировался впродовж 8 (А) або 24 годин (В) при заражаючій дозі $1 \cdot 10^5$ - $1 \cdot 10^6$ або $1 \cdot 10^3$ ЄП_{50/мл} відповідно в присутності перпарата ☐ або без нього ☒ ; 1-5 - номери дослідів



Фіг. 3

Противірусна дія соєвого інгібітора трипсина Кунітця (2 мг/мл) в культурі ХАО, зараженої вірусом грипу АО/32

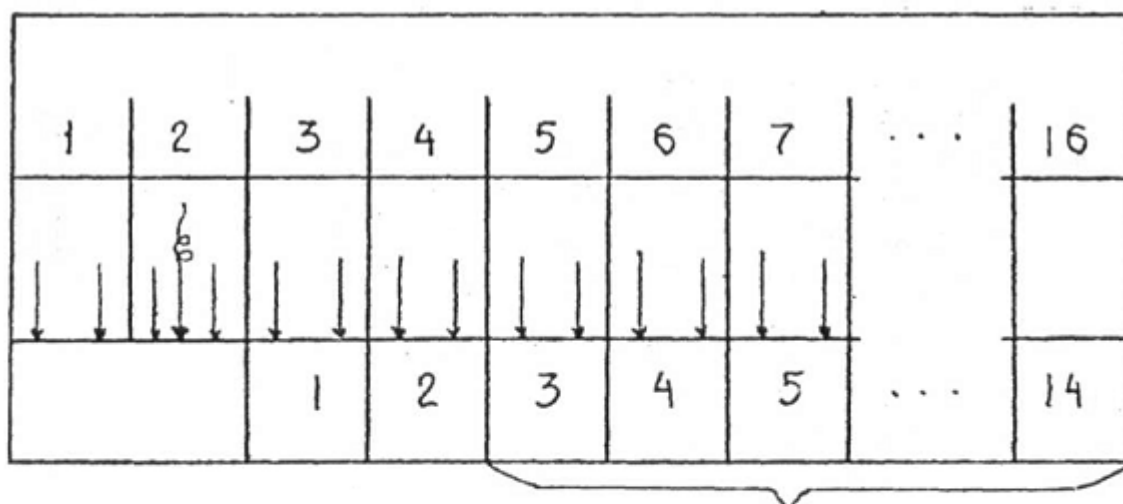
Умовні позначення - як на Фіг. 2



Фіг. 4

Противірусна дія констрікала (500 АтрЕ/мл) в культурі ХАО, зараженої вірусом грипа А0/32

Умови позначення - як на Фіг. 2

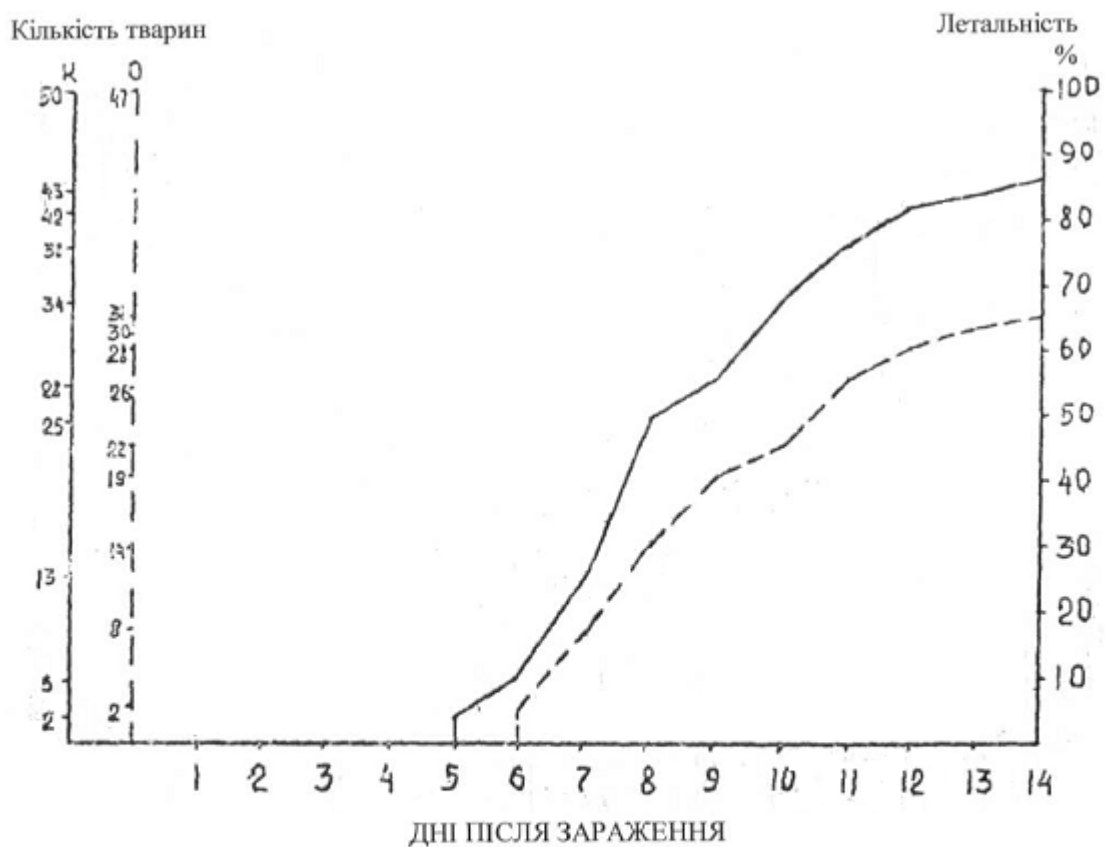


Фіг. 5

Схема випробувань протигрипозної дії інгібіторів протеолітичних ферментів

Умовні позначення:

підшкірне введення тваринам розчину дослідного інгібітора протеаз (дослід) або 0,2 мл 0,85 % розчину NaCl; зараження мишей вірусом грипу.



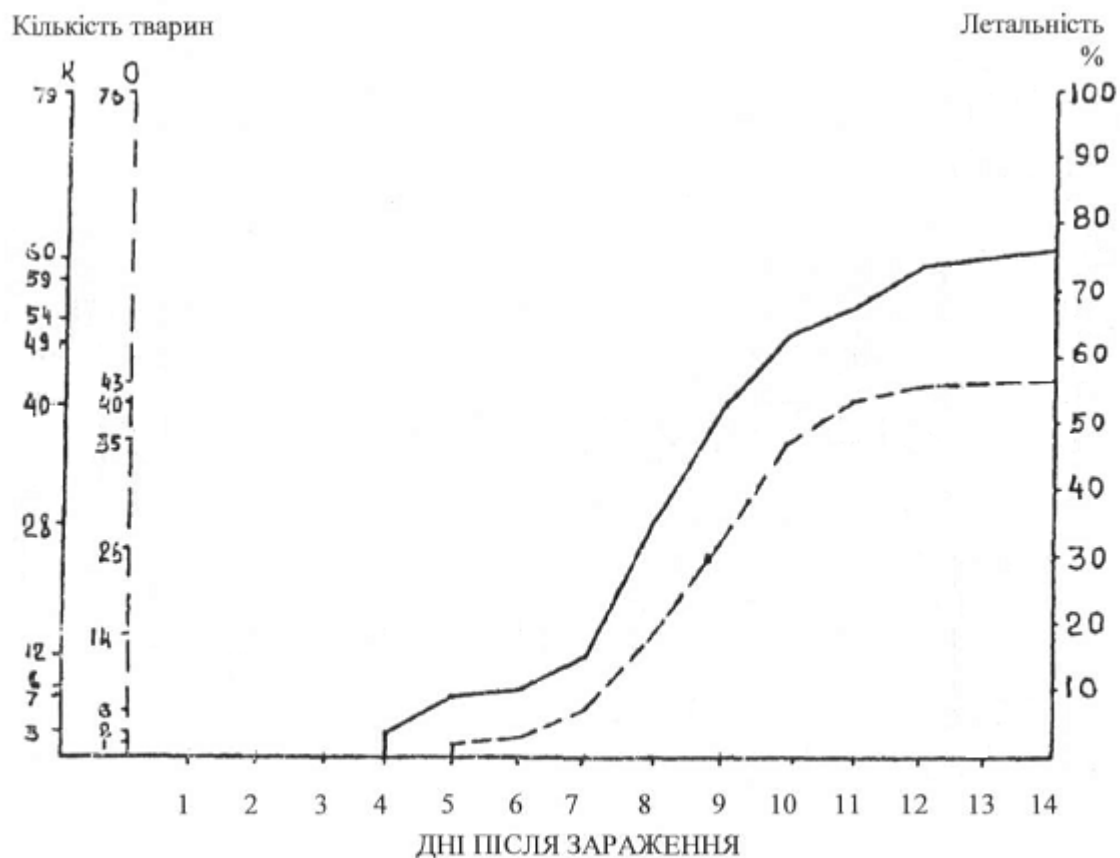
Фіг. 6

Вплив Е-АКК в дозі 40 мг/миш на добу на динаміку гибелі тварин від грипу
Миші заражені аерозольно вірусом грипу Ао/32 (H1N1)

Умовні позначення:

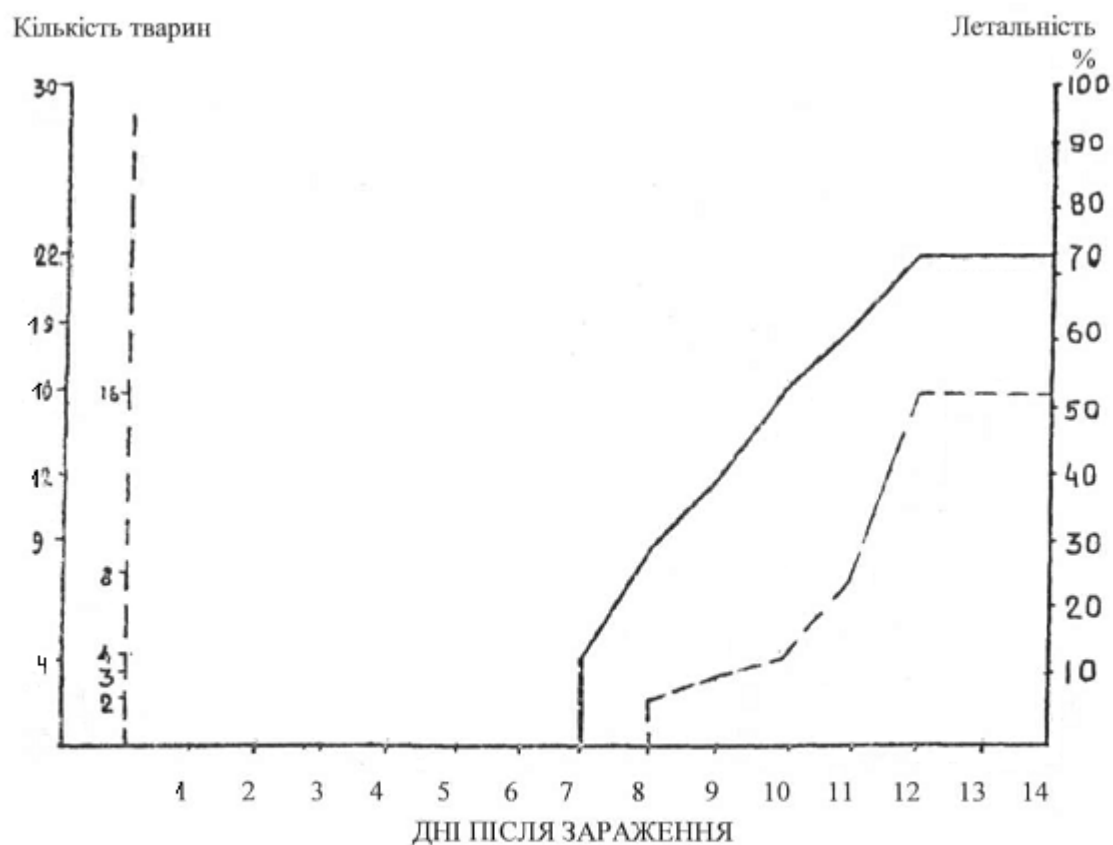
К — контрольна група

О — дослідна група



Фіг. 7

Вплив Е-АКК в дозі 60-80 мг/миш на добу на динаміку гибелі тварин від грипу
 Миші заражені аерозольно вірусом грипу АО/32 (HON1)
 Умовні позначення як на Фіг. 6



Фіг. 8

Вплив Е-АКК в дозі 60 мг/миш на добу на динамку гибелі тварин від грипу
 Миші заражені аерозольно вірусом грипу А2/Вікторія/72 (H3N2)
 Умовні позначення як на Фіг. 6, 7.

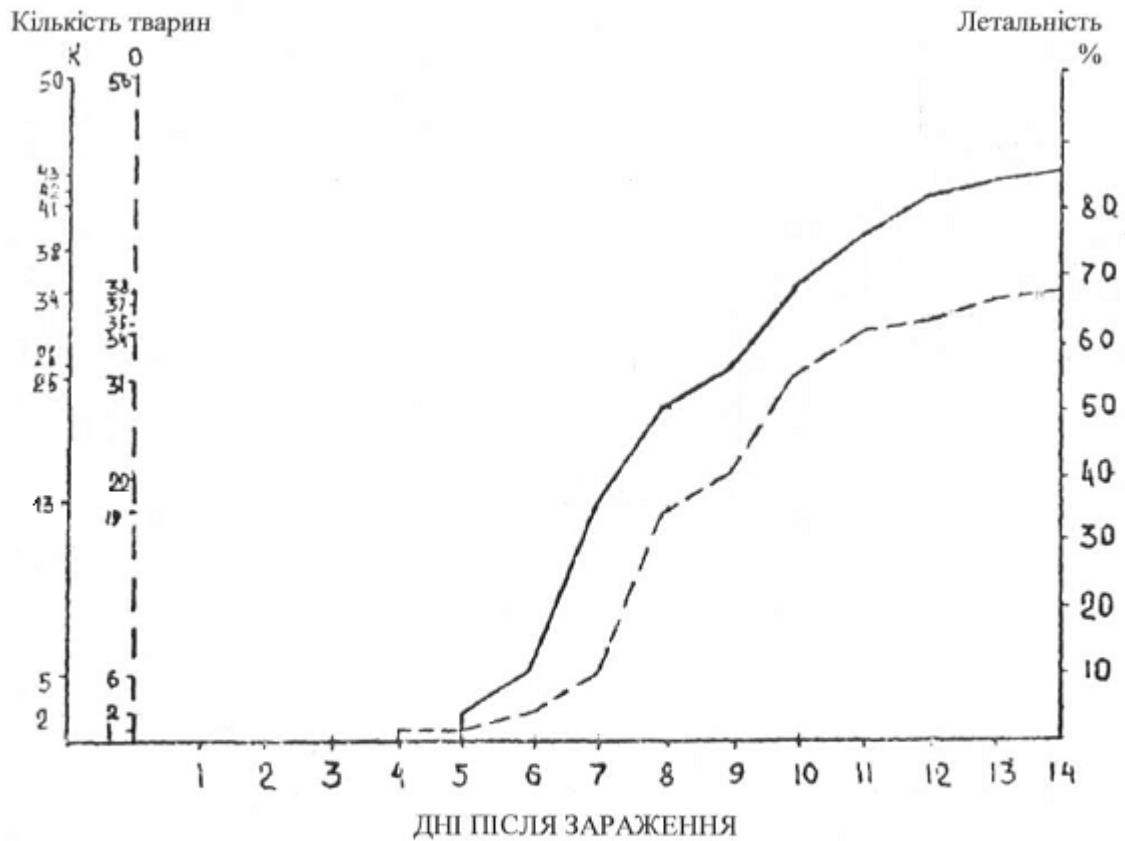


Fig. 9

Вплив тразилолу в дозі 100 КІЄ/миша на добу на динаміку гибелі тварин від грипу
 Миші заражені аерозольно вірусом грипу АО/32 (H0N1)
 Умовні позначення як на Фіг. 6, 7, 8