



2022 Том / Volume X

№ 5

Научно-практический журнал
Scientific and Practical Journal

ISSN 2307-9266
e-ISSN 2413-2241

ФАРМАЦИЯ И ФАРМАКОЛОГИЯ

PHARMACY & PHARMACOLOGY



Обзоры, лекции
Reviews, Lectures

Фармакогнозия, ботаника
Pharmacognosy, Botany

**Фармацевтическая технология
и биотехнология**
Pharmaceutical Technology
and Biotechnology

**Фармацевтическая
и токсикологическая химия**
Pharmaceutical and Toxicological
Chemistry

**Фармакология и клиническая
фармакология**
Pharmacology and Clinical
Pharmacology

**Информационные технологии
в фармации**
Information Technologies in Pharmacy

**Организация и экономика
фармацевтического дела**
Organization and Economy
of Pharmacy

**Экономика и менеджмент
медицины**
Economy and Management
of Medicine

Фармацевтическое образование
Pharmaceutical Education

**Дискуссии, рецензии, юбилеи,
научные школы, история
фармации и фармакологии**
Discussions, Referee Reports,
Anniversaries, Schools
of Thought, History
of Pharmacy and
Pharmacology

Научно-практический журнал

ФАРМАЦИЯ И ФАРМАКОЛОГИЯ

Периодичность 6 номеров в год

Том 10, Выпуск 5, 2022

Свидетельство регистрации СМИ:
ПИ №ФС77–67428 от 13.10.2016 г.

ISSN 2307-9266 e-ISSN 2413-2241

Главный редактор

Петров Владимир Иванович академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, г. Волгоград, Россия

Заместители главного редактора

Озеров Александр Александрович доктор химических наук, профессор, г. Волгоград, Россия

Черников Максим Валентинович доктор медицинских наук, доцент, г. Пятигорск, Россия

Редакционная коллегия

Фармакогнозия, ботаника

Куркин Владимир Александрович доктор фармацевтических наук, профессор, г. Самара, Россия

Зилфикаров Ифрат Назимович профессор РАН, доктор фармацевтических наук, г. Москва, Россия

Фармацевтическая технология и биотехнология

Саканян Елена Ивановна доктор фармацевтических наук, профессор, г. Москва, Россия

Фармацевтическая и токсикологическая химия / Информационные технологии в фармации

Вавер Ивона PhD, профессор, г. Варшава, Польша

Фармакология и клиническая фармакология

Ханферьян Роман Авакович доктор медицинских наук, профессор, г. Москва, Россия

Буске Паскаль MD, профессор, г. Страсбург, Франция

Кампизи Коррадино профессор, MD, PhD, г. Генуя, Италия

Организация и экономика фармацевтического дела / Экономика и менеджмент медицины

Наркевич Игорь Анатольевич доктор фармацевтических наук, профессор, г. Санкт-Петербург, Россия

Егорова Светлана Николаевна доктор фармацевтических наук, профессор, г. Казань, Россия

Сомасундарам Субраманиан MD, Россия/Индия

Статьи, представленные в разделы **Обзоры, лекции / Фармацевтическое образование / Дискуссии, рецензии, юбилеи, научные школы, история фармации и фармакологии** могут быть рассмотрены любыми членами редакционной коллегии.

Ответственный секретарь: Корянова Ксения Николаевна, кандидат фармацевтических наук, г. Пятигорск, Россия

Корректор: Мищенко Екатерина Сергеевна, кандидат фармацевтических наук, г. Пятигорск, Россия

Переводчик: Давыденко Любовь Григорьевна, кандидат филологических наук, доцент, г. Пятигорск, Россия

Технический редактор: Доценко Марина Александровна, г. Пятигорск, Россия

Учредитель: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России.

400131, Россия, г. Волгоград, площадь Павших Борцов, д. 1

Адрес издательства: 357532, г. Пятигорск, пр-кт Калинина, 11.

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России

Телефон: +7 (8793) 32-44-74. E-mail: pharmjournal@mail.ru

www.pharmpharm.ru

Объединенный каталог. Пресса России. Газеты и журналы. Индекс 94183

Формат А4, тираж 1000 экз. Цена свободная.

Журнал «Фармация и фармакология» включен в перечень рецензируемых научных изданий, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, и в соответствии с пунктом 5 правил формирования перечня рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук (Перечень ВАК), Scopus, Web of Science (ESCI), РИНЦ, eLibrary, ВИНТИ, РГБ, КиберЛенинка, Соционет, EMBASE, Chemical Abstracts (CAS), Directory of Open Access Journals (DOAJ), EBSCO Discovery Service, RNMJ, University of CAMBRIDGE, Ulrich'sWeb, Google Scholar, Biefeld Academic Search Engine (BASE), Directory of Open Access Scholarly Resources (ROAD), Research Bible, Open Archives Initiative, Academic Keys, JournalTOCs, WorldCat, OpenAIRE, University of Oxford, The British Library, Universitait Gent, Université de Montréal, University of Saskatchewan.

Отпечатано в соответствии с предоставленными материалами в ООО «Амирит»,
410004, г. Саратов, ул. Чернышевского, 88.

© ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, 2022
© Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России, 2022
© Авторы, 2022

Editor-in-Chief

Vladimir I. Petrov Academician RAS, Doctor of Science (Medicine), Professor, Volgograd, Russia

Deputy Editor-in-Chief

Aleksandr A. Ozerov Doctor of Science (Chemistry), Professor, Volgograd, Russia

Maxim V. Chernikov Doctor of Science (Medicine), Associate Professor, Pyatigorsk, Russia

Editorial Board

Pharmacognosy, Botany

Vladimir A. Kurkin Doctor of Science (Pharmacy), Professor, Samara, Russia

Ifrat N. Zilfikarov Doctor of Science (Pharmacy), Professor of the RAS, Moscow, Russia

Pharmaceutical Technology and Biotechnology

Elena I. Sakanyan Doctor of Science (Pharmacy), Professor, Moscow, Russia

Pharmaceutical and Toxicological Chemistry / Information Technologies in Pharmacy

Iwona Wawer PhD, Professor, Warsaw (Poland)

Pharmacology and Clinical Pharmacology

Roman A. Khanfer`yan Doctor of Science (Medicine), Professor, Moscow, Russia

Pascal Bousquet MD, Doctor of Science? Professor, Strasbourg, France

Campisi Corradino Professor, MD, PhD, Genoa, Italy

Organization and Economy of Pharmacy / Economy and Management of Medicine

Igor A. Narkevich Doctor of Science (Pharmacy), Professor, Saint-Petersburg, Russia

Svetlana. N. Egorova Doctor of Science (Pharmacy), Professor, Kasan, Russia

Somasundaram Subramanian MD, Russia/India

Manuscripts presented in sections **Reviews, Lectures / Pharmaceutical Education / Brief Reports / Discussions, Referee Reports, Anniversaries, School of Thought, History of Pharmacy and Pharmacology** can be considered by any members of the editorial board.

Executive Editor: Koryanova Ksenia N., Candidate of Sciences (Pharmacy), Pyatigorsk, Russia

Proofreader: Mischenko Ekaterina S., Candidate of Sciences (Pharmacy), Pyatigorsk, Russia

Translator: Davydenko Lubov G., Candidate of Sciences (Philology), Associate Professor, Pyatigorsk, Russia

Technical editor: Dotsenko Marina A., Pyatigorsk, Russia

Founder: Volgograd State Medical University, 1, Pavshikh Bortsov Sq., Volgograd, Russia, 400131

Editors office address: 11, Kalinin ave., Pyatigorsk, Russia, 357532

Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University

Phone number: +7(8793) 32-44-74. E-mail: pharmjournal@mail.ru

www.pharmpharm.ru

Union catalogue. Russian Press / Newspapers and journals. Code 94183

A4 size, 1000 issues circulation. Price free

Journal "Pharmacy & Pharmacology" is recommended International Committee Of Medical Journal Editors and included in Higher Attestation Commission, Scopus, Web of Science (ESCI), Russian citation database, eLibrary, ARISTI (All-Russian Institute of Scientific and Technical Information), RSL (Russian State Library), CyberLeninka, Socionet, EMBASE, Chemical Abstracts (CAS), Directory of Open Access Journals (DOAJ), EBSCO Discovery Service, RNMJ, University of CAMBRIDGE, Ulrich'sWeb, Google Scholar, Biefeld Academic Search Engine (BASE), Directory of Open Access Scholarly Resources (ROAD), Research Bible, Open Archives Initiative, Academic Keys, JournalTOCs, WorldCat, OpenAIRE, University of Oxford, The British Library, Universitait Gent, Université de Montréal, University of Saskatchewan.

Printed in the LLC "Amirit" in accord with provided materials, 410004, Saratov, 88, Chernishevsky Str.

© Volgograd State Medical University, 2022

© Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute –
branch of Volgograd State Medical University, 2022

©Authors, 2022

СОДЕРЖАНИЕ / CONTENTS

ОБЗОРЫ / REVIEWS

<i>В.Н. Шишкова, Я.Р. Нарциссов, В.Ю. Титова, Е.В. Шешегова</i> МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ ПРИМЕНЕНИЕ КОМБИНАЦИИ ГЛИЦИНА И ЦИНКА В КОРРЕКЦИИ ОСНОВНЫХ ПРОЯВЛЕНИЙ СТРЕССА И ТРЕВОГИ404	<i>V.N. Shishkova, Y.R. Nartsissov, V.Y. Titova, E.V. Sheshegova</i> MOLECULAR MECHANISMS DEFINING APPLICATION OF GLYCINE AND ZINC COMBINATION IN CORRECTION OF STRESS AND ANXIETY MAIN MANIFESTATIONS404
<i>М.В. Покровский, М.В. Корокин, А.М. Краюшкина, Н.С. Жунусов, К.Н. Лапин, М.О. Солдатова, Е.А. Кузьмин, О.С. Гудырев, И.С. Кочкарлова, А.В. Дейкин</i> КОНВЕНЦИОНАЛЬНЫЕ ПОДХОДЫ К ТЕРАПИИ НАСЛЕДСТВЕННЫХ МИОПАТИЙ416	<i>M.V. Pokrovsky, M.V. Korokin, A.M. Krayushkina, N.S. Zhunusov, K.N. Lapin, M.O. Soldatova, E.A. Kuzmin, O.S. Gudyrev, I.S. Kochkarova, A.V. Deikin</i> CONVENTIONAL APPROACHES TO THE THERAPY OF HEREDITARY MYOPATHIES416
<i>Д.Н. Земсков, Л.А. Балыкова, О.А. Радаева, К.Я. Заславская, Е.В. Семенова, М.В. Ширманкина, К.Н. Корянова</i> АКТУАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ ЭТИОТРОПНОЙ ТЕРАПИИ COVID-19432	<i>D.N. Zemskov, L.A. Balykova, O.A. Radaeva, K.Ya. Zaslavskaya, E.V. Semenova, M.V. Shirmankina, K.N. Koryanova</i> CURRENT ASPECTS OF ETIOTROPIC COVID-19 THERAPY432

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ / RESEARCH ARTICLE

Организация и экономика фармацевтического дела / Organization and Economy of Pharmacy

<i>И.К. Петрухина, П.А. Лебедев, И.И. Сиротко, Т.К. Рязанова, Е.П. Гладунова, А.А. Гаранин</i> ОСОБЕННОСТИ ПОТРЕБЛЕНИЯ ПРОТИВОВИРУСНЫХ И АНТИМИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ СИСТЕМНОГО ДЕЙСТВИЯ В ПЕРИОД РАСПРОСТРАНЕНИЯ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ В РОЗНИЧНОМ СЕКТОРЕ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО РЫНКА САМАРСКОЙ ОБЛАСТИ.....446	<i>I.K. Petrukhina, P.A. Lebedev, I.I. Sirotko, T.K. Ryazanova, E.P. Gladunova, A.A. Gararin</i> CONSUMPTION DETAILS OF SYSTEMICALLY ACTING ANTIVIRAL AND ANTIMICROBIAL PREPARATIONS IN PERIOD OF NOVEL CORONAVIRUS INFECTION SPREAD IN RETAIL SECTOR OF SAMARA REGION PHARMACEUTICAL MARKET446
--	---

Фармакология и клиническая фармакология / Pharmacology and Clinical Pharmacology

<i>Е.В. Тавлужева, Е.В. Зернова, М.П. Кутепова, Н.Э. Костина, В.С. Лесина, Д.Р. Моулд, К. Ито, А.В. Зинченко, А.Н. Долгорукова, М.В. Никольская, М.С. Лемак, О.В. Филон, М.Ю. Самсонов</i> ОСОБЕННОСТИ ФАРМАКОКИНЕТИКИ ОЛОКИЗУМАБА У ПАЦИЕНТОВ С НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ COVID-19.....460	<i>E.V. Tavlueva, E.V. Zernova, M.P. Kutepova, N.E. Kostina, V.S. Lesina, D.R. Mould, K. Ito, A.V. Zinchenko, A.N. Dolgorukova, M.V. Nikolskaya, M.C. Lemak, O.V. Filon, M.Yu. Samsonov</i> CHARACTERISTICS OF OLOKIZUMAB PHARMACOKINETICS IN PATIENTS WITH NOVEL CORONAVIRUS INFECTION COVID-19460
<i>Г.Г. Шимица, А.В. Батенева, Е.С. Цыпленкова, С.Г. Гамалей, Т.И. Есина, Е.А. Волосникова, Е.Д. Даниленко</i> ГЕМОСТИМУЛИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА КОНЪЮГАТОВ ГРАНУЛОЦИТАРНО-МАКРОФАГАЛЬНОГО КОЛОНИЕСТИМУЛИРУЮЩЕГО ФАКТОРА С АЛЕНДРОНОВОЙ КИСЛОТЫ472	<i>G.G. Shimina, A.V. Bateneva, E.S. Tsyplenkova, S.G. Gamaley, T.I. Esina, E.A. Volosnikova, E.D. Danilenko</i> HEMOSTIMULATING PROPERTIES OF THE CONJUGATES OF GRANULOCYTE-MACROPHAGE COLONY STIMULATING FACTOR WITH ALENDRONIC ACID.....472
<i>М.В. Корокин, Е.В. Кузубова, А.И. Радченко, Р.В. Деев, И.А. Яковлев, А.В. Дейкин, Н.С. Жунусов, А.М. Краюшкина, В.М. Покровский, О.А. Пученкова, К.Д. Чапров, Н.В. Екимова, С.Н. Бардаков, О.Н. Чернова, А.М. Емелин, И.С. Лимаев</i> МЫШИ B6.A-DYSF ^{PRMD} /GENEJ КАК ГЕНЕТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ДИСФЕРЛИНОПАТИИ483	<i>M.V. Korokin, E.V. Kuzubova, A.I. Radchenko, R.V. Deev, I.A. Yakovlev, Deikin A.V., N.S. Zhunusov, A.M. Krayushkina, V.M. Pokrovsky, O.A. Puchenkova, K.D. Chaprov, N.V. Ekimova, S.N. Bardakov, O.N. Chernova, A.M. Emelin, I.S. Limaev</i> B6.A-DYSF ^{PRMD} /GENEJ MICE AS A GENETIC MODEL OF DYSFERLINOPATHY483

УДК 615.035.1+615.21



МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ ПРИМЕНЕНИЕ КОМБИНАЦИИ ГЛИЦИНА И ЦИНКА В КОРРЕКЦИИ ОСНОВНЫХ ПРОЯВЛЕНИЙ СТРЕССА И ТРЕВОГИ

В.Н. Шишкова^{1,2}, Я.Р. Нарциссов^{3,4}, В.Ю. Титова³, Е.В. Шешегова³

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 101990, Россия, г. Москва, Петроверигский пер., д. 10, стр. 3

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 127437, Россия, г. Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1

³ Научно-исследовательский институт цитохимии и молекулярной фармакологии, 115404, Россия, г. Москва, ул. 6-я Радиальная, д. 24, стр. 14

⁴ Группа биомедицинских исследований (BiDiPharma GmbH), 22962, Германия, Зик, Бюльтбек, 5

E-mail: yarosl@biotic.dol.ru

Получена 10.09.2022

После рецензирования 25.10.2022

Принята к печати 30.10.2022

Цель. Работа посвящена системному анализу молекулярных механизмов, определяющих возможность комбинированного использования аминокислоты глицин и соединений цинка для лечения пациентов с проявлениями стресса и тревоги.

Материалы и методы. В качестве инструментов проведения исследования использовались информационно-поисковые (Scopus, PubMed) и библиотечные (eLibrary) базы данных. В ряде случаев для семантического поиска использовалось приложение ResearchGate. В работе осуществлялся анализ и обобщение научной литературы по теме исследования, охватывающей период с 2000 по настоящее время.

Результаты. Показано, что аминокислота глицин, наравне с гамма-аминомасляной кислотой (ГАМК) является ключевым нейромедиатором, регулирующим процессы физиологического торможения в центральной нервной системе (ЦНС) путем увеличения трансмембранной проводимости в специфических гетеропентамерных лигандзависимых хлорных каналах. Введение ионов цинка способно потенцировать открытие данных рецепторов путем увеличения их сродства к глицину, в результате чего происходит усиление процессов торможения в нейронах ЦНС. Восполнение сочетанного дефицита глицина и цинка является важным элементом коррекции постстрессорной дисфункции ЦНС. Сбалансированное потребление цинка и глицина имеет важное значение для большинства людей, ежедневно испытывающих последствия многочисленных стрессов и находящихся в тревожном состоянии. Особенно полезна данная комбинация для лиц, испытывающих состояние хронического психоэмоционального напряжения и дезадаптации, в том числе имеющих сложности с засыпанием.

Заключение. Сбалансированное поддержание концентрации цинка и глицина в организме здорового человека приводит к развитию стойкого противотревожного эффекта, который сопровождается нормализацией ритма сон-бодрствование, что дает возможность полноценного отдыха без потерь работоспособности после пробуждения.

Ключевые слова: глицин; цинк; анксиолитические средства; торможение; тревожные состояния

Список сокращений: ГАМК – гамма-аминомасляная кислота; rLGICs – гетеропентомерные лиганд-зависимые хлорные каналы; ЦНС – центральная нервная система; GlyR – глициновый рецептор; MT – металлотионеины; ROS – реактивные формы кислорода; RNS – реактивные формы азота; SHMT – серин гидроксиметилтрансфераза; GCS – митохондриальная система расщепления глицина; VIAAT (vesicular inhibitory amino acid transporter) – везикулярный переносчик тормозных аминокислот; ГЭБ – гематоэнцефалический барьер.

Для цитирования: В.Н. Шишкова, Я.Р. Нарциссов, В.Ю. Титова, Е.В. Шешегова. Молекулярные механизмы, определяющие применение комбинации глицина и цинка в коррекции основных проявлений стресса и тревоги. *Фармация и фармакология*. 2022;10(5):404-415. DOI: 10.19163/2307-9266-2022-10-5-404-415

© В.Н. Шишкова, Я.Р. Нарциссов, В.Ю. Титова, Е.В. Шешегова, 2022

For citation: V.N. Shishkova, Y.R. Nartsissov, V.Y. Titova, E.V. Sheshegova. Molecular mechanisms defining application of glycine and zinc combination in correction of stress and anxiety main manifestations. *Pharmacy & Pharmacology*. 2022;10(5):404-415. DOI: 10.19163/2307-9266-2022-10-5-404-415

MOLECULAR MECHANISMS DEFINING APPLICATION OF GLYCINE AND ZINC COMBINATION IN CORRECTION OF STRESS AND ANXIETY MAIN MANIFESTATIONS

V.N. Shishkova^{1,2}, Y.R. Nartsissov^{3,4}, V.Y. Titova³, E.V. Sheshegova³

¹ National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine, Bld. 3, 10, Petroverigsky Ln., Moscow, Russia, 101000

² Evdokimov Moscow State Medical and Dental University, Bld. 1, 20, Delegatskaya St., Moscow, Russia, 127473

³ Institute of Cytochemistry and Molecular Pharmacology, Bldg 14, 24, 6th Radial'naya St., Moscow, Russia, 115404

⁴ Biomedical Research Group, BiDiPharma GmbH, 5, Bültbek, Siek, Germany, 22962

E-mail: yarosl@biotic.dol.ru

Received 10 Sep 2022

After peer review 25 Oct 2022

Accepted 30 Oct 2022

The aim of the work was to carry out a systematic analysis of the molecular mechanisms that determine the possibility of a combined use of amino acid glycine and zinc compounds for the treatment of patients with manifestations of stress and anxiety.

Materials and methods. Information retrieval (Scopus, PubMed) and library (eLibrary) databases were used as research tools. In some cases, the ResearchGate application was applied for a semantic search. The analysis and generalization of references was carried out on the research topic, covering the period from 2000 to the present time.

Results. It has been shown that amino acid glycine, along with gamma-aminobutyric acid (GABA), is a key neurotransmitter that regulates physiological inhibition processes in the central nervous system (CNS) by increasing transmembrane conductance in specific pentameric ligand-gated ion channels. The introduction of zinc ions can potentiate the opening of these receptors by increasing their affinity for glycine, resulting in an inhibitory processes increase in CNS neurons. The replenishment of the glycine and zinc combined deficiency is an important element in the correction of a post-stress dysfunction of the central nervous system. A balanced intake of zinc and glycine is essential for most people who experience daily effects of multiple stresses and anxiety. This combination is especially useful for the people experiencing a state of chronic psycho-emotional stress and maladaptation, including those who have a difficulty in falling asleep.

Conclusion. A balanced maintenance of the zinc and glycine concentration in the body of a healthy person leads to the development of a stable anti-anxiety effect, which is accompanied by the normalization of the sleep-wake rhythm, which makes it possible to have a good rest without any loss of working efficiency after waking up.

Keywords: glycine; zinc; anxiolytic agents; brake action; anxiety states

Abbreviations: GABA – gamma-aminobutyric acid; pLGICs – pentameric ligand-gated ion channels; CNS – central nervous system; GlyR – glycine receptor; MT – metallothioneins; ROS – reactive oxygen species; RNS – reactive nitrogen species; SHMT – serine hydroxymethyltransferase; GCS – glycine cleavage system; VIAAT – vesicular inhibitory amino acid transporter; BBB – blood-brain barrier.

ВВЕДЕНИЕ

Негативное влияние стресса и тревоги испытывают на себе в современном мире все большее количество людей, независимо от возраста и пола [1]. Известно, что стресс, или, как его называют состояние острого или хронического психоэмоционального напряжения. Также следует отметить, что тревожные расстройства являются значимыми психосоциальными факторами риска развития многих хронических неинфекционных заболеваний [2]. Принимая во внимание растущую потребность в своевременной терапии и профилактике нарушений, связанных с развитием стресса и тревоги, все большую актуальность приобретают поиск и разработка безопасных и эффективных средств для их коррекции.

В основе схем терапии тревожных состояний

различного генеза лежит использование целого ряда анксиолитических психотропных препаратов [3]. Молекулярный механизм их противотревожного действия основывается на долговременном увеличении активности подкласса A рецепторов гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) [4]. Данный класс мембранных рецепторов, осуществляющих торможение в нейронах, относится к семейству гетеропентомерных лиганд-зависимых хлорных каналов (pentameric ligand-gated ion channels, pLGICs) [5, 6]. Взаимодействие агониста с рецептором, приводящее к открытию селективного анионного канала на поверхности возбудимой мембраны, приводит к увеличению потока Cl⁻, обуславливающего гиперполяризацию нейрона [7]. Данная активация трансмембранного анионного тока через ГАМК_A рецепторы позволяет в классическом подходе к

нейрофизиологическим процессам рассматривать ГАМК в качестве основного тормозного нейромедиатора в центральной нервной системе (ЦНС) [8]. Наряду с этим, вторым по физиологической значимости медиатором, обуславливающим торможение в нейронах спинного мозга и стволе головного мозга, является аминокислота глицин [9]. Данный нейротрансмиттер, наряду с ГАМК, присутствует как в специфических глицинэргических, так и смешанных синапсах и имеет широкое распространение в разных отделах мозга, а также активирует трансмембранную проводимость ионов хлора в глициновом рецепторе (GlyR), принадлежащему к уже упомянутому семейству pLGICs [10, 11] (Рис. 1).

Примечательно, что структуры трансмембранных белков выделяются вместе с ионами цинка, которые присутствуют в анализируемых рекомбинантных белках [12, 13]. Цинк относится к группе наиболее значимых микроэлементов в организме наряду с железом, магнием, а также йодом. Снижение содержания данного двухвалентного катиона приводит к значительным проблемам пациентов как развивающихся, так и развитых стран [14, 15].

В организме цинк является вторым по распространенности микроэлементом после железа. В среднем в теле взрослого человека содержится 2-3 грамма цинка [16]. В организме он распределяется по скелетному типу – 63% в скелетной мускулатуре, 22% в костной системе. Максимальная концентрация цинка наблюдается также в мышцах и костях, а также в предстательной железе у мужчин. Концентрация цинка в головном мозге оценивается в 150 мкмоль/л, что, в свою очередь, в 10 раз превышает содержание цинка в сыворотке крови [17]. Цинк принимает участие во всех видах обмена: предполагается, что он связывается с порядка 3000 ферментов *in vivo*, что соответствует примерно 10% человеческого протеома [18]; регулирует стабильность и проницаемость клетки и участвует в мембранном транспорте [19]; обладает выраженным иммуномодулирующим действием на гемопоэз, остеогенез, процессы дыхания и программируемой гибели клеток (апоптоз) [16, 20]. Экспериментально доказана роль Zn^{2+} в качестве нейромедиатора и модулятора состояния нейронов, поскольку данный ион способен накапливаться в пресинаптических везикулах с последующим выбросом в синаптическую щель [21]. Кроме того, уровень цинка влияет на восприимчивость к обучению и память [22]. Данные результаты показывают, что ионы цинка, наряду с хорошо известными нейромедиаторами, способны оказывать непосредственное влияние на состояние нейронов и участвовать в процессах регуляции возбуждения и торможения ЦНС.

ЦЕЛЬ. Анализ возможного комбинированного применения глицина и соединений цинка для изменения метаболизма и коррекции состояний пациентов с тревожными расстройствами и проявлениями стресса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве инструментов проведения исследования использовались информационно-поисковые (Scopus, PubMed) и библиотечные (eLibrary) базы данных. В ряде случаев для семантического поиска использовалось приложение ResearchGate. В работе осуществлялся анализ и обобщение научной литературы по теме исследования, охватывающей период с 2000 по сентябрь 2022 года. При поиске использовались следующие ключевые слова и комбинации слов: anxiety, anxiolytic properties, neuron metabolism, a synaptic cleft, inhibitory mediators, metabolism of glycine, glycine receptor, ГАМК, GABA receptors, glycine transporters, chloride ion properties, chloride connectivity, zinc metabolism, уровень цинка в ткани, zinc levels, zinc transport, zinc effects, allosteric regulation, reactive oxygen species, antioxidant effects, metabolic levels of glycine, metabolic level of zinc, blood-brain barrier, vasodilatation, cerebral blood flow, противотревожные эффекты глицина, эффекты глицина при стрессе, clinical trials of glycine.

Визуализация мембранных рецепторов осуществлялась на основе использования данных Protein Data Bank (PDB) (<https://www.rcsb.org/>). Для построения химических формул и иллюстраций использовались библиотеки программного пакета ACD/ChemSketch 2020.2.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Особенностью молекулярных механизмов, лежащих в основе терапевтического действия глицина и ионов цинка на пациентов, страдающих тревожными расстройствами, является комбинированное влияние указанных метаболитов на различные биохимические и сигнальные системы. Фактически необходимо говорить о комплексном эффекте, затрагивающем сразу несколько систем.

В контексте накопления и превращения, в нейронах и других типах клеток человека между глицином и цинком существуют принципиальные различия, обусловленные их химической природой. Глицин представляет собой заменимую аминокислоту, активно участвующую во многих метаболических процессах, в то время как Zn^{2+} входит в состав микроэлементов, уровень которых всегда регулируется притоком из внешнего источника.

Процессы транспорта и запасаения цинка в клетках и тканях человека

В энтероцитах тонкого кишечника цинковые буферные белки определяют процесс переноса данного иона в кровотоки. Далее происходит перераспределение Zn^{2+} между альбумином (основной переносчик цинка, в крови связывает до 80%) α -микроглобулином и трансферрином [22, 24]. Содержание белка в пище, а также состояние мукозного слоя тонкого кишечника определяют поглощение цинка. Только 10% цинка выделяется из организма с потом и мочой, остальное – с фекалиями [25].

На клеточном уровне 30–40% цинка

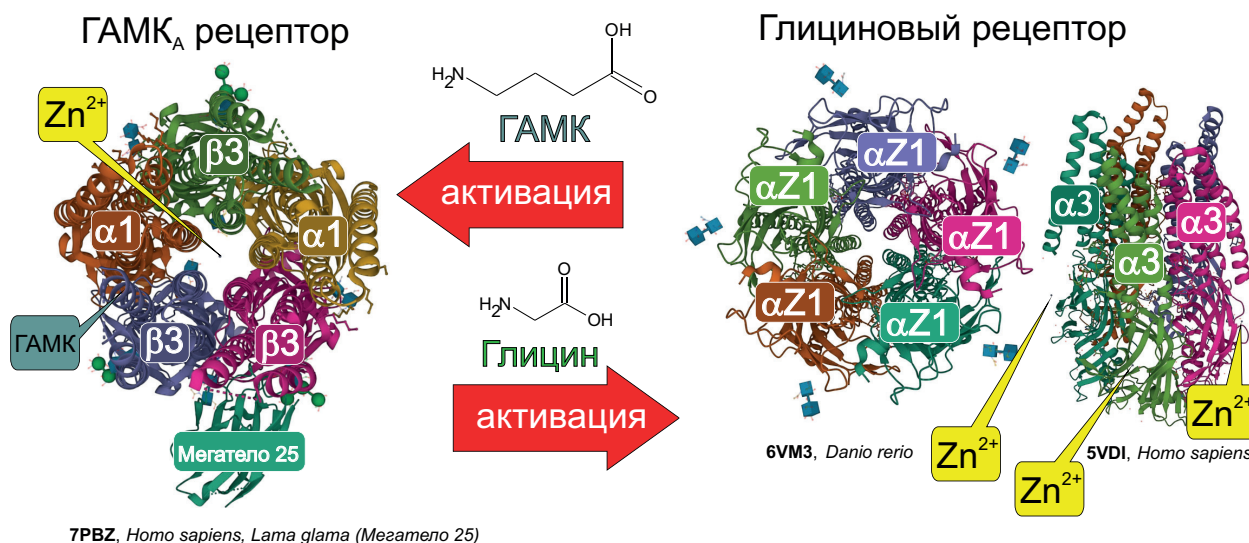


Рисунок 1 – Активация пентамеров семейства pLGICs тормозными медиаторами ЦНС

Примечание: структурные изображения мембранных белков представлены на основе данных Protein Data Bank (PDB) (<https://www.rcsb.org/>) в плоскостях параллельной (ГЛМК_A рецептор, TPBZ, [12]; глициновый рецептор, 6VM3, [23]) и перпендикулярной (глициновый рецептор, 5VDI, [13]) плоскости мембраны.

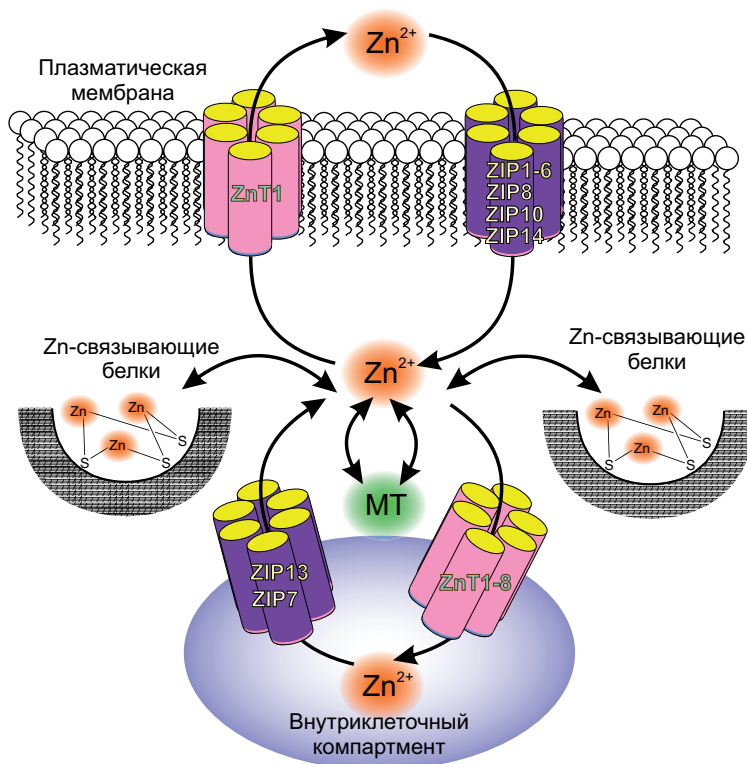


Рисунок 2 – Основные пути транспорта и депонирования ионов цинка в клетках человека

Примечание: в качестве внутриклеточных компартментов выступают: эндоплазматический ретикулум (ZnT1, ZIP7), аппарат Гольджи (ZnT5-7, ZIP13), эндосомы (ZnT4), лизосомы (ZnT2), инсулиновые гранулы (ZnT5, ZnT8) и синаптические везикулы (ZnT3).

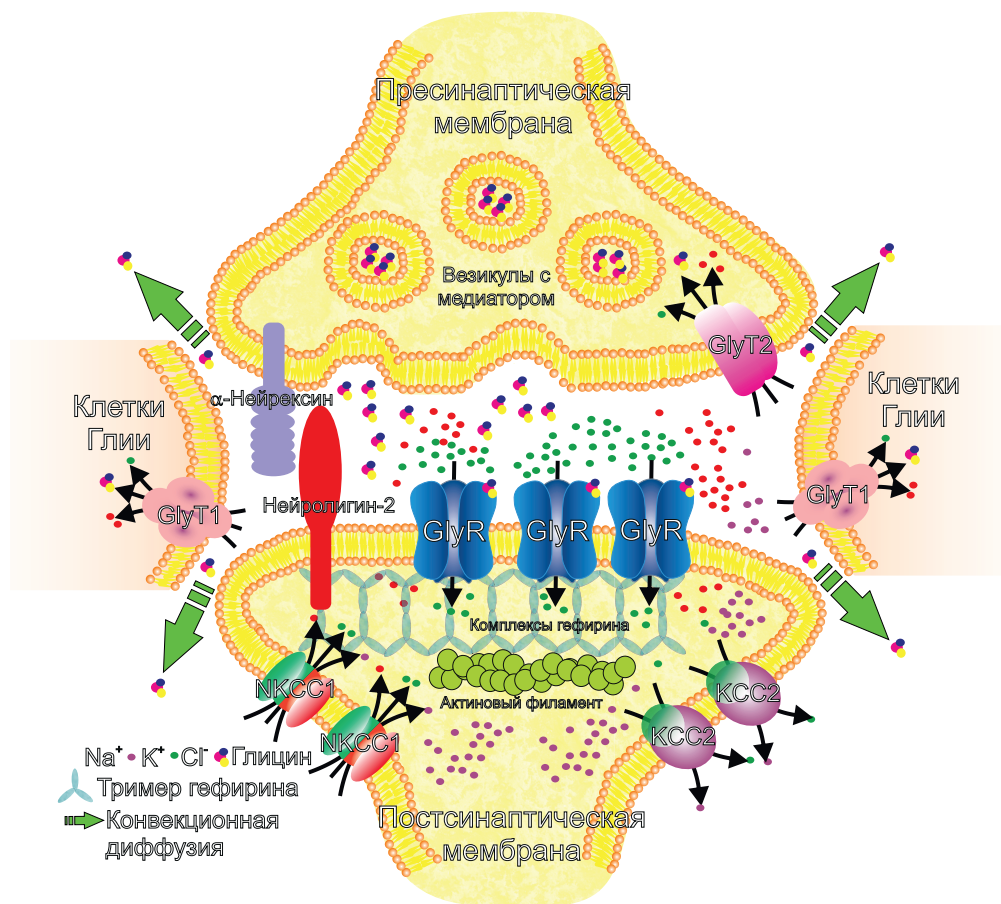


Рисунок 3 – Схематическое изображение глицинэргического синапса

Примечание: выброс нейромедиатора из синаптической везикулы сопровождается последующей диффузией в синаптическую щель и активацией структурированных кластеров GlyR и гефирина на постсинаптической мембране. Возрастающая концентрация ионов хлора в постсинаптическом окончании регулируется транспортом через переносчик KCC2. Структурная пластичность синапса осуществляется за счет взаимодействия альфа-нейрексина (пресинаптическая мембрана) и комплекса нейролигина-2 со структурной сеткой тримеров гефирина в постсинаптическом окончании [43].

локализовано в ядре, 50% в цитоплазме и органеллах, остальное в клеточной мембране. Клеточный гомеостаз цинка опосредуется тремя основными механизмами [26]. Во-первых, это транспорт через плазматическую мембрану белками-импортерами из семейства ZIP и ZnT (Рис. 2). Во-вторых, за счет секвестрации, опосредованной транспортером, во внутриклеточные органеллы, включая эндоплазматический ретикулум, комплекс Гольджи и лизосомы. Для поддержания жизнеспособности клеток необходим жесткий контроль гомеостаза цинка, так как нарушение регуляции приводит к гибели клеток. Третьим механизмом поддержания гомеостаза является система металлотионеин/тионеин [18]. Металлотионеины (MT) образуют комплексы примерно с 20% внутриклеточного цинка. MT – это повсеместно распространенные белки, характеризующиеся низкой молекулярной массой, высоким содержанием цистеина и их способностью образовывать комплексы с ионами металлов.

Одна молекула MT может связывать до семи ионов цинка. За счет различного сродства сайтов связывания ионов металлов Zn может действовать

как мощный клеточный цинковый буфер. Свободные и слабо связанные ионы цинка, взаимодействуя с апопротеином тионеином (T_{red}), образуют MT [27]. Повышение уровня свободных ионов цинка запускает фактор транскрипции-1 (MTF), таким образом, индуцируя экспрессию тионеина [18]. Кроме того, окисление тиолов реактивными формами кислорода (ROS) или азота (RNS) запускает образование окисленного протеина тионина (T_{ox}) с сопутствующим высвобождением цинка [28].

Поскольку в организме отсутствует система депонирования цинка его уровень в клетках необходимо постоянно поддерживать. В качестве источников для поддержания нормального уровня данного иона могут использоваться продукты как растительного (грибы, орехи, злаковые, бобовые), так и животного (мясо, печень, морепродукты, сыр) происхождения [25, 29].

Рекомендованная суточная норма в России, в соответствии с нормами физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации (Методические рекомендации МР 2.3.1.0253–21), составляет от 3 до 12 мг цинка для детей и 12 мг для

взрослых. В США суточная доза цинка для мужчин составляет – 11 мг, для женщин – 8 мг. В Германии – 10 мг для мужчин и 7 мг для женщин [26].

Метаболизм глицина в клетках человека

Как уже упоминалось выше, в отличие от цинка, аминокислота глицин активно участвует в метаболических процессах клеток человека, являясь как субстратом, так и продуктом ферментативных реакций. В большинстве случаев глицин синтезируется серин гидроксиметилтрансферазой (SHMT), которая использует в качестве субстрата серин, поступивший с пищей, либо полученный в качестве продукта анаболических реакций из глюкозы и глутамата [30]. SHMT является пиридоксальфосфат- и тетрагидрофолат-зависимым белком, который присутствует как в цитоплазме (SHMT1), так и в митохондриях (SHMT2), причем митохондриальный фермент обладает большей активностью [31]. Альтернативными метаболическими путями являются синтез глицина из треонина (с участием треонин альдозы и треонин дегидрогеназы), холина (иницируется холин оксидазой) и глиоксилата (катализируется аланин-глиоксилат аминотрансферазой) [32, 33]. В целом баланс и доминирование упомянутых анаболических путей существенным образом зависит от условий, диеты и состояния организма. В качестве катаболических реакций можно рассматривать обратимость реакции SHMT, а также митохондриальную систему расщепления глицина (GCS), представляющую собой совокупность четырех белков (глицин декарбоксилазу (P-protein), аминотрансферазу (T-protein), дигидролипоамид дегидрогеназу (L-protein) и белка, содержащего липоевую кислоту (H-protein) [34]. Следует обратить внимание на то обстоятельство, что при всей сложности процесса, GCS рассматривается как обратимая система и ее активность распределена неравномерно в тканях человека: система расщепления глицина в большей степени представлена в печени и почках и в меньшей в головном мозге, яичках и тонком кишечнике [30].

Роль глицина в качестве нейромедиатора в нейронах

Синтезированный глицин закачивается в везикулы посредством везикулярного переносчика тормозных аминокислот (vesicular inhibitory amino acid transporter, VIAAT), работа которого сопряжена с переносом ионов хлора внутрь синаптических частиц [35]. Такая активность характерна как для глицинэргических, так и для ГАМК-эргических нейронов, а также для терминальных окончаний смешанного типа [36]. Экзоцитоз синаптических везикул приводит к диффузии глицина в постсинаптическую мембрану с последующей активацией GlyR, что, в свою очередь, приводит к истощению градиента иона хлора [37, 38]. Для большинства зрелых нейронов

ЦНС внутриклеточная концентрация ионов хлора поддерживается на низком уровне (порядка 5 мМ) [39], который достигается вследствие активности K^+/Cl^- переносчиков, известных как KCC2 [40, 41], функционирующих наряду с $Na^+/K^+/Cl^-$ переносчиком (NKCC1), а также переносчиками глицина – GlyT1 и GlyT2 [42] (Рис. 3).

Необходимо особо подчеркнуть, что отличительной особенностью устройства постсинаптической области, содержащей глициновые, а также ГАМК_A-рецепторы, является их кластерная организация на поверхности мембраны. Подобный эффект достигается за счет взаимодействия GlyR со специфическим белком – гефрином [44], состоящим из трех субъединиц [43] и образующим тримеры, связанные с цитоскелетом (Рис. 3). Данный белок входит в состав многоступенчатой системы, обеспечивающей формирование и развитие нейропластичности постсинаптической мембраны нейронов, содержащих рецепторы, активируемые тормозными нейромедиаторами (глицином и ГАМК) [45]. Этот процесс динамический и может регулироваться различными путями, в частности, уровнем специфического нейротрофического фактора мозга [46]. Выброшенный в синаптическую щель глицин в дальнейшем захватывается обратно в нейроны и глиальные клетки через уже упомянутые переносчики GlyT, а некоторая часть молекул нейромедиатора конвекционной диффузией уносится в интерстициальную жидкость. Данный процесс имеет важное значение для формирования пространственной неоднородности распределения глицина и объяснения молекулярных механизмов его эффектов в нейронах [33].

Иные сопутствующие и метаболические эффекты глицина

Рассмотренный молекулярный механизм активации трансмембранных токов ионов хлора указывает на непосредственное участие глицина в формировании процессов торможения в нейронах ЦНС и является основой для формирования различных схем терапии, направленных на снижение тревоги и уменьшения проявления стресса. Так экспериментально показано, что высокие дозы глицина при пероральном приеме (3 г разово перед засыпанием) улучшают субъективную и объективную оценку качества сна в рассматриваемой группе пациентов [47]. Пероральный прием глицина снижает метаболические нарушения у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями, воспалениями различного генеза в ряде онкологических заболеваний, а также при ожирении и диабете [48]. Глицин защищает от окислительного стресса, вызванного широким спектром токсических соединений (в том числе и лекарств) на уровне клеток или целого органа в печени, почках, кишечнике и сосудистой системе [49]. Примечательно, что глицин оказывает прямое действие на дилатацию артерий

[50, 51], что является важнейшим аспектом общего воздействия данной аминокислоты на состояние ЦНС [52]. Воздействие на систему кровотока в микрососудах и капиллярах приводит к теоретически обоснованному [53-55] и экспериментально подтвержденному увеличению содержания глюкозы в тканях [56].

Алlostерическая регуляция GlyR со стороны ионов цинка

В целом ряде экспериментальных работ показана алlostерическая регуляция GlyR со стороны ионов цинка [57, 58]. При этом эффект цинка на активность глициновых рецепторов зависит от уровня содержания иона и имеет бифазный вид. В случае низких концентрациях Zn^{2+} (<10 μM) наблюдается активация рецептора, а при высоких концентрациях (>10 μM) – его торможение. Данные разнонаправленные процессы задействует различные сайты на рецепторе и имеют различные молекулярные механизмы. Потенцирование достигается за счет увеличения сродства рецептора к глицину, в то время как ингибирование достигается путем уменьшения эффективности [57]. Данные эффекты следует считать следствием физико-химических свойств цинка, который является единственным ионом среди переходных металлов, не имеющим биологической окислительно-восстановительной активности. Именно отсутствие редокс-активности, наряду с его относительно сильным сродством к белкам, позволили цинку стать подходящим ионом для исполнения роли структурного кофактора, модулирующего активность глицинового рецептора.

Антиоксидантные эффекты глицина и цинка

Кроме непосредственного прямого комбинированного действия на состояние поляризации мембраны нейронов, глицин и Zn^{2+} имеют множество эффектов на метаболические процессы, которые непосредственно влияют на состояние пациентов с тревожными расстройствами. В частности, экспериментально показано, что увеличение концентрации глицина оказывает протекторное действие на систему окислительного фосфорилирования в митохондриях нейронов в условиях аноксии и гипоксии [59–61], что является частью глобального регуляторного механизма переключающего состояния метаболизма в зависимости от уровня содержания аминокислот в ткани [62]. Кроме этого, непосредственное увеличение содержания глицина снижает уровень генерации активных форм кислорода, иницированных глутаматной эксайтотоксичностью [63]. Антиоксидантный эффект подкрепляется опосредованным участием глицина в составе трипептида глутатиона в системе защиты от окислительного стресса, что является основой протекторного действия данной аминокислоты

при различных ишемических состояниях и острых нарушениях мозгового кровообращения [64]. В нормальных физиологических условиях Zn^{2+} редокс-неактивен, поэтому в процессах приема и передачи электронов он принимает участие опосредовано. Антиоксидантные свойства цинка представляют собой результат нескольких косвенных механизмов, а именно – ингибирование формирования ROS переходными металлами и сульфгидрильная стабилизация [65, 66].

Приведённые выше молекулярные механизмы воздействия глицина и цинка на клеточные и субклеточные системы ткани головного мозга указывают на необходимость сочетанного использования данных метаболитов для достижения более выраженного эффекта у пациентов, страдающих тревожными расстройствами. При этом важным является как возможность поддержания концентрации рассматриваемой аминокислоты и микроэлемента, так и их эффективность и биодоступность.

Биодоступность и поддержание уровня глицина и цинка в организме человека

Не взирая на то, что глицин является заменимой аминокислотой, Melendes-Hevia E. и соавт. указывают на необходимость его поступления извне как источника для восполнения биологических потребностей клеток [67]. Следует обратить внимание, что на сегодняшний день экспериментально доказана способность глицина проникать через ГЭБ с помощью неспецифических переносчиков аминокислот при его пероральном введении [47]. Тем не менее применяемые при данном способе введения дозы достаточно высоки [68] и поэтому необходимо учитывать специфику локальных изменений концентрации глицина, достигаемую эффективным выбором пути доставки данного метаболита.

Для поддержания полноценного гомеостаза цинка необходимо достаточное ежедневное его потребление, потому что рассмотренные выше системы внутриклеточной локализации ионов цинка являются достаточно динамически наполняемыми компартментами и ловушками, что в конечном итоге может приводить к отсутствию системы депонирования данного микроэлемента в организме.

К сожалению, дефицит цинка не проявляется каким-то специфическими симптомами. При его дефиците могут наблюдаться такие неспецифические состояния, как нарушения сна, ухудшение состояния кожи, волос и ногтей, снижение аппетита, повышенное выпадение волос, ухудшение ночного зрения, снижение настроения, увеличение длительности заживления ран и другие [69].

Недостаток цинка более распространён среди людей, придерживающихся диеты с высоким содержанием фитатов [15]. Чаще всего это жители

развивающихся стран. Фитаты содержатся в зерновых, семенах, орехах, бобовых, какао-бобах и какао-порошке, а также в кофейных зёрнах. Фитаты связываются с цинком, тем самым снижая его биодоступность [25, 26]. Стоит отметить, что цинк, получаемый из продуктов животного происхождения, имеет более высокую биодоступность по сравнению с растительными продуктами питания. Поэтому обычно вегетарианцам рекомендуют увеличивать норму цинка в 1,5 раза [26].

Для увеличения его биодоступности в вегетарианских диетах следует использовать бобовые в проросшем виде, либо замачивать зерно и бобовые в воде за несколько часов до приготовления.

Согласно единым санитарно-эпидемиологическим и гигиеническим требованиям к товарам, подлежащим санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю), рекомендуемый адекватный уровень суточного потребления цинка для взрослого человека составляет – 12 мг, верхний допустимый уровень потребления – 25 мг [70]. Физиологическая потребность для детей составляет от 3 до 12 мг/сутки (в зависимости от возраста). Грудное вскармливание как минимум до 6 месяцев жизни обеспечивает адекватный уровень поступления цинка в организм ребенка [71].

Интересно, что некоторые авторы указывают на необходимость сублингвального приёма цинка в случае терапии простуды [14]. Медленное растворение препарата во рту позволит ионам цинка высвободиться, абсорбироваться и транспортироваться в нос – очаг заражения. Также важен химический состав препарата, чтобы цинк мог ионизироваться в полости рта при pH 7,4: лимонная кислота, глицин и тартарат предотвращают ионизацию цинка [14].

В биологически активных добавках к пище цинк может присутствовать в формах соединений: ацетата, сульфата, хлорида, цитрата, глюконата, лактата, оксида, карбоната, L-аскорбата, L-аспартата, бисглицината, L-лизината, малата, моно-L-метионинсульфата, пиколината, L-пироглутамата, а также аминокислотных комплексов (в соответствии с Едиными санитарно-эпидемиологическими и гигиеническими требованиями). Биологические добавки цинка обладают различной биодоступностью. Цинк, связанный с такими аминокислотами, как аспартат, цистеин и гистидин, обладает самой высокой концентрацией поглощения, затем следуют хлорид, сульфат и ацетат цинка, тогда как оксид цинка имеет самую низкую биодоступность [14, 26, 72]. Сравнение влияния различных сахаридов и их комбинаций на поглощение цинка везикулами с мембранами щеточной каймы показало, что добавление мальтозы и смеси галактозы с глюкозой не выражено снижали уровень поглощения цинка по сравнению с контролем, а добавление глюкозного полимера или лактозы значительно

увеличивали биодоступность цинка [73]. Добавление к лактозе глюкозы или к глюкозному полимеру маннитола вызывало такой же эффект, как и одна лактоза или полимер соответственно. Буфер только с галактозой не имел эффекта на связывание цинка. В другом исследовании было установлено, что низкомолекулярный лактозно-цинковый комплекс характеризуется более высокой биодоступностью *in vitro* [74].

Применение Zn^{2+} совместно с глицином позволит формировать хелатные формы цинка, к неоспоримым преимуществам которых относится максимальная биодоступность даже при состояниях, когда усвоение компонентов нарушено (отсутствие взаимодействия с пищей, другими минералами и соляной кислотой желудка, отсутствие неблагоприятных реакций) [75].

Установлено, что цинк, как один из важнейших микроэлементов, играет важную роль при различных патологических состояниях. Различные заболевания ЖКТ, например мальабсорбция, цирроз печени, целиакия, болезнь Крона и хроническая диарея, могут также приводить к дефициту цинка, в связи с нарушением его всасывания [19, 26].

Показана связь низких уровней цинка с метаболическим синдромом и диабетом [76, 77], а также снижением иммунитета [26, 78, 79]. Большое количество железа из добавок может помешать усвоению цинка. Нарушение гомеостаза цинка, ведущее либо к истощению, либо к избытку цинка, вызывает серьезные повреждения нейронов [80]. Индуцированная цинком гибель клеток и изменения цинкового статуса мозга связаны с широким спектром заболеваний, включая многие нейродегенеративные расстройства, такие как болезнь Альцгеймера, и расстройства настроения, включая депрессию, болезнь Паркинсона, болезнь Хантингтона, боковой амиотрофический склероз и прионные болезни, а также расстройства аутистического спектра [66, 81–83].

Рассмотренные молекулярные механизмы действия метаболитов находят свое отражение в клинической практике терапии тревожных состояний. В частности, было показано, что наибольшей обратной динамике, на фоне терапии глицином, подвергались такие симптомы тревоги, как: тревожное настроение, напряжение, нарушения сна [85]. Кроме того, в рандомизированном плацебо-контролируемом исследовании была продемонстрирована эффективность глицина при лечении тревоги легкой степени выраженности у больных, страдающих расстройством адаптации с преобладанием нарушения других эмоций [86].

Все основные метаболические пути регулируются металлоферментами цинка. Функции этих ферментов включают каталитическую, структурную и регулируемую роль. Статус цинка, будь то дефицит или избыток, способен влиять на каждую из этих разнообразных ролей этого элемента в биологии человека.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, дефициты определенных эссенциальных микроэлементов и аминокислот, таких как глицин и цинк, особенно их сочетанные дефициты, представляют собой одну из частых причин развития различных неблагоприятных последствий, в том числе – постстрессорные дисфункции ЦНС. Принимая во внимание накопленный опыт положительного воздействия данных микронутриентов на процессы восстановления и поддержания нормального функционирования ЦНС, адекватное потребление цинка и глицина может иметь важное значение для большинства

людей, ежедневно испытывающих последствия многочисленных стрессов и находящихся в тревожном состоянии. Особенно полезна данная комбинация может быть для лиц, испытывающих состояние хронического психоэмоционального напряжения и дезадаптации, в том числе имеющих сложности с засыпанием. Восполнение дефицита цинка и глицина в организме здорового человека проявляется развитием стойкого противотревожного эффекта, который сопровождается нормализацией ритма сон-бодрствование, что дает возможность полноценного отдыха без потерь работоспособности после пробуждения.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена при финансовой поддержке ООО «МНПК «БИОТИКИ».

Спонсор не оказывал влияния на выбор материала для публикации, анализ и интерпретацию данных.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

В.Н. Шишкова – написание и редактирование текста, анализ литературных источников и интерпретация результатов, анализ клинических эффектов глицина и цинка, утверждение текста; Я.Р. Нарциссов – написание и редактирование текста, анализ литературных источников и интерпретация результатов, проведение поиска в базе данных Protein Data Bank (PDB) (<https://www.rcsb.org/>), подбор материала о действии глицина, разработка дизайна и выполнение иллюстраций с использованием графических инструментов и библиотеки программного пакета ACD/ChemSketch 2020.2.0, утверждение окончательного варианта статьи для публикации; В.Ю. Титова – написание и редактирование текста, анализ литературных источников и интерпретация результатов, подбор материала о метаболическом действии цинка; Е.В. Шешегова – написание и редактирование текста, анализ литературных источников и интерпретация результатов, анализ фармацевтически приемлемых соединений цинка и биодоступности комбинаций, утверждение текста.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. GBD 2017 Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017 // *The Lancet*. – 2018. – Vol. 392, No. 10159. – P. 1789–1858. DOI: 10.1016/S0140-6736(18)32279-7
2. Драпкина О.М., Концевая А.В., Калинина А.М., Авдеев С.Н., Агальцов М.В., Александрова Л.М., Анциферова А.А., Аронов Д.М., Ахмеджанов Н.М., Баланова Ю.А., Балахонова Т.В., Бернс С.А., Бочкарев М.В., Бочкарева Е.В., Бубнова М.Г., Будневский А.В., Гамбарян М.Г., Горбунов В.М., Горный Б.Э., Горшков А.Ю., Гуманова Н.Г., Дадаева В.А., Дроздова Л.Ю., Егоров В.А., Елиашевич С.О., Ершова А.И., Иванова Е.С., Имаева А.Э., Ипатов П.В., Каприн А.Д., Карамнова Н.С., Кобалава Ж.Д., Конради А.О., Копылова О.В., Коростовцева Л.С., Котова М.Б., Куликова М.С., Лавренова Е.А., Лищенко О.В., Лопатина М.В., Лукина Ю.В., Лукьянов М.М., Маев И.В., Мамедов М.Н., Маркелова С.В., Марцевич С.Ю., Метельская В.А., Мешков А.Н., Милушкина О.Ю., Муканеева Д.К., Мырзаматова А.О., Небиеридзе Д.В., Орлов Д.О., Поддубская Е.А., Попович М.В., Поповкина О.Е., Потиевская В.И., Прозорова Г.Г., Раковская Ю.С., Ротарь О.П., Рыбаков И.А., Свиричев Ю.В., Скрипкина И.А., Скоблина Н.А., Смирнова М.И., Старинский В.В., Толпыгина С.Н., Усова Е.В., Хайлова Ж.В., Шальнова С.А., Шепель Р.Н., Шишкова В.Н., Явелов И.С., Марданов Б.У. Профилактика хронических неинфекционных заболеваний в Российской Федерации. Национальное руководство 2022 // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2022. – Т. 21, № 4. – С. 3235. DOI: 10.15829/1728-8800-2022-3235
3. Beune T., Absalom A. Anxiolytics, sedatives and hypnotics // *Anaesthesia and Intensive Care Medicine*. – 2022. – Vol. 23, No. 8. – P. 481–486. DOI: 10.1016/j.mpaic.2022.04.013
4. Sinclair L., Nutt D. Anxiolytics // *Psychiatry*. – 2007. – Vol. 6, No. 7. – P. 284–288. DOI: 10.1016/j.mppsy.2007.04.007
5. Amundarain M.J., Ribeiro R.P., Costabel M.D., Giorgetti, A. GABA_A receptor family: Overview on structural characterization // *Future Med. Chem.* – 2019. DOI: 10.4155/fmc-2018-0336
6. Kim J.J., Hibbs R. E. Direct Structural Insights into GABA_A Receptor Pharmacology // *Trends Biochem. Sci.* – 2021. – Vol. 46, No. 6. – P. 502–517. DOI: 10.1016/j.tibs.2021.01.011
7. Knoflach F., Bertrand D. Pharmacological modulation of GABA_A receptors // *Curr. Opin. Pharmacol.* – 2021. – Vol. 59. – P. 3–10. DOI: 10.1016/j.coph.2021.04.003
8. Avoli M., Krnjević K. The Long and Winding Road to Gamma-Amino-Butyric Acid as Neurotransmitter // *Can. J. Neurol. Sci.* – 2015. – Vol. 43, No. 2. – P. 219–226. DOI: 10.1017/cjn.2015.333
9. Benarroch E.E. Glycine and its synaptic interactions: Functional and clinical implications // *Neurology*. – 2011. – Vol. 77, No. 7. – P. 677–683. DOI: 10.1212/WNL.0b013e31822a2791
10. Betz H., Laube B. Glycine receptors: recent insights into

- their structural organization and functional diversity // *J. Neurochem.* – 2006. – Vol. 97, No. 6. – P. 1600–1610. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2006.03908.x
11. Beato M. The time course of transmitter at glycinergic synapses onto motoneurons // *J. Neurosci.* – 2008. – Vol. 28, No. 29. – P. 7412–7425. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0581-08.2008
 12. Kasaragod V.B., Mortensen M., Hardwick S.W., Wahid A.A., Dorovykh V., Chirgadze D.Y., Smart T.G., Miller P.S. Mechanisms of inhibition and activation of extrasynaptic $\alpha\beta$ GABA_A receptors // *Nature.* – 2022. – Vol. 602, No. 7897. – P. 529–533. DOI: 10.1038/s41586-022-04402-z
 13. Huang X., Chen H., Shaffer P.L. Crystal Structures of Human GlyR α 3 Bound to Ivermectin // *Structure.* – 2017. – Vol. 25, No. 6. – P. 945–950.e2. DOI: 10.1016/j.str.2017.04.007
 14. Prasad A.S. Discovery of Human Zinc Deficiency: Its Impact on Human Health and Disease // *Adv. Nutr.* – 2013. – Vol. 4, No. 2. – P. 176–190. DOI: 10.3945/an.112.003210
 15. Wessells K.R., Brown K.H. Estimating the global prevalence of zinc deficiency: results based on zinc availability in national food supplies and the prevalence of stunting // *PLoS One.* – 2012. – Vol. 7, No. 11. – e50568. DOI: 10.1371/journal.pone.0050568
 16. Asl S.H., Nikfarjam S., Majidi Zolbanin N., Nassiri R., Jafari R. Immunopharmacological perspective on zinc in SARS-CoV-2 infection // *Int. Immunopharmacol.* – 2021. – Vol. 96. – Art. ID: 107630. DOI: 10.1016/j.intimp.2021.107630
 17. Portbury S.D., Adlard P.A. Zinc Signal in Brain Diseases // *Int. J. Mol. Sci.* – 2017. – Vol. 18, No. 12. – Art. ID: 2506. DOI: 10.3390/ijms18122506
 18. Kimura T., Kambe T. The Functions of Metallothionein and ZIP and ZnT Transporters: An Overview and Perspective // *Int. J. Mol. Sci.* – 2016. – Vol. 17, No. 3. – Art. ID: 336. DOI: 10.3390/ijms17030336
 19. Wang S., Liu G.C., Wintergerst K.A., Cai L. Chapter 14 – Metals in Diabetes: Zinc Homeostasis in the Metabolic Syndrome and Diabetes. In: Mauricio D. editor. *Molecular Nutrition and Diabetes.* – Academic Press, 2016. – P. 169–182. DOI: 10.1016/B978-0-12-801585-8.00014-2
 20. Daaboul D., Rosenkranz E., Uciechowski P., Rink L. Repletion of zinc in zinc-deficient cells strongly up-regulates IL-1 β -induced IL-2 production in T-cells // *Metallomics.* – 2012. – Vol. 4, No. 10. – P. 1088–1097. DOI: 10.1039/c2mt20118f
 21. Li Y., Hough C.J., Suh S.W., Sarvey J.M., Frederickson C.J. Rapid Translocation of Zn²⁺ From Presynaptic Terminals Into Postsynaptic Hippocampal Neurons After Physiological Stimulation // *J. Neurophysiol.* – 2001. – Vol. 86, No. 5. – P. 2597–2604. DOI: 10.1152/jn.2001.86.5.2597
 22. Tamano H., Koike Y., Nakada H., Shakushi Y., Takeda A. Significance of synaptic Zn²⁺ signaling in zincergic and non-zincergic synapses in the hippocampus in cognition // *J. Trace Element. Med. Biol.* – 2016. – Vol. 38. – P. 93–98. DOI: 10.1016/j.jtemb.2016.03.003
 23. Kumar A., Basak S., Rao S., Gicheru Y., Mayer M.L., Sansom M.S.P., Chakrapani S. Mechanisms of activation and desensitization of full-length glycine receptor in lipid nanodiscs // *Nat. Commun.* – 2020. – Vol. 11, No. 1. – Art. No. 3752. DOI: 10.1038/s41467-020-17364-5
 24. Lu J., Stewart A.J., Sadler P.J., Pinheiro T.J., Blindauer C.A. Albumin as a zinc carrier: properties of its high-affinity zinc-binding site // *Biochem. Soc. Trans.* – 2008. – Vol. 36, Part 6. – P. 1317–1321. DOI: 10.1042/BST0361317
 25. Sandstead H.H., Freeland-Graves J.H. Dietary phytate, zinc and hidden zinc deficiency // *J. Trace Elem. Med. Biol.* – 2014. – Vol. 28, No. 4. – P. 414–417. DOI: 10.1016/j.jtemb.2014.08.011
 26. Gammoh N.Z., Rink L. Zinc in Infection and Inflammation // *Nutrients.* – 2017. – Vol. 9, No. 6. – Art. ID: 624. DOI: 10.3390/nu9060624
 27. Maret W. The Function of Zinc Metallothionein: A Link between Cellular Zinc and Redox State // *J. Nutr.* – 2000. – Vol. 130, No. 5. – P. 1455–1458. DOI: 10.1093/jn/130.5.1455S
 28. Plum L.M., Rink L., Haase H. The essential toxin: impact of zinc on human health // *Int. J. Environ. Res. Public Health.* – 2010. – Vol. 7, No. 4. – P. 1342–1365. DOI: 10.3390/ijerph7041342
 29. Драпкина О.М., К. Н. С., Концевая А.В., Горный Б.Э., Дадаева В.А., Дроздова Л.Ю., Еганян Р.А., Елиашевич С.О., Измайлова О.В., Лавренова Е.А., Лищенко О.В., Скрипникова И.А., Швабская О.Б., Шишкова В.Н. Российское общество профилактики неинфекционных заболеваний (РОПНИЗ). Алиментарно-зависимые факторы риска хронических неинфекционных заболеваний и привычки питания: диетологическая коррекция в рамках профилактического консультирования. Методические рекомендации. // *Кардиоваскулярная терапия и профилактика.* – 2021. – Т. 20, № 5. – P. 2952. DOI: 10.15829/1728-8800-2021-2952
 30. Wu G. *Amino Acids: Biochemistry and Nutrition*, 2nd Edition. – CRC Print: Boca Raton, 2021. – 816 p. DOI: 10.1201/9781003092742
 31. Wang W., Wu, Z., Dai Z., Yang Y., Wang J., Wu G. Glycine metabolism in animals and humans: Implications for nutrition and health // *Amino Acids.* – 2013. – Vol. 45, No. 3. – P. 463–477. DOI: 10.1007/s00726-013-1493-1
 32. Wu G. Functional amino acids in growth, reproduction, and health // *Adv. Nutr.* – 2010. – Vol. 1, No. 1. – P. 31–37. DOI: 10.3945/an.110.1008
 33. Nartsissov Y.R. *Amino Acids as Neurotransmitters. The Balance between Excitation and Inhibition as a Background for Future Clinical Applications. COVID-19, Neuroimmunology and Neural Function* / edited by Thomas Heinbockel, Robert Weissert. – IntechOpen, 2022. DOI:10.5772/intechopen.103760
 34. Kikuchi G., Motokawa Y., Yoshida T., Hiraga K. Glycine cleavage system: Reaction mechanism, physiological significance, and hyperglycinemia // *Proc. Jpn. Acad. Ser. B. Phys. Biol. Sci.* – 2008. – Vol. 84, No. 7. – P. 246–263. DOI: 10.2183/pjab.84.246
 35. Juge N., Muroyama A., Hiasa M., Omote H., Moriyama Y. Vesicular inhibitory amino acid transporter is a Cl⁻/gamma-aminobutyrate Co-transporter // *J. Biol. Chem.* – 2009. – Vol. 284, No. 50. – P. 35073–35078. DOI: 10.1074/jbc.M109.062414
 36. Ito T., Bishop D.C., Oliver D.L. Expression of glutamate and inhibitory amino acid vesicular transporters in the rodent auditory brainstem // *J. Comp. Neurol.* – 2011. – Vol. 519, No. 2. – P. 316–340. DOI: 10.1002/cne.22521
 37. Berndt N., Hoffmann S., Benda J., Holzthutter H.G. The influence of the chloride currents on action potential firing and volume regulation of excitable cells studied by a kinetic model // *J. Theor. Biol.* – 2011. – Vol. 276, No. 1. – P. 42–49. DOI: 10.1016/j.jtbi.2011.01.022
 38. Doyon N., Prescott S.A., Castonguay A., Godin A.G., Kroger H., de Koninck Y. Efficacy of synaptic inhibition depends on multiple, dynamically interacting mechanisms implicated in chloride homeostasis // *PLoS Comput. Biol.* – 2011. – Vol. 7, No. 9. – e1002149. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1002149
 39. Raimondo J.V., Richards B.A., Woodin M.A. Neuronal chloride and excitability — the big impact of small changes // *Curr. Opin. Neurobiol.* – 2017. – Vol. 43. – P. 35–42. DOI: 10.1016/j.conb.2016.11.012
 40. Chamma I., Chevy Q., Poncer J.C., Lévi S. Role of the

- neuronal K-Cl co-transporter KCC2 in inhibitory and excitatory neurotransmission // *Front. Cell. Neurosci.* – 2012. – Vol. 6. – Art. No. 5. DOI: 10.3389/fncel.2012.00005
41. Kaila K., Price T.J., Payne J.A., Puskarjov M., Voipio J. Cation-chloride cotransporters in neuronal development, plasticity and disease // *Nat. Rev. Neurosci.* – 2014. – Vol. 15, No. 10. – P. 637–654. DOI: 10.1038/nrn3819
42. Зайцев К.С., Машковцева Е.В., Нарциссов Я.Р. Мембранные переносчики аминокислоты глицин в нервной ткани: структура, локализация, основные функции и регуляция // *Успехи современной биологии.* – 2012. – Т. 132, № 4. – С. 391–400.
43. Choi G., Ko J. Gephyrin: a central GABAergic synapse organizer // *Exp. Mol. Med.* – 2015. – Vol. 47. – e158. DOI: 10.1038/emmm.2015.5
44. Baer K., Waldvogel H.J., During M.J., Snell R.G., Faull R.L.M., Rees M.I. Association of gephyrin and glycine receptors in the human brainstem and spinal cord: An immunohistochemical analysis // *Neuroscience.* – 2003. – Vol. 122, No. 3. – P. 773–784. DOI: 10.1016/s0306-4522(03)00543-8
45. Luscher B., Fuchs T., Kilpatrick C. GABA_A Receptor Trafficking-Mediated Plasticity of Inhibitory Synapses // *Neuron.* – 2011. – Vol. 70, No. 3. – P. 385–409. DOI: 10.1016/j.neuron.2011.03.024
46. Gonzalez M.I. Brain-derived neurotrophic factor promotes gephyrin protein expression and GABA_A receptor clustering in immature cultured hippocampal cells // *Neurochem. Int.* – 2014. – Vol. 72, No. 1. – P. 14–21. DOI: 10.1016/j.neuint.2014.04.006
47. Bannai M., Kawai N. New therapeutic strategy for amino acid medicine: glycine improves the quality of sleep // *J. Pharmacol. Sci.* – 2012. – Vol. 118, No. 2. – P. 145–148. DOI: 10.1254/jphs.11r04fm
48. Razak M.A., Begum P.S., Viswanath B., Rajagopal S. Multifarious Beneficial Effect of Nonessential Amino Acid, Glycine: A Review // *Oxid. Med. Cell. Longev.* – 2017. – Vol. 2017. – Art. ID: 1716701. DOI: 10.1155/2017/1716701
49. Pérez-Torres I., Zuniga-Munoz A.M., Guarner-Lans V. Beneficial Effects of the Amino Acid Glycine // *Mini Rev. Med. Chem.* – 2017. – Vol. 17, No. 1. – P. 15–32. DOI: 10.2174/1389557516666160609081602
50. Podoprigora G.I., Nartsissov Y.R., Aleksandrov P.N. Effect of glycine on microcirculation in pial vessels of rat brain // *Bull. Experiment. Biol. Med.* – 2005. – Vol. 139, No. 6. – P. 675–677. DOI: 10.1007/s10517-005-0375-2
51. Podoprigora G.I., Nartsissov Y.R. Effect of glycine on the microcirculation in rat mesenteric vessels // *Bull. Experiment. Biol. Med.* – 2009. – Vol. 147, No. 3. – P. 308–311. DOI: 10.1007/s10517-009-0498-y
52. Podoprigora G.I., Blagosklonov O., Angoué O., Boulahdour H., Nartsissov Y.R. Assessment of microcirculatory effects of glycine by intravital microscopy in rats // *Annu. Int. Conf. IEEE Eng. Med. Biol. Soc.* – 2012. – Vol. 2012. – P. 2651–2654. DOI: 10.1109/EMBC.2012.6346509
53. Nartsissov Y.R., Tyukina E.S., Boronovsky S.E., Sheshegova E.V. Computer modeling of spatial-time distribution of metabolite concentrations in phantoms of biological objects by example of rat brain pial // *Biophysic.* – 2013. – Vol. 58, No. 5. – P. 703–711. DOI: 10.1134/S0006350913050102
54. Nartsissov Y.R. The Effect of Flux Dysconnectivity Functions on Concentration Gradients Changes in a Multicomponent Model of Convective Reaction-Diffusion by the Example of a Neurovascular Unit // *Defect and Diffusion Forum.* – 2021. – Vol. 413. – P. 19–28. DOI: 10.4028/www.scientific.net/DDF.413.19
55. Nartsissov Y.R. Application of a multicomponent model of convective reaction-diffusion to description of glucose gradients in a neurovascular unit // *Front. Physiol.* – 2022. – Vol. 13. – Art. ID: 843473. DOI: 10.3389/fphys.2022.843473
56. Blagosklonov O., Podoprigora G.I., Davani S., Nartsissov Y.R., Comas L., Boulahdour H., Cardot J.C. FDG-PET scan shows increased cerebral blood flow in rat after sublingual glycine application // *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research, Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment.* – 2007. – Vol. 571, No. 1–2. – P. 30–32. DOI: 10.1016/j.nima.2006.10.022
57. Yevenes G.E., Zeilhofer H.U. Allosteric modulation of glycine receptors // *Br. J. Pharmacol.* – 2011. – Vol. 164, No. 2. – P. 224–236. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2011.01471.x
58. Burgos C.F., Yevenes G.E., Aguayo L.G. Structure and pharmacologic modulation of inhibitory glycine receptors // *Molecular Pharmacology.* – 2016. – Vol. 90, No. 3. – P. 318–325. DOI: 10.1124/mol.116.105726
59. Tonshin A.A., Lobysheva N.V., Yaguzhinsky L.S., Bezgina E.N., Moshkov D.A., Nartsissov Y.R. Effect of the inhibitory neurotransmitter glycine on slow destructive processes in brain cortex slices under anoxic conditions // *Biochemistry (Mosc).* – 2007. – Vol. 72, No. 5. – P. 509–517. DOI: 10.1134/S0006297907050070
60. Lobysheva N.V., Selin A.A., Yaguzhinsky L.S., Nartsissov Y.R. Diversity of neurodegenerative processes in the model of brain cortex tissue ischemia // *Neurochem. Int.* – 2009. – Vol. 54, No. 5–6. – P. 322–329. DOI: 10.1016/j.neuint.2008.12.015
61. Селин А.А., Лобышева Н.В., Воронцова О.Н., Тоншин А.А., Ягужинский Л.С., Нарциссов Я.Р. Механизм действия глицина как протектора нарушения энергетики тканей мозга в условиях гипоксии // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* – 2012. – Т. 48, № 1. – С. 91–96.
62. Nesterov S.V., Yaguzhinsky L.S., Podoprigora G.I., Nartsissov Y.R. Amino Acids as Regulators of Cell Metabolism // *Biochemistry (Moscow).* – 2020. – Vol. 85, No. 4. – P. 393–408. DOI: 10.1134/S000629792004001X
63. Lobysheva N.V., Selin A.A., Vangeli I.M., Byvshev I.M., Yaguzhinsky L.S., Nartsissov Y.R. Glutamate induces H₂O₂ synthesis in nonsynaptic brain mitochondria // *Free Radic. Biol. Med.* – 2013. – Vol. 65. – P. 428–435. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.07.030
64. Skvortsova V.I., Nartsissov Y.R., Bodykhov M.K., Kichuck I.V., Pryanikova N.A., Gudkova Y.V., Soldatenkova T.D., Kondrashova T.T., Kalinina E.V., Novichkova M.D., Shutyeva A. B., Kerbikov O.B. Oxidative stress and oxygen status in ischemic stroke // *Zhurnal Nevrologii i Psihiatrii imeni S.S. Korsakova.* – 2007. – Vol. 107, No. 1. – P. 30–36.
65. Singh T.A., Sharma A., Tejwan N., Ghosh N., Das J., Sil P.C. A state of the art review on the synthesis, antibacterial, antioxidant, antidiabetic and tissue regeneration activities of zinc oxide nanoparticles // *Advan. Colloid Interface Sci.* – 2021. – Vol. 295. – Art. ID: 102495. DOI: 10.1016/j.cis.2021.102495
66. Faghfour A.H., Zarezadeh M., Aghapour B., Izadi A., Rostamkhani H., Majnoui A., Abu-Zaid A., Kord Varkaneh H., Ghoreishi Z., Ostadrahimi A. Clinical efficacy of zinc supplementation in improving antioxidant defense system: A comprehensive systematic review and time-response meta-analysis of controlled clinical trials // *Europ. J. Pharmacol.* – 2021. – Vol. 907. – Art. ID: 174243. DOI: 10.1016/j.ejphar.2021.174243
67. Melendes-Hevia E., De Paz-lugo P., Cornish-Bowden A., Luz Cardenas M. A weak link in metabolism: the metabolic capacity for glycine biosynthesis does not satisfy the

- need for collagen synthesis // *J. Biosci.* – 2009. – Vol. 34, No. 6. – P. 853–872. DOI: 10.1007/s12038-009-0100-9
68. Leung S., Croft R.J., O'Neill B.V., Nathan P.J. Acute high-dose glycine attenuates mismatch negativity (MMN) in healthy human controls // *Psychopharmacology.* – 2008. – Vol. 196, No. 3. – P. 451–460. DOI: 10.1007/s00213-007-0976-8
69. Ребров В.Г., Громова О.А. Витамины, макро- и микроэлементы. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 960 с.
70. Попова А.Ю., Тутельян В.А., Никитюк Д.Б. О новых (2021) Нормах физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации // *Вопросы питания.* – 2021. – Т 90, № 4. – С. 6–19. DOI: 10.33029/0042-8833-2021-90-4-6-19
71. Salgueiro M.J., Zubillaga M.B., Lysionek A.E., Caro R.A., Weill R., Boccio J.R. The role of zinc in the growth and development of children // *Nutrition.* – 2002. – Vol. 18, No. 6. – P. 510–519. DOI: 10.1016/s0899-9007(01)00812-7
72. Reiber C., Brieger A., Engelhardt G., Hebel S., Rink L., Haase H. Zinc chelation decreases IFN- β -induced STAT1 upregulation and iNOS expression in RAW 264.7 macrophages // *J. Trace Elem. Med. Biol.* – 2017. – Vol. 44. – P. 76–82. DOI: 10.1016/j.jtemb.2017.05.011
73. Bertolo R.F., Bettger W.J., Atkinson S.A. Divalent metals inhibit and lactose stimulates zinc transport across brush border membrane vesicles from piglets // *J. Nutr. Biochem.* – 2001. – Vol. 12, No. 2. – P. 73–80 DOI: 10.1016/S0955-2863(00)00126-1
74. Sharma A., Shilpa Shree B.G., Arora S., Tomar S.K. Lactose–Zinc complex preparation and evaluation of acceptability of complex in milk // *LWT – Food Science and Technology.* – 2015. – Vol. 64 (Issue 1). – P. 275–281. DOI: 10.1016/j.lwt.2015.05.056
75. Бекетова Г.В., Горячева И.П. Цинк и его влияние на здоровье человека в условиях пандемии COVID-19: что нового? // *Педиатрия. Восточная Европа.* – 2021. – Т. 9, № 1. – С. 8–20. DOI: 10.34883/Pl.2021.9.1.001
76. Fathi M., Alavinejad P., Haidari Z., Amani, R. The effects of zinc supplementation on metabolic profile and oxidative stress in overweight/obese patients with non-alcoholic fatty liver disease: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial // *J. Trace Elem. Med. Biol.* – 2020. – Vol. 62. – Art. ID: 126635 DOI: 10.1016/j.jtemb.2020.126635
77. Barbara M., Mindikoglu A.L. The role of zinc in the prevention and treatment of nonalcoholic fatty liver disease // *Metabol. Open.* – 2021. – Vol. 11. – Art. ID: 100105. DOI: 10.1016/j.metop.2021.100105
78. Osuna-Padilla I.A., Briceño O., Aguilar-Vargas A., Rodríguez-Moguel N.C., Villazon-De la Rosa A., Pinto-Cardoso S., Flores-Murrieta F.J., Perichart-Perera O., Tolentino-Dolores M., Vargas-Infante Y., Reyes-Terán G. Zinc and selenium indicators and their relation to immunologic and metabolic parameters in male patients with human immunodeficiency virus // *Nutrition.* – 2020. – Vol. 70. – Art. ID: 110585. DOI: 10.1016/j.nut.2019.110585
79. Koo S.I., Turk D.E. Effect of Zinc Deficiency on the Ultrastructure of the Pancreatic Acinar Cell and Intestinal Epithelium in the Rat // *J. Nutr.* – 1977. – Vol. 107, No. 5. – P. 896–908. DOI: 10.1093/jn/107.5.896
80. Pang W., Leng X., Lu H., Yang H., Song N., Tan L., Jiang Y., Guo C. Depletion of intracellular zinc induces apoptosis of cultured hippocampal neurons through suppression of ERK signaling pathway and activation of caspase-3 // *Neurosci. Lett.* – 2013. – Vol. 552. – P. 140–145. DOI: 10.1016/j.neulet.2013.07.057
81. Faber S., Zinn G. M., Kern J.C., Kingston H.M. The plasma zinc/serum copper ratio as a biomarker in children with autism spectrum disorders // *Biomarkers.* – 2009. – Vol. 14, No. 3. – P. 171–180. DOI: 10.1080/13547500902783747
82. Vela G., Stark P., Socha M., Sauer A., Hagemeyer S., Grabrucker A. Zinc in Gut-Brain Interaction in Autism and Neurological Disorders // *Neural Plast.* – 2015. – Vol. 2015. – P. 1–15. DOI: 10.1155/2015/972791
83. Grabrucker S., Jannetti L., Eckert M., Gaub S., Chhabra R., Pfaender S., Mangus K., Reddy P.P., Rankovic V., Schmeisser M.J., Kreutz M.R., Ehret G., Boeckers T.M., Grabrucker A.M. Zinc deficiency dysregulates the synaptic ProSAP/Shank scaffold and might contribute to autism spectrum disorders // *Brain.* – 2013. – Vol. 137, Part 1. – P. 137–152. DOI: 10.1093/brain/awt303
84. Громова О.А., П. А. В., Торшин И.Ю., Калачева А.Г., Гришина Т.Р. Нейротрофический и антиоксидантный потенциал нейропептидов и микроэлементов // *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика.* – 2015. – Т. 7, № 4. – P. 92–100. DOI: 10.14412/2074-2711-2015-4-92-100
85. Григорова О.В., Р. Л. В., Вазагаева Т.И., Максимова Л.Н., Нарциссов Я.Р. Эффективность терапии тревоги у пациентов, страдающих расстройством адаптации, на модели терапии глицином с учетом плацебо-реактивности // *Российский психиатрический журнал.* – 2012. – № 4. – С. 45–52.
86. Григорова О.В., Ромасенко Л.В., Файзуллоев А.З., Вазагаева Т.И., Максимова Л.Н., Нарциссов Я.Р. Применение Глицина в лечении пациентов, страдающих расстройством адаптации // *Практическая медицина.* – 2012. – Т. 57, № 2. – С. 178–182.

АВТОРЫ

Шишкова Вероника Николаевна – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник, руководитель отдела профилактики когнитивных и психоэмоциональных нарушений ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Минздрава России; доцент кафедры терапии и профилактической медицины ФГБОУ ВО МГМСУ имени А.И. Евдокимова Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-1042-4275. E-mail: veronika-1306@mail.ru

Нарциссов Ярослав Рюрикович – кандидат физико-математических наук, доцент по специальности «Биофизика», заведующий сектором математического моделирования и статистической

обработки результатов НИИ цитохимии и молекулярной фармакологии; руководитель группы биомедицинских исследований, BiDiPharma GmbH, Германия. ORCID ID: 0000-0001-9020-7686. E-mail: yarosl@biotic.dol.ru

Титова Виктория Юрьевна – младший научный сотрудник сектора математического моделирования и статистической обработки результатов НИИ цитохимии и молекулярной фармакологии. ORCID ID: 0000-0002-4741-2331. E-mail: victorinchik@gmail.com

Шешегова Елена Викторовна – кандидат фармацевтических наук, заведующая сектором экспериментальной фармакологии НИИ цитохимии и молекулярной фармакологии. ORCID ID: 0000-0003-1796-3017. E-mail: elshesh@yandex.ru

УДК 615.015



КОНВЕНЦИОНАЛЬНЫЕ ПОДХОДЫ К ТЕРАПИИ НАСЛЕДСТВЕННЫХ МИОПАТИЙ

М.В. Покровский¹, М.В. Корокин¹, А.М. Краюшкина¹, Н.С. Жунусов¹, К.Н. Лапин²,
М.О. Солдатова³, Е.А. Кузьмин⁴, О.С. Гудырев¹, И.С. Кочкарлова¹, А.В. Дейкин¹

¹ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» 308015, Россия, г. Белгород, ул. Победы, д. 85

² Научно-исследовательский институт общей реаниматологии имени В.А. Неговского Федерального научно-клинического центра реаниматологии и реабилитологии 107031, Россия, г. Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации 305041, Россия, г. Курск, ул. Карла Маркса, д. 3

⁴ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) 11999, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

E-mail: mkorokin@mail.ru

Получена 05.09.2022

После рецензирования 10.10.2022

Принята к печати 25.10.2022

Цель. Проанализировать доступные терапевтические опции для конвенциональной терапии наследственных миопатий.

Материалы и методы. При поиске материала для написания обзорной статьи использовали такие реферативные базы данных, как PubMed и Google Scholar. Поиск осуществлялся по публикациям за период с 1980 г. по сентябрь 2022 г. Параметрами для отбора литературы были выбраны следующие слова и их сочетания: “myopathy”, “Duchenne”, “myodystrophy”, “metabolic”, “mitochondrial”, “congenital”, “symptoms”, “replacement”, “recombinant”, “corticosteroids”, “vitamins”, “tiraseptiv”, “therapy”, “treatment”, “evidence”, “clinical trials”, “patients”, “dichloracetate”.

Результаты. Врожденные миопатии представляют собой гетерогенную группу патологий, которые вызваны атрофией и дегенерацией мышечных волокон вследствие мутаций в генах. На основании ряда клинических и патогенетических особенностей наследственные миопатии разделяют на: 1) врожденные миопатии; 2) мышечные дистрофии; 3) митохондриальные и 4) метаболические миопатии. При этом, подходы к лечению значительно варьируют в зависимости от типа миопатии и могут быть основаны на 1) замещении мутантного белка; 2) увеличении его экспрессии 3) стимуляции экспрессии внутренних компенсаторных путей; 4) восстановлении баланса соединений, связанных с функцией мутантного белка (для ферментов); 5) воздействии на функцию митохондрий (при метаболических и митохондриальных миопатиях); 6) снижении воспаления и фиброза (при мышечных дистрофиях); а также на 7) увеличении мышечной массы и силы. В текущем обзоре представлены современные данные о каждом из перечисленных подходов, а также конкретные фармакологические агенты с описанием их механизмов действия.

Заключение. В настоящее время для лечения разных типов миопатий используются или проходят клинические исследования следующие фармакологические группы: инотропные, противовоспалительные и антифибротические препараты, антимиостатиновая терапия и препараты, способствующие трансляции через стоп-кодоны (применима при нонсенс-мутациях). Кроме того, для лечения миопатий могут быть применены метаболические препараты, кофакторы метаболических ферментов, стимуляторы митохондриального биогенеза и антиоксиданты. Наконец, клинически одобрены рекомбинантные препараты алглукозидаза и авалглукозидаза для заместительной терапии метаболических миопатий (болезнь Помпе).

Ключевые слова: наследственные миопатии; миодистрофия Дюшенна; метаболическая терапия; фармакологическая коррекция

Список сокращений: ЭТЦ – электронно-транспортная цепь; мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота; тРНК – транспортная рибонуклеиновая кислота; миРНК – малая интерферирующая рибонуклеиновая кислота; НАД – никотинамидадениндинуклеотид; ФАД – флавинадениндинуклеотид; НАДФ – никотинамидадениндинуклеотидфосфат; АТФ – аденозинтрифосфат; АДФ – аденозиндифосфат; CTGF – фактор роста соединительной ткани; TGFβ – трансформирующий фактор роста-бета; НПВП – нестероидные противовоспалительные препараты; XLMTM – X-сцепленная миотубулярная миопатия; ЦТК – цикл трикарбоновых кислот; ФНО-α – фактор некроза опухоли-альфа; CTGF/CCN2 – фактор роста соединительной ткани.

Для цитирования: М.В. Покровский, М.В. Корокин, А.М. Краюшкина, Н.С. Жунусов, К.Н. Лапин, М.О. Солдатова, Е.А. Кузьмин, О.С. Гудырев, И.С. Кочкарлова, А.В. Дейкин. Конвенциональные подходы к терапии наследственных миопатий. *Фармация и фармакология*. 2022;10(5):416-431. DOI: 10.19163/2307-9266-2022-10-5-416-431

© М.В. Покровский, М.В. Корокин, А.М. Краюшкина, Н.С. Жунусов, К.Н. Лапин, М.О. Солдатова, Е.А. Кузьмин, О.С. Гудырев, И.С. Кочкарлова, А.В. Дейкин, 2022

For citation: M.V. Pokrovsky, M.V. Korokin, A.M. Krayushkina, N.S. Zhunusov, K.N. Lapin, M.O. Soldatova, E.A. Kuzmin, O.S. Gudyrev, I.S. Kochkarova, A.V. Deikin. Conventional approaches to the therapy of hereditary myopathies. *Pharmacy & Pharmacology*. 2022;10(5):416-431. DOI: 10.19163/2307-9266-2022-10-5-416-431

CONVENTIONAL APPROACHES TO THE THERAPY OF HEREDITARY MYOPATHIES

M.V. Pokrovsky¹, M.V. Korokin¹, A.M. Krayushkina¹, N.S. Zhunusov¹, K.N. Lapin²,
M.O. Soldatova³, E.A. Kuzmin⁴, O.S. Gudyrev¹, I.S. Kochkarova¹, A.V. Deikin¹

¹ Belgorod State National Research University,
85, Pobeda Str., Belgorod, Russia, 308015

² V.A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology,
Federal Scientific and Clinical Center for Resuscitation and Rehabilitology,
Bld. 2, 25, Petrovka Str., Moscow, Russia, 107031

³ Kursk State Medical University,
3, Karl Marx Str., Kursk, Russia, 305041

⁴ Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University),
Bld. 2, 8, Trubetskaya Str., Moscow, Russia, 119991

E-mail: mkorokin@mail.ru

Received 05 Sep 2022

After peer review 10 Oct 2022

Accepted 25 Oct 2022

The aim of the work was to analyze the available therapeutic options for the conventional therapy of hereditary myopathies.

Materials and methods. When searching for the material for writing a review article, such abstract databases as PubMed and Google Scholar were used. The search was carried out on the publications during the period from 1980 to September 2022. The following words and their combinations were selected as parameters for the literature selection: "myopathy", "Duchenne", "myodystrophy", "metabolic", "mitochondrial", "congenital", "symptoms", "replacement", "recombinant", "corticosteroids", "vitamins", "tirasemtiv", "therapy", "treatment", "evidence", "clinical trials", "patients", "dichloracetate".

Results. Congenital myopathies are a heterogeneous group of pathologies that are caused by atrophy and degeneration of muscle fibers due to mutations in genes. Based on a number of clinical and pathogenetic features, hereditary myopathies are divided into: 1) congenital myopathies; 2) muscular dystrophy; 3) mitochondrial and 4) metabolic myopathies. At the same time, treatment approaches vary significantly depending on the type of myopathy and can be based on 1) substitution of the mutant protein; 2) an increase in its expression; 3) stimulation of the internal compensatory pathways expression; 4) restoration of the compounds balance associated with the mutant protein function (for enzymes); 5) impact on the mitochondrial function (with metabolic and mitochondrial myopathies); 6) reduction of inflammation and fibrosis (with muscular dystrophies); as well as 7) an increase in muscle mass and strength. The current review presents current data on each of the listed approaches, as well as specific pharmacological agents with a description of their action mechanisms.

Conclusion. Currently, the following pharmacological groups are used or undergoing clinical trials for the treatment of various myopathies types: inotropic, anti-inflammatory and antifibrotic drugs, antimyostatin therapy and the drugs that promote translation through stop codons (applicable for nonsense mutations). In addition, metabolic drugs, metabolic enzyme cofactors, mitochondrial biogenesis stimulators, and antioxidants can be used to treat myopathies. Finally, the recombinant drugs alglucosidase and avalglucosidase have been clinically approved for the replacement therapy of metabolic myopathies (Pompe's disease).

Keywords: hereditary myopathies; Duchenne's muscle dystrophy; metabolic therapy; pharmacological correction

Abbreviations: ETC – electronic transport chain; mRNA – matrix ribonucleic acid; tRNA – transport ribonucleic acid; siRNAs – small interfering ribonucleic acids; NAD, nicotinamide-adenine dinucleotide; FAD – flavin adenine dinucleotide; NADP – nicotinamide adenine dinucleotide phosphate; ATP – adenosine triphosphate; ADP – adenosine diphosphate; CTGF – connective tissue growth factor; TGFβ – transforming growth factor-beta; NSAIDs – non-steroidal anti-inflammatory drugs; XLMTM – X-linked myotubular myopathy; TCA – tricarboxylic acid cycle; TNF-α – tumor necrosis factor-alpha; CTGF/CCN2 – connective tissue growth factor.

ВВЕДЕНИЕ

Наследственные миопатии представляют собой клинически, гистологически и генетически гетерогенную группу мышечных патологий, которые вызваны атрофией и дегенерацией поперечнополосатых мышц вследствие мутаций в генах, роль которых тесно связана с функционированием миоцитов. Чаще всего белки, кодируемые этими генами, участвуют в образовании или поддержании структурной

целостности цитоскелета и плазматической мембраны. При этом миопатии, связанные с патологией белков цитоскелета, характеризуются прогрессирующим течением (мышечные дистрофии), а миопатии, вызванные потерей функции мембранных белков, проявляются в полной мере уже с рождения (врожденные миопатии). Кроме того, наследственные миопатии могут быть вызваны мутациями в генах, связанных с работой митохондрий (митохондриальные миопатии), или

генами, кодирующими ферменты внутриклеточного обмена веществ (метаболические миопатии) [1].

Первоначально, классификации наследственных миопатий были основаны на клинической картине или типичных гистологических признаках, обнаруживаемых в биоптатах мышечной ткани. Однако, согласно современным рекомендациям, диагноз миопатии должен сопровождаться данными молекулярно-генетических исследований. Помимо прецизионной диагностики, подобный подход приводит к расширению списка генетических коррелятов нозологической группы [2].

ЦЕЛЬ. Проанализировать доступные терапевтические опции для конвенциональной терапии наследственных миопатий.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

При поиске материала для написания обзорной статьи использовали такие реферативные базы данных, как PubMed и Google Scholar. Поиск осуществлялся по публикациям за период с 1980 г. по сентябрь 2022 г. Параметрами для отбора литературы были выбраны следующие слова и их сочетания: “myopathy”, “Duchenne”, “myodystrophy”, “metabolic”, “mitochondrial”, “congenital”, “symptoms”, “replacement”, “recombinant”, “corticosteroids”, “vitamins”, “tirasemtiv”, “therapy”, “treatment”, “evidence”, “clinical trials”, “patients”, “dichloracetate”.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

1. Общая характеристика наследственных миопатий

Наиболее типичными симптомами миопатий являются мышечная слабость, миалгии, миопения, непереносимость физической нагрузки. Клиническая картина миопатий может варьировать от бессимптомных форм с повышением сывороточных значений креатинкиназы и увеличением склонности к гипертермии до тяжелых форм, приводящих к скелетным деформациям, а также дыхательной и сердечной недостаточности. Группы пораженных мышц могут значительно отличаться: от изолированного поражения глазодвигательных мышц [3] до системной мышечной атрофии с вовлечением миокарда и диафрагмы. Вариабельность клинических признаков связана как с разнообразием каузативных генов, так и со степенью утраты их функции. Например, тяжелый мышечный фенотип при болезни Дюшенна ассоциирован с психоневрологическими нарушениями [4], а мышечные симптомы при дефиците фосфофруктокиназы (болезнь Таруи) сопровождаются гемолитической анемией и гиперурикемией [5]. Особенно высокой клинической гетерогенностью характеризуются митохондриальные миопатии [6]. Поскольку митохондриальная дисфункция зачастую сопровождается мультисистемными нарушениями, в

патологический процесс могут вовлекаться нервная, пищеварительная, мочевыделительная, сердечно-сосудистая, эндокринная и репродуктивная системы, а также органы зрения и слуха (табл. 1).

1.1. Мышечные дистрофии

Идентифицировано более 30 мышечных дистрофий, самыми распространенными из которых являются дистрофия Дюшенна, плечелопаточно-лицевая дистрофия, дистрофия Беккера, пояснично-конечностная и миотоническая дистрофия. Этиологически эти заболевания весьма гетерогенны. Например, дистрофия Дюшенна и дистрофия Беккера вызваны мутациями дистрофина, в то время как пояснично-конечностные мышечные дистрофии могут быть вызваны нарушением функции кальпаина, дисферлина, саркогликана, ламина, аноктамина и др. [7]. Во всех случаях обычно обнаруживаются ранние признаки дегенерации, а затем регенерации некоторых мышечных волокон. Те волокна, которые регенерируют, становятся больше, чем обычно, и, в конечном итоге, мышцы практически полностью заменяются фиброзной рубцовой тканью и жиром.

Наиболее классический тип таких мышечных нарушений – дистрофия Дюшенна. Она вызвана мутациями со сдвигом рамки считывания в гене MDD, кодирующем белок дистрофин, который является плазмалемма-ассоциированным белком, играющим критическую роль в стабилизации сарколеммы при механических сдвигах во время сокращения или растяжения мышц [8, 9]. Отсутствие дистрофина приводит к снижению резистентности сарколеммы и последующему некрозу мышечных волокон [10]. Разрушение мышечных волокон усугубляется механическим стрессом и улучшается при иммобилизации мышц [11, 12]. Таким образом, накопление поврежденных мышечных волокон является причиной прогрессирующего течения миодистрофии Дюшенна. При этом точные молекулярные механизмы, с помощью которых дистрофин играет роль механического стабилизатора, все еще неясны [13].

1.2. Врожденные миопатии

В отличие от мышечных дистрофий, врожденные миопатии манифестируют уже в неонатальном периоде [14]. Это связано с тем, что функция дефектных белков связана не с поддержанием целостности уже дифференцированных миоцитов, а со структурной организацией мышечной ткани еще на этапе гистогенеза. В основном это белки, задействованные в формировании цитоскелета или межклеточного вещества. В то же время это могут быть такие многофункциональные белки как миотубуларин, который участвует в переносе эндосом, сопряжении возбуждения и сокращения, организации промежуточных филаментов и апоптозе.

Несмотря на то, что точная эпидемиология врожденных миопатий неизвестна, по оценкам исследователей их частота составляет около 1:25000 [15]. Классификация врожденной миопатии постоянно пересматривается по мере того, как идентифицируется все больше генов, связанных с ее различными фенотипическими и гистологическими проявлениями. На данный момент она продолжает основываться главным образом на особенностях, наблюдаемых при биопсии мышц [16]. В соответствии с этим, врожденную миопатию можно разделить на следующие пять форм: немалиновая миопатия; сердечная миопатия; центронуклеарная миопатия; врожденная миопатия диспропорции типа волокон; миопатия накопления миозина.

Клинически врожденные миопатии проявляются мышечной гипотонией и слабостью, присутствующими при рождении или появляющимися в младенчестве и не прогрессирующими в течение жизни. В зависимости от причинного гена и характера мутации, клинический спектр варьирует от тяжелых неонатальных форм с врожденным артрогрипозом до легких форм с изолированной гипостенией [14, 16]. В неонатальном периоде симптомы, как правило, более выражены и могут заключаться в уменьшении движений плода и последующем развитии артрогрипоза и косолапости. Тяжелая мышечная гипотония часто присутствует при рождении и в первые месяцы жизни (признак вялого ребенка) вместе с лягушачьей позой, затруднением сосания и дыхательной недостаточностью [17].

1.3. Метаболические миопатии

Метаболические миопатии связаны с мутациями генов, кодирующих ферменты энергетического обмена. Биохимические нарушения включают нарушения окисления жирных кислот, глюкозы или гликогена. В результате функциональные резервы мышечной ткани снижаются, что проявляется гипотонией, повышенной утомляемостью, миалгией, судорогами, эпизодами рабдомиолиза и т.д. [18]. При этом для дефектов утилизации жирных кислот характерна низкая толерантность к длительным упражнениям на выносливость, в то время как нарушения обмена глюкозы и гликогена проявляются непереносимостью быстрых высокоинтенсивных нагрузок [19]. Также отдельным признаком миопатий, связанных с мутациями гликогенолитических ферментов, является накопление внутриклеточных включений гликогена [20].

1.4. Митохондриальные миопатии

Патогенетическим базисом митохондриальных миопатий является нарушение процессов энергетического обмена вследствие дефектов окислительного фосфорилирования. В этой связи некоторые авторы рассматривают

митохондриальные миопатии как подтип метаболических. Тем не менее ряд особенностей наследования и патогенеза, а также некоторые клинические признаки позволяют выделить их в отдельную группу. Так, митохондриальные миопатии всегда связаны с нарушением функционирования электронно-транспортной цепи (ЭТЦ), причем чаще всего с дефектами работы комплекса 1 [21–23]. Кроме того, митохондриальные миопатии могут быть вызваны мутациями как ядерных, так и митохондриальных генов. В случае мутаций митохондриальной ДНК наследование происходит почти исключительно только по материнской линии [24]. Степень выраженности симптомов определяется не только патогенностью мутации, но и количеством копий мутантной митохондриальной ДНК, которые организм унаследовал от матери [25]. Дело в том, что митохондриальный геном гетерогенен (феномен гетероплазмии) и наряду с мутантными в клетке всегда присутствуют здоровые митохондрии. Таким образом, доля дефектных митохондрий определяется случайным образом при случайном распределении митохондрий между дочерними клетками, что получило название феномен «бутылочного горлышка» [26].

В общих терминах митохондриальные миопатии – это митохондриальные заболевания, в спектре клинических манифестаций которых присутствуют выраженные симптомы со стороны мышечной ткани. Митохондриальные миопатии характеризуются прогрессирующим течением и широким спектром сопутствующих симптомов, включая эпилепсию, нейропатию, сенсорные нарушения и др. [27].

2. Лечение наследственных миопатий

Лечение наследственных миопатий широко варьирует в зависимости от типа и конкретного заболевания. Значительную долю терапевтических вмешательств при лечении пациентов с миопатиями занимают подходы, основанные на диете, лечебной физкультуре и массаже. Например, при метаболических миопатиях, связанных с нарушением утилизации глюкозы, важнейшим терапевтическим подходом является кетогенная диета с ограничением поступления углеводов [53]. При коррекции врожденных миопатий пациентам рекомендованы контролируемые физические нагрузки, а также использование специальных корсетов для предотвращения развития костных деформаций.

Фармакологические подходы занимают важное место как в симптоматической и поддерживающей, так и в патогенетически-ориентированной терапии. Кроме того, высокие темпы развития антисмысловой и генной терапии позволяют в последнее время акцентировать внимание на этиотропных подходах в лечении пациентов с миопатиями.

Таблица 1 – Общая клиническая характеристика наследственных миопатий

Группа врожденных миопатий	Примеры заболеваний	Клинические проявления	Белки с нарушенной функцией	Патогенез
Мышечные дистрофии	Миопатия Мюшши	Слабость дистальных скелетных мышц Повышение уровня креатинкиназы крови Первые симптомы возникают в подростковом возрасте [28, 29]	Дисферлин [30]	Дисферлин является линкерным мембрана-ассоциированным белком, функция которого заключается в опосредовании кальций-зависимой регенерации механических повреждений сарколеммы. При мутациях, нарушающих функцию дисферлина, происходит накопление поврежденных сарколеммы, что ведет к прогрессирующей дистрофии скелетных мышц [31].
	Поясно-конечностная мышечная дистрофия типа 2В (LGMD2В)	Слабость проксимальных скелетных мышц Повышение уровня креатинкиназы крови Манифестация в возрасте от 10 до 30 лет [32, 33]		
Врожденные миопатии	Мимодистрофия Дюшенна	Мышечная гипотония Сердечная недостаточность Затруднение дыхания Дебют в раннем постнатальном или постнатальном возрасте Смерть в возрасте до 20 лет [34, 35]	Дистрофин [36]	Дистрофин участвует в механической стабилизации сарколеммы. В случае утраты белкового продукта дисферлина вследствие крупных делеций или сдвига рамки считывания, сарколемма становится уязвимой к механическим деформациям, возникающим при сокращении или растяжении мышц [37] Поскольку дистрофин играет важную роль в процессах митотического деления, при болезни Дюшенна нарушается клеточная полярность и миогенная дифференцировка стволовых клеток. Стволовые клетки, лишенные функционального дистрофина, подвергаются aberrantному асимметричному делению с амплификацией центросом, ошибками ориентации веретена и удлинением клеточным циклом [38, 39]. МУН7 является основной изоформой миозина в медленных окислительных мышечных волокнах 1 типа скелетных мышц и миокарда. Многочисленные миссенс-мутации в глобулярной головке МУН7 приводят к нарушению структурной функции белка и образованию крупных включений, состоящих из цепей миозина.
	Миопатия накопления миозина	Мышечная гипотония Гипертрофическая или дилатационная кардиомиопатия Манифестация в неонатальном или постнатальном периоде	МУН7 (Пяжелая цепь медленного/ β -кардиального миозина)	
Метаболические миопатии	Мышечная дистрофия Бетлема	Слабость проксимальных мышц Контрактура суставов Гипотония прогрессирует медленно, и более двух третей больных старше 50 лет продолжают передвигаться самостоятельно Возможно поражение дыхательных мышц [40]	Коллаген VI типа	Коллаген VI представляет собой белок внеклеточного матрикса, образующий микрофибрилярную сеть. Белок состоит из трех разных α -цепей, кодируемых отдельными генами, названными COL6A1, COL6A2 и COL6A3 у человека. Потенциальные эффекты на мышцы включают прогрессирующие дистрофические изменения, фиброз и признаки повышенного апоптоза [41].
	Болезнь Помпе	Мышечная гипотония Гепатомегалия Сердечная недостаточность Неврологические нарушения Дебют в любом возрасте (раннее начало коррелирует с более тяжелым течением) [42]	Кислая мальтаза [43]	После попадания в лизосомы посредством взаимодействия с маннозо-6-фосфатным рецептором кислая мальтаза опосредует каталитическое расщепление гликогена [44]. Обнаружено более, чем 500 мутаций, включая инсерции, делеции, мутации сайтов сплайсинга, нонсенс- и миссенс-мутации, которые нарушают функциональную активность кислой мальтазы, приводя к гликогену и энергетическому дефициту мышечной ткани [45, 46].
Митохондриальные миопатии	Болезнь Таруи	Мышечная слабость Мышечные судороги Энцефалопатия Гемолитическая анемия Риск рабдомиолиза Дебют в любом возрасте [47]	Фосфофруктокиназа [48]	Фосфофруктокиназа катализирует перенос фосфатной группы от АТФ к фруктозо-6-фосфату, что является одним из ключевых элементов гликолиза. У человека идентифицированы три изофермента, названные М (мышцы), L (печень) и Р (тромбоциты). Мутации в фосфофруктокиназе-М приводят к мышечной слабости из-за энергетического дефицита в работающих мышцах [49].
	Миколонус-эпилепсия с миопатией и сенсорной атаксией (MEMSA)	Проксимальная и/или дистальная миопатия Мышечная гипотония Миофоническая эпилепсия Энцефалопатия Сенсорная атаксия Дебют в любом возрасте [50]	Полимераза гамма (POLG) [51]	Полимераза гамма является ключевым ферментом репликации митохондриальной ДНК. Мутации в гене POLG приводят к возникновению энергетического дефицита за счет накопления дефектных митохондрий и уменьшения количества копий мтДНК (источение мтДНК), особенно в клетках мышц, головного мозга или печени [52].

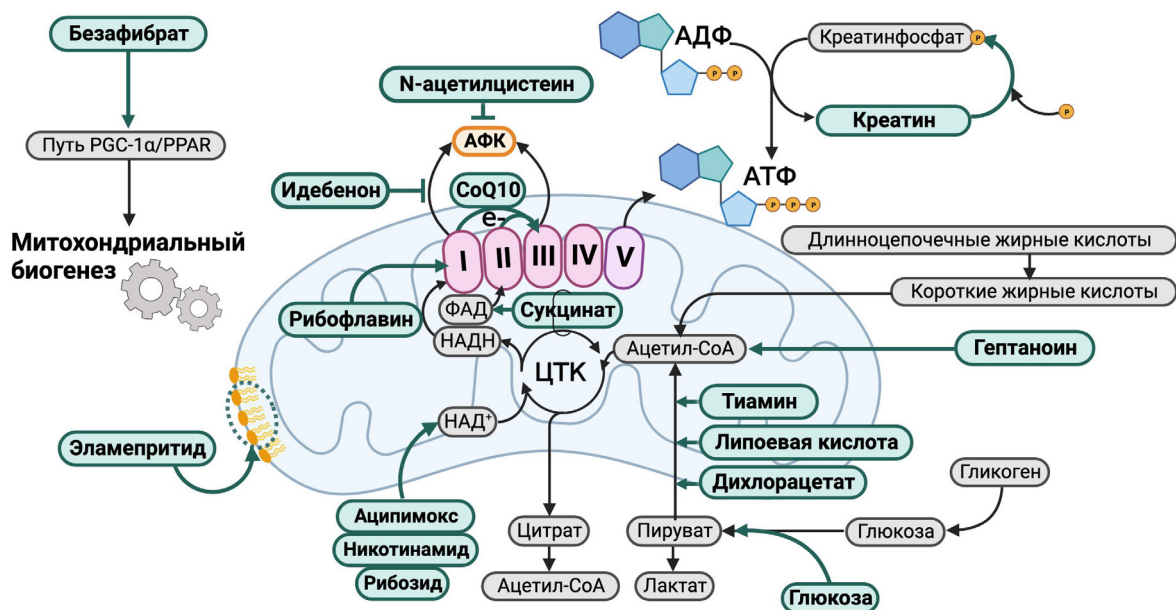


Рисунок 1 – Классические фармакологические методы компенсации неадекватного функционирования митохондрий

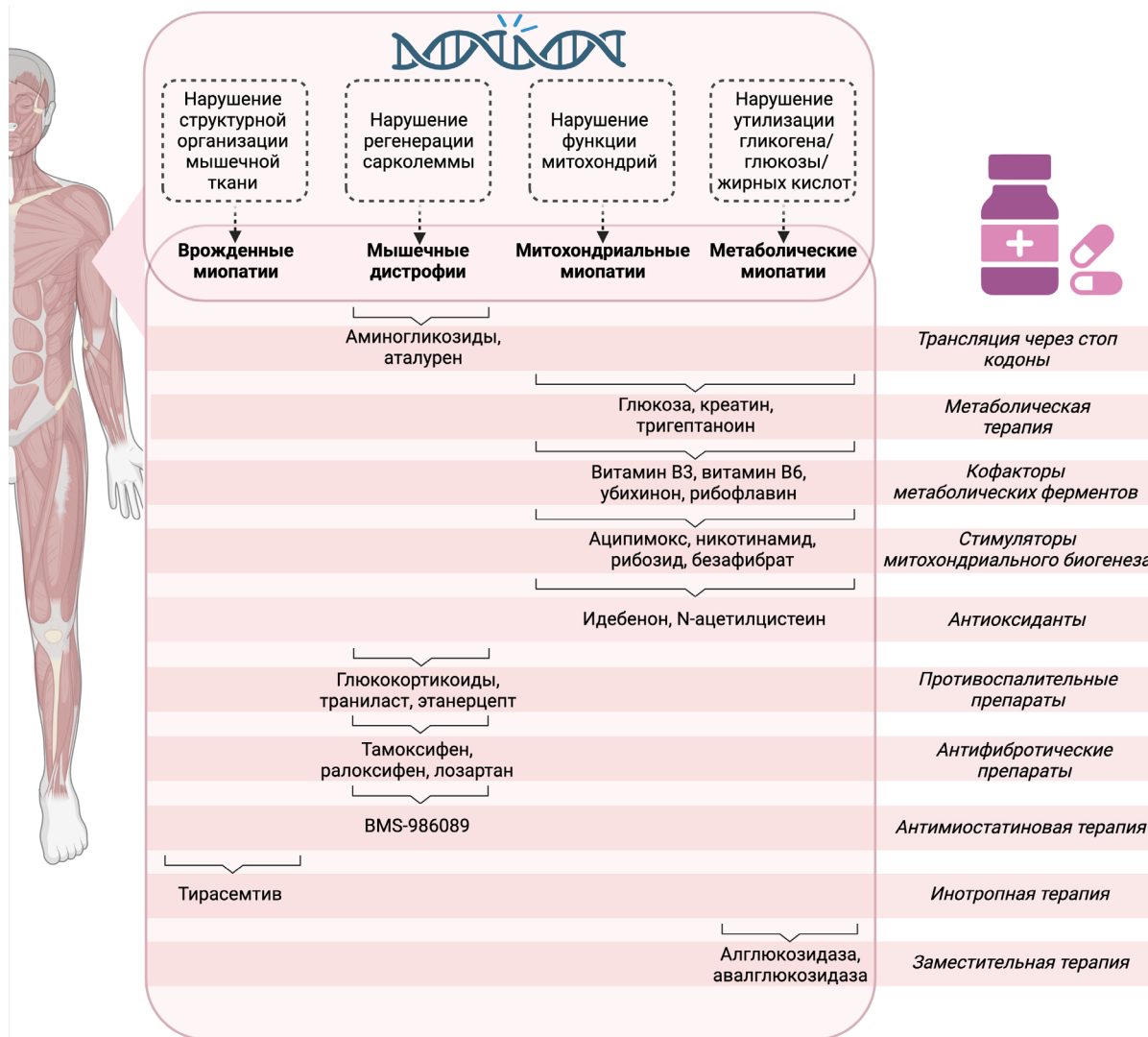


Рисунок 2 – Варьирование существующих фармакологических методов коррекции наследственных миопатий в зависимости от типа заболевания

Как и для большинства моногенных заболеваний, связанных с потерей функции гена, конвенциональная специфическая терапия может быть направлена на: 1) замещение мутантного белка; 2) увеличение его экспрессии; 3) стимуляцию экспрессии внутренних компенсаторных путей; 4) восстановление баланса соединений, связанных с функцией мутантного белка (для ферментов).

2.1. Замещение мутантного белка

В настоящее время ряд рекомбинантных ферментов был одобрен для специфической терапии миопатий. Один из одобренных подходов – ферментозаместительная терапия гликогеноза типа II (болезнь Помпе) рекомбинантной человеческой алглюкозидазой альфа (rhGAA; Myozyme® (ex-US) и Lumizyme® (США), которая доступна с 2006 года или авалглюкозидазой альфа (NEXVIAZYME™; avalglucosidase alfa-ngpt) доступной с 2021 года [54, 55].

Очевидно, что заместительная терапия рекомбинантными формами белков не является основной стратегией, поскольку большинство экзогенных белков не могут проникнуть внутриклеточно для осуществления своих функций. Тем не менее, подходы к прямой модификации белков и пептидов для улучшения цитозольной транслокации продолжают оставаться многообещающим методом повышения эффективности доставки и расширения жизнеспособности внутриклеточных белковых терапевтических средств. Среди подходов к улучшению цитозольной доставки экзогенных белков были предложены такие, как химическая перезарядка или включение мотивов внутриклеточной интернализации [56]. Например, ферментозаместительная терапия модифицированным рекомбинантным белком была предложена для лечения X-сцепленной миотубулярной миопатии. В доклиническом исследовании на мышах Mtm1 $\delta 4$ с нокаутом гена миотубуларина, заместительная терапия рекомбинантным белком 3E10Fv-MTM1 (0,1 мг/кг) в переднюю большеберцовую мышцу два раза в неделю значительно улучшала мышечные функции [57].

2.2. Увеличение экспрессии

Некоторые нуклеотидные замены, получившие название нонсенс-мутации, приводят к образованию стоп-кодона в кодирующем участке гена, в результате чего происходит преждевременная терминация синтеза нужного белка. Кроме того, мРНК, образующаяся в результате нонсенс-мутаций, дестабилизируется нонсенс-опосредованным распадом [58]. Подобные мутации достаточно часто являются причиной наследственных миопатий. Такие мутации обнаруживаются примерно у 10% пациентов с миодистрофией Дюшенна [59] и у 20% лиц с X-сцепленной миотубулярной миопатией (XLMTM) [60].

Для восстановления экспрессии полной аминокислотной последовательности были предложены препараты, форсирующие считывание терминирующих кодонов [61]. Например, аминокликозиды, содержащие 2-дезоксистрептаминовое кольцо, связываются с малой рибосомальной субъединицей РНК, снижая точность трансляции [62]. Это свойство позволило предложить использование аминокликозидов для терапии миодистрофии Дюшенна [63] и ряда других моногенных заболеваний, вызванных мутациями преждевременного стоп-кодона [64, 65].

Однако серьезные побочные эффекты аминокликозидов, такие как нефро- и ототоксичность, ограничивают возможность их длительного применения. В этой связи были предложены альтернативные средства, включая супрессорные тРНК и малые интерферирующие РНК (миРНК) [66] и аталурен [67]. При этом в настоящее время только аталурен одобрен для клинического использования [68].

Теоретически подход форсирования терминации может помочь в лечении всех наследственных миопатий, связанных с преждевременными стоп-кодонами. Восстановление трансляции не всегда приводит к образованию функционального белка, что, по всей видимости, связано с нарушением внутриклеточного трафика и посттрансляционных модификаций продукта [69]. На сегодняшний день стратегия форсирования терминации одобрена для применения только при нонсенс-мутациях, вызывающих миодистрофию Дюшенна. Кроме того, несмотря на высокую долю нонсенс мутаций при миопатиях, их гетерогенность и низкая распространенность каждого конкретного заболевания в общей популяции затрудняют проведение полноценных клинических исследований [57].

2.3. Стимуляция экспрессии внутренних компенсаторных путей

В ряде случаев снижение или отсутствие экспрессии белка может быть частично компенсировано за счет гиперактивации внутренних путей, способных функционально смягчить дефект. Например, выраженность мышечной патологии при дефектах дистрофина может быть снижена за счет миогенной стимуляции, приводящей к увеличению экспрессии структурных белков миоцитов. Неклинические исследования демонстрируют, что ингибиторы гистоновых деацетилаз оказывают выраженный терапевтический эффект при некоторых миопатиях. По всей видимости, за счет регулирующей активности в отношении эпигенетических модификаций подобные соединения увеличивают активность миогенной дифференцировки предшественников миоцитов. В исследованиях *in vitro* было обнаружено, что ингибиторы гистоновых деацетилаз усиливают миогенез и образование скелетных мышечных

трубок увеличенного размера [70, 71]. При введении мышам с дистрофией препараты оказывали аналогичные положительные эффекты. У мышей mdx ингибиторы увеличивали площадь поперечного сечения миофибрилл, уменьшая гистологические признаки воспаления и ремоделирования [72]. Интересно, что среди соединений с ингибирующей активностью в отношении гистоновых деацетилаз можно выделить такие широко известные препараты, как трихостатин А и вальпроевая кислота. При этом методами вычислительной биологии было показано, что трихостатин А обладает способностью ослаблять посттранскрипционную репрессию утروفина, который имеет значительное сходство последовательности и функциональных мотивов с дистрофином, включая способность связывать тот же самый дистрофин-ассоциированный гликопротеиновый комплекс [73, 74]. Утрофин экспрессируется на высоких уровнях в тканях плода и подавляется в ходе развития у взрослых. Было обнаружено, что у мышей запрограммированное в эмбриогенезе снижение уровня утروفина соответствует началу некроза мышц [75]. При этом генотерапевтические подходы, направленные на доставку утروفина значительно улучшают состояние мышей с миодистрофией Дюшенна [76]. В настоящее время трихостатин А проходит клинические испытания как средство для лечения миодистрофии Дюшенна. При этом специфический модулятор утروفина эзутромида/SMT C1100 продемонстрировал неудовлетворительные результаты в клинических испытаниях фазы II и был отозван [77]. В настоящее время поиски оптимального кандидата для повышения экспрессии утروفина продолжаются [78].

2.4. Восстановление баланса соединений, связанных с функцией мутантного белка

В некоторых случаях, помимо восстановления дефицита самого белка, может быть использована стратегия доставки соединений, связанных с его каталитической функцией (Рис. 1). Очевидно, что подобный подход может быть реализован только при метаболических и митохондриальных миопатиях, где причиной заболевания является выключение функции фермента метаболического обмена, а не структурного белка или киназы. Основной принцип данного подхода базируется на том, что применение экзогенного метаболита компенсирует его эндогенный дефицит, восстанавливая эффективность всей биохимической цепи. Например, с 1960-х годов известно, что внутривенное введение глюкозы улучшает толерантность к физической нагрузке у пациентов с болезнью Мак-Ардила, связанной с дефектом превращения гликогена в глюкозу [79]. Глюкозотерапия также эффективна при некоторых других заболеваниях, связанных с мутациями проксимальных ферментов катаболизма

гликогена [80–82]. Другой пример – применение тригептаноина, синтетического триглицерида средней длины, который восстанавливает энергоэффективность окисления длинноцепочечных жирных кислот при мутациях проксимальных ферментов катаболизма [83]. Тригептаноин продемонстрировал значительное улучшение сердечных и мышечных симптомов у пациентов с синдромом VLCAD и у пациентов с дефицитом карнитинпальмитоилтрансферазы 2 [84, 85]. В ряде случаев, эффективной стратегией также является увеличение концентрации соединений, служащих субстратами шунтирующего или альтернативного биохимического каскада. Таким образом, например, при дефекте образования АТФ по пути окисления жирных кислот, увеличение концентрации глюкозы может компенсировать суммарный энергетический дефицит за счет гликолиза [86]. Подобный эффект может быть достигнут при применении креатина. Креатин представляет собой аминокислоту скелетных мышц, которая служит субстратом для образования креатинфосфата, донора фосфатной группы для превращения АДФ в АТФ ферментом креатинкиназой. В ряде исследований, введение экзогенного креатина показало терапевтический эффект в отношении мышечных симптомов при метаболических миопатиях [62, 63].

2.5. Митотропные препараты

Для частичной компенсации нарушений, вызванных дисфункцией одного из метаболических путей, могут быть использованы различные кофакторы, включая рибофлавин, коэнзим Q10, витамины B6 и B3 (Рис. 1). Данные препараты могут частично увеличивать энергоэффективность клеток за счет положительного влияния на окислительное фосфорилирование в митохондриях [88]. Известно, что витамин B3 (никотиновая кислота) служит субстратом для образования НАД и НАДФ, способствуя тем самым переносу водорода из цикла трикарбоновых кислот на комплекс I. Коэнзим Q10 (убихинон), в свою очередь, напрямую принимает участие в переносе электронов с НАДН-дегидрогеназного комплекса (комплекс I) и сукцинатдегидрогеназного комплекса (II) на комплекс III.

Применение кофакторов является одной из главных терапевтических опций при митохондриальных миопатиях. Однако ввиду отсутствия полноценных клинических исследований невозможно судить об эффективности данного подхода в терминах доказательной медицины. Более того, подавляющее большинство этих соединений зарегистрированы как пищевые добавки [89]. Очевидно, что подходы, основанные на применении кофакторов, не оказывают драматически выраженного клинического эффекта ввиду слабого митохондриального транспорта, неселективности

действия и слабого перекрытия с патогенетическими механизмами заболевания [90, 91]. Использование коктейлей витаминов и кофакторов более оправдано при уменьшении количества рассматриваемых факторов ввиду их дефицита или дефекта транспорта в те моменты, когда этот подход может быть рассмотрен как заместительная терапия [42, 68, 69].

В целом эффективных с точки зрения доказательной медицины способов восстановления митохондриальной функции при митохондриальных мутациях пока не так много. Помимо кофакторов, митотропные соединения представлены, антиоксидантами, митопротекторами, в т.ч. дихлорацетатом, аргинином, коэнзимом Q10, идебеноном и др. [70, 71]. Фармакологические подходы, направленные на улучшение функции митохондрий, базируются на применении очень широкого спектра препаратов [89, 90, 94]. Некоторые из наиболее востребованных соединений представлены на рисунке 1.

Классические фармакологические методы компенсации неадекватного функционирования митохондрий основаны на усилении активности митохондриальных метаболических каскадов и уменьшении содержания токсических агентов, таких как лактат и активные формы кислорода (АФК). Например, показано, что безафибрат стимулирует митохондриальный биогенез за счет активации пути PGC-1 α /PPAR. Кроме того, аципимокс, никотинамид и рибозид восстанавливают содержание НАД⁺, увеличивая эффективность переноса электронов на ЭТЦ.

Тиамин, липоевая кислота и дихлорацетат активируют пируватдегидрогеназу, что приводит к уменьшению накопления лактата за счет превращения пирувата в другой метаболит ацетил-КоА. Сукцинат, рибофлавин и CoQ10 способствуют передаче электронов ЭТЦ или восстановлению функции комплексов I и II. Некоторые соединения, такие как идебенон, N-ацетилцистеин и липоевая кислота, обладают способностью снижать выработку АФК или инактивировать их. Элампригид стабилизирует липиды митохондриальной мембраны, предотвращая разрушение митохондрий.

При дефиците некоторых ферментов липидного или углеводного обмена терапевтической эффективностью обладает стратегия восполнения дефицита соединений, стоящих в биохимической цепи после реакции, катализируемой мутантным ферментом. Например, при дефекте утилизации длинноцепочечных жирных кислот оправдано применение гептаноина, более проксимального компонента, включающегося в цикл трикарбоновых кислот (ЦТК). Аналогично при дефектах расщепления гликогена, терапевтический потенциал представляет применение экзогенной глюкозы. Наконец дефекты окислительного фосфорилирования и работы митохондрий могут быть частично компенсированы

за счет применения креатина, выполняющего в мышцах роль альтернативного носителя макроэргической фосфатной связи при образовании креатинфосфата.

2.6. Противовоспалительная терапия

Противовоспалительная терапия является одним из ключевых подходов к лечению мышечных дистрофий [96]. Воспалительные изменения могут сопровождать и другие виды миопатий, но это наблюдается исключительно редко [97].

В настоящее время единственным одобренным подходом, направленным на подавление воспалительного процесса при миодистрофиях, является терапия кортикостероидами. Однако важно подчеркнуть, что, несмотря на прогрессирующую гибель мышечных волокон, противовоспалительная терапия необходима не при всех мышечных дистрофиях. Например, при лечении дефлазакортом пациентов с дисферлинопатиями не только не наблюдалось улучшения, но и была обнаружена тенденция к снижению мышечной силы [98].

В клинических испытаниях было показано, что кортикостероиды улучшают мышечную силу и функцию без клинически серьезных побочных эффектов [99, 100]. Более того, было показано, что глюкокортикоиды увеличивают экспрессию утрофина [101].

Ввиду серьезных побочных эффектов, развивающихся при длительном применении кортикостероидов, продолжается поиск других стратегий противовоспалительной терапии. Например, среди стратегий, опробованных при миодистрофиях можно выделить ингибиторы циклооксигеназы (ЦОГ), ФНО- α и его рецептора, а также TRPV2-каналов.

Нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) продемонстрировали относительно скромную эффективность в мышечной модели дистрофии Дюшенна. Несмотря на то, что применение аспирина и ибупрофена улучшало морфологическую картину мышц и снижало воспалительную инфильтрацию и некроз, процент регенерирующих миофибрилл и изометрическое напряжение не претерпели значимого изменения [102].

Применение противоаллергического препарата траниласт, в спектр фармакологической активности которого входит блокада TRPV2 [103], привело к снижению фиброза в скелетных мышцах и повышению толерантности к нагрузкам [104, 105].

Некоторый потенциал при лечении миодистрофии продемонстрировали ингибиторы фактора некроза опухоли-альфа (ФНО- α). Применение этанерцепта или антитела против ФНО- α замедляли течение заболевания, а также уменьшали воспаление и разрушение дистрофических мышц у мышей mdx без развития выраженных побочных эффектов [106, 107].

2.7. Антифибротические средства

Внеклеточный матрикс является важным компонентом скелетных мышц. Он обеспечивает каркасную структуру, которая удерживает миофибриллы и сосуды. Кроме того он играет основную роль в процессах биомеханического сокращения, а также в поддержании целостности и восстановлении мышечных волокон. Чрезмерное накопление компонентов внеклеточного матрикса, особенно коллагена, определяется как фиброз. Избыточное образование соединительной ткани как следствие гибели и дефекта пролиферации мышечных клеток служит важнейшей отличительной чертой мышечных дистрофий. Поскольку динамика фибротического замещения при миодистрофиях ярко коррелирует с развитием мышечных симптомов, антифибротическая терапия является одним из основных подходов к лечению пациентов [108].

Тамоксифен является пролекарством, некоторые из метаболитов которого взаимодействуют с ядерным рецептором эстрогена, опосредуя антифибротический и миопротективный эффекты. Многоцентровое проспективное исследование с участием 13 амбулаторных мальчиков в возрасте 6–14 лет с генетически подтвержденной миодистрофией Дюшенна продемонстрировало, что у пациентов, получавших лечение тамоксифеном в дозе 20 мг/сут, сохранялись моторная и дыхательная функции, по сравнению со значительным ухудшением у пациентов того же возраста в анамнезе, получавших только кортикостероиды [109].

Схожий подход также продемонстрировал эффективность на мышинной модели дистрогликанопатии. В исследованиях Wu B. и соавт. продемонстрировано, что тамоксифен и ралоксифен значительно облегчают прогрессирование заболевания у животных с мутацией с.1343C>T гена FKRP, демонстрирующих выраженный фенотип пояснично-конечностной мышечной дистрофии [110].

Первичным профибротическим сигналом в скелетных мышцах, как и в других тканях, является трансформирующий фактор роста-бета (TGF β) [111]. Высокая экспрессия TGF β является характерным признаком дистрофических мышц [112] и считается одной из основных терапевтических мишеней для снижения фиброза. Было показано, что Wnt-TGF β 2 является одним из ключевых факторов, опосредующих дифференцировку дистрофин-дефицитных предшественников мышечных клеток в фиброгенном направлении. Высокую эффективность продемонстрировали антитела, стабилизирующие LTBP4, который является связывающим фактором TGF β . Лечение анти-LTBP4 также уменьшило мышечный фиброз и увеличило мышечную силу, в том числе в мышцах диафрагмы [113].

Важную роль в передаче профибротических сигналов играет ренин-ангиотензиновая система. В частности, активация рецептора ангиотензина 1

стимулирует фиброз. При этом было показано, что антигипертензивный препарат с ингибирующей активностью в отношении TGF β 2 лозартан привел к увеличению уровня миогенных факторов со сниженной экспрессией фиброгенных генов у мышей mdx (модель миодистрофии Дюшенна) [112].

Интересно, что другой препарат, блокирующий ренин-ангиотензин-альдостероновую ось, эналаприл, также демонстрирует ингибирующее действие в отношении фактора роста соединительной ткани (CTGF/CCN2) [114] и является еще одним регулятором передачи профибротических сигналов [115, 116]. Было показано, что фармакологическая блокада CTGF замедляет прогрессирование фиброза и улучшает мышечную функцию у мышей mdx [114]. Более того, терапия антителами к мышечному CTGF в настоящее время проходит клинические испытания как средство для лечения миодистрофии Дюшенна [117].

2.8. Средства с положительным влиянием на мышечную силу

Снижение мышечной силы является основным симптомом миопатий. В этой связи, в дополнение к прочим подходам, были разработаны стратегии, направленные на увеличение эффективности мышечного сокращения или предупреждения миопении.

Например, тирасемтив, быстрый активатор скелетного тропонина, действующий на тонкие нити, продемонстрировал свою эффективность в качестве средства, которое увеличивает мышечную силу и может быть применено для компенсации гипотонии при мышечной дисфункции. В исследованиях на генетически-модифицированных мышцах и клетках пациента с немалиновой миопатией, несущих мутацию актина (ACTA1H40Y), лечение тирасемтивом увеличивало инотропные показатели до показателей сравнимых со здоровым контролем [118].

Одной из наиболее популярных мишеней для регулирования мышечной массы является миостатин. Снижение передачи сигналов данного миокина приводит к резкому увеличению мышечной массы вследствие интенсификации роста мышечных волокон [119]. Первый подобный препарат домагразумаб (PF-06252616, Pfizer), представляющий собой рекомбинантное гуманизованное антитело к миостатину, был отозван во время второй фазы клинических исследований несмотря на то, что в первой фазе был показан 6,1% прирост мышечной массы после лечения в сравнении с группой плацебо [120]. Другой антимиостатиновый препарат BMS-986089 продемонстрировал высокую эффективность в доклинических тест-системах на мышцах и циномольтусовых обезьянах и в настоящее время проходит клинические испытания. Однако в целом, несмотря на теоретическую перспективность подхода и положительные начальные результаты,

последние клинические данные демонстрируют, что антимиостатиновая терапия показывает меньшую эффективность, чем ожидалось. Кроме того, долгосрочные последствия антимиостатиновой терапии требуют особо пристального изучения, ввиду возможного негативного влияния в отношении пула миосателлитных клеток [121].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наследственные миопатии представляют собой группу неизлечимых заболеваний с широким спектром симптомов и высокой вариабельностью клинического течения. В настоящее время разработано и одобрено большое количество терапевтических подходов для применения при разных типах миопатий (Рис. 2). Наиболее разработаны методы коррекции мышечных дистрофий, которые в связи с прогрессирующим характером течения, имеют наибольшее количество патогенетических путей, которые могут являться мишенями для терапии. При этом наименьшее количество терапевтических опций доступно для лечения врожденных миопатий, где наследственный дефект перманентно проявляется в течение жизни и отсутствуют вторичные факторы альтерации, такие как воспаление и фиброз. Кроме того, за исключением некоторых нозологий, отсутствуют эффективные подходы к коррекции метаболических и митохондриальных миопатий.

При лечении всех миопатий, важную роль играет симптоматическая и поддерживающая терапия, направленная на лечение болевого синдрома и симптомов со стороны других органов и систем.

Закономерными последствиями, возникающими при миопатиях гиподинамии, является остеопороз [122] и пневмония, лечение которых осуществляется согласно стандартным схемам.

Стоит отметить, что в последнее время все большую актуальность приобретают геннотерапевтические подходы, исправляющие или компенсирующие дефект на генном уровне. Данные подходы не были освещены в работе, целью которой являлся разбор существующих конвенциональных стратегий. Однако на сегодняшний день именно генная и клеточная терапия составляют наиболее растущий и перспективный пласт фармакологических агентов для лечения наследственных миопатий.

При врожденных миопатиях была показана эффективность тирасемтива, быстрого активатора скелетного тропонина, воздействующего на тонкие нити. Теоретически, данный подход может быть эффективен и при других видах миопатий. Для лечения мышечных дистрофий могут быть использованы противовоспалительные и антифибротические препараты, а также антимиостатиновая терапия и стратегия, направленная на трансляцию через стоп-кодоны (применима при нонсенс мутациях). Кроме того, для лечения митохондриальных и метаболических миопатий могут быть применены метаболические препараты, кофакторы метаболических ферментов, стимуляторы митохондриального биогенеза и антиоксиданты. Наконец, клинически одобрены рекомбинантные препараты алглюкозидазы и авалглюкозидазы для заместительной терапии метаболических миопатий (болезнь Помпе).

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Исследование выполнено при финансовой поддержке Минобрнауки Российской Федерации, Соглашение № 075-15-2021-1346.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

М.В. Покровский – создание идеи, планирование концепции статьи, консультирование по вопросам написания отдельных секций рукописи; М.В. Корокин – разработка идеи, написание статьи; А.М. Краюшкина – анализ литературы, написание статьи; Н.С. Жунусов – анализ литературы, написание статьи; К.Н. Лапин – написание статьи, подготовка графического материала; М.О. Солдатова – анализ литературы, написание статьи; Е.А. Кузьмин – анализ литературы, написание статьи; О.С. Гудырев – анализ литературы, написание статьи; И.С. Кочкарова – анализ литературы, написание статьи; А.В. Дейкин – планирование концепции и написание статьи.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Cardamone M., Darras B.T., Ryan M.M. Inherited myopathies and muscular dystrophies // *Semin. Neurol.* – 2008. – Vol. 28, No. 2. – P. 250–259. DOI: 10.1055/s-2008-1062269
2. Butterfield R.J. Congenital Muscular Dystrophy and Congenital Myopathy // *Continuum (Minneapolis Minn.)*. – 2019. – Vol. 25, No. 6. – P. 1640–1661. DOI: 10.1212/CON.000000000000079
3. Yu Wai Man C.Y., Smith T., Chinnery P.F., Turnbull D.M., Griffiths P.G. Assessment of visual function in chronic progressive external ophthalmoplegia // *Eye (Lond.)*. – 2006. – Vol. 20, No. 5. – P. 564–568. DOI: 10.1038/sj.eye.6701924
4. Naidoo M., Anthony K. Dystrophin Dp71 and the Neuropathophysiology of Duchenne Muscular Dystrophy // *Mol. Neurobiol.* – 2020. – Vol. 57, No. 3. – P. 1748–1767. DOI: 10.1007/s12035-019-01845-w
5. Toscano A., Musumeci O. Tarui disease and distal glycogenoses: clinical and genetic update // *Acta Myol.* – 2007. – Vol. 26, No. 2. – P. 105–107.
6. Pfeffer G., Chinnery P.F. Diagnosis and treatment of

- mitochondrial myopathies // *Ann. Med.* – 2013. – Vol. 45, No. 1. – P. 4–16. DOI: 10.3109/07853890.2011.605389
7. Исабекова П.Ш., Алексеева Т.М. Наследственная прогрессирующая поясно-конечностная мышечная дистрофия 2I типа (аноктаминопатия) // *Современные проблемы науки и образования.* – 2020. – № 4. – С. 62. DOI: 10.17513/spno.29974
 8. Ervasti J.M., Campbell K.P. A role for the dystrophin-glycoprotein complex as a transmembrane linker between laminin and actin // *J. Cell. Biol.* – 1993. – Vol. 122, No. 4. – P. 809–823. DOI: 10.1083/jcb.122.4.809
 9. Vilquin J.T., Brussee V., Asselin I., Kinoshita I., Gingras M., Tremblay J.P. Evidence of mdx mouse skeletal muscle fragility in vivo by eccentric running exercise // *Muscle Nerve.* – 1998. – Vol. 21, No. 5. – P. 567–576. DOI: 10.1002/(sici)1097-4598(199805)21:5<567::aid-mus2>3.0.co;2-6
 10. Weller B., Karpati G., Carpenter S. Dystrophin-deficient mdx muscle fibers are preferentially vulnerable to necrosis induced by experimental lengthening contractions // *J. Neurol. Sci.* – 1990. – Vol. 100, No. 1–2. – P. 9–13. DOI: 10.1016/0022-510x(90)90005-8
 11. Mizuno Y. Prevention of myonecrosis in mdx mice: Effect of immobilization by the local tetanus method // *Brain and Development.* – 1992. – Vol. 14, Issue 5. – P. 319–322. DOI: 10.1016/S0387-7604(12)80151-3
 12. Mokhtarian A., Lefaucheur J.P., Even P.C., Sebille A. Hindlimb immobilization applied to 21-day-old mdx mice prevents the occurrence of muscle degeneration // *J. Appl. Physiol.* (1985). – 1999. – Vol. 86, No. 3. – P. 924–931. DOI: 10.1152/jappl.1999.86.3.924
 13. Le S., Yu M., Hovan L., Zhao Z., Ervasti J., Yan J. Dystrophin As a Molecular Shock Absorber // *ACS Nano.* – 2018. – Vol. 12, No. 12. – P. 12140–12148. DOI: 10.1021/acsnano.8b05721
 14. North K.N., Wang C.H., Clarke N., Jungbluth H., Vainzof M., Dowling J.J., Amburgey K., Quijano-Roy S., Beggs A.H., Sewry C., Laing N.G., Bönnemann C.G.; International Standard of Care Committee for Congenital Myopathies. Approach to the diagnosis of congenital myopathies // *Neuromuscul. Disord.* – 2014. – Vol. 24, No. 2. – P. 97–116. DOI: 10.1016/j.nmd.2013.11.003
 15. Tubridy N., Fontaine B., Eymard B. Congenital myopathies and congenital muscular dystrophies // *Curr. Opin. Neurol.* – 2001. – Vol. 14, No. 5. – P. 575–582. DOI: 10.1097/00019052-200110000-00005
 16. Jungbluth H., Voermans N.C. Congenital myopathies: not only a paediatric topic // *Curr. Opin. Neurol.* – 2016. – Vol. 29, No. 5. – P. 642–650. DOI: 10.1097/WCO.0000000000000372
 17. Cassandrini D., Trovato R., Rubegni A., Lenzi S., Fiorillo C., Baldacci J., Minetti C., Astrea G., Bruno C., Santorelli F.M.; Italian Network on Congenital Myopathies. Congenital myopathies: clinical phenotypes and new diagnostic tools // *Ital. J. Pediatr.* – 2017. – Vol. 43, No. 1. – Art. ID: 101. DOI: 10.1186/s13052-017-0419-z
 18. Olpin S.E., Murphy E., Kirk R.J., Taylor R.W., Quinlivan R. The investigation and management of metabolic myopathies // *J. Clin. Pathol.* – 2015. – Vol. 68, No. 6. – P. 410–417. DOI: 10.1136/jclinpath-2014-202808
 19. Tein I. Metabolic myopathies // *Semin. Pediatr. Neurol.* – 1996. – Vol. 3, No. 2. – P. 59–98. DOI: 10.1016/s1071-9091(96)80038-6
 20. Tarnopolsky M.A. Metabolic Myopathies // *Continuum (Minneapolis, Minn.)*. – 2016. – Vol. 22, No. 6. – P. 1829–1851. DOI: 10.1212/CON.0000000000000403
 21. Kirby D.M., Crawford M., Cleary M.A., Dahl H.H., Dennett X., Thorburn D.R. Respiratory chain complex I deficiency: an underdiagnosed energy generation disorder // *Neurology.* – 1999. – Vol. 52, No. 6. – P. 1255–1264. DOI: 10.1212/wnl.52.6.1255
 22. Fassone E., Rahman S. Complex I deficiency: clinical features, biochemistry and molecular genetics // *J. Med. Genet.* – 2012. – Vol. 49, No. 9. – P. 578–590. DOI: 10.1136/jmedgenet-2012-101159. Erratum in: *J. Med. Genet.* – 2012. – Vol. 49, No. 10. – Art. ID: 668.
 23. Abramov A.Y., Angelova P.R. Cellular mechanisms of complex I-associated pathology // *Biochem. Soc. Trans.* – 2019. – Vol. 47, No. 6. – P. 1963–1969. DOI: 10.1042/BST20191042
 24. Chiaratti M.R., Macabelli C.H., Augusto Neto J.D., Grejo M.P., Pandey A.K., Perecin F., Collado M.D. Maternal transmission of mitochondrial diseases // *Genet. Mol. Biol.* – 2020. – Vol. 43, No. 1. – e20190095. DOI: 10.1590/1678-4685-GMB-2019-0095
 25. van den Aemele J., Li A.Y.Z., Ma H., Chinnery P.F. Mitochondrial heteroplasmy beyond the oocyte bottleneck // *Semin. Cell. Dev. Biol.* – 2020. – Vol. 97. – P. 156–166. DOI: 10.1016/j.semcdb.2019.10.001
 26. Floros V.I., Pyle A., Dietmann S., Wei W., Tang W.C.W., Irie N., Payne B., Capalbo A., Noli L., Coxhead J., Hudson G., Crosier M., Strahl H., Khalaf Y., Saitou M., Ilic D., Surani M.A., Chinnery P.F. Segregation of mitochondrial DNA heteroplasmy through a developmental genetic bottleneck in human embryos // *Nat. Cell. Biol.* – 2018. – Vol. 20, No. 2. – P. 144–151. DOI: 10.1038/s41556-017-0017-8
 27. Ahmed S.T., Craven L., Russell O.M., Turnbull D.M., Vincent A.E. Diagnosis and Treatment of Mitochondrial Myopathies // *Neurotherapeutics.* – 2018. – Vol. 15, No. 4. – P. 943–953. DOI: 10.1007/s13311-018-00674-4
 28. Miyoshi K., Kawai H., Iwasa M., Kusaka K., Nishino H. Autosomal recessive distal muscular dystrophy as a new type of progressive muscular dystrophy. Seventeen cases in eight families including an autopsied case // *Brain.* – 1986. – Vol. 109, Part 1. – P. 31–54. DOI: 10.1093/brain/109.1.31
 29. Bushby K., Straub V. One gene, one or many diseases? Simplifying dysferlinopathy // *Neurology.* – 2010. – Vol. 75, No. 4. – P. 298–299. DOI: 10.1212/WNL.0b013e3181ea1649
 30. Nguyen K., Bassez G., Bernard R., Krahn M., Labelle V., Figarella-Branger D., Pouget J., Hammouda el H., Bérout C., Urtizberea A., Eymard B., Leturcq F., Lévy N. Dysferlin mutations in LGMD2B, Miyoshi myopathy, and atypical dysferlinopathies // *Hum. Mutat.* – 2005. – Vol. 26, No. 2. – Art. ID: 165. DOI: 10.1002/humu.9355
 31. Le Rumeur E., Winder S.J., Hubert J.F. Dystrophin: more than just the sum of its parts // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2010. – Vol. 1804, No. 9. – P. 1713–1722. DOI: 10.1016/j.bbapap.2010.05.001
 32. Liu J., Aoki M., Illa I., Wu C., Fardeau M., Angelini C., Serrano C., Urtizberea J.A., Hentati F., Hamida M.B., Bohlega S., Culper E.J., Amato A.A., Bossie K., Oeltjen J., Bejaoui K., McKenna-Yasek D., Hosler B.A., Schurr E., Arahata K., de Jong P.J., Brown R.H Jr. Dysferlin, a novel skeletal muscle gene, is mutated in Miyoshi myopathy and limb girdle muscular dystrophy // *Nat. Genet.* – 1998. – Vol. 20, No. 1. – P. 31–36. DOI: 10.1038/1682
 33. Harris E., Bladen C.L., Mayhew A., James M., Bettinson K., Moore U., Smith F.E., Rufibach L., Cnaan A., Bharucha-Goebel D.X., Blamire A.M., Bravver E., Carlier P.G., Day J.W., Díaz-Manera J., Eagle M., Grieben U., Harms M., Jones K.J., Lochmüller H., Mendell J.R., Mori-Yoshimura M., Paradas C., Pegoraro E., Pestronk A., Salort-Campana E., Schreiber-Katz O., Semplicini C., Spuler S., Stojkovic T., Straub V., Takeda S., Rocha C.T., Walter M.C., Bushby K.;

- Jain COS Consortium. The Clinical Outcome Study for dysferlinopathy: An international multicenter study // *Neurol. Genet.* – 2016. – Vol. 2, No. 4. – e89. DOI: 10.1212/NXG.0000000000000089
34. Yiu E.M., Kornberg A.J. Duchenne muscular dystrophy // *Neurol. India.* – 2008. – Vol. 56. – P. 236–247. DOI: 10.4103/0028-3886.43441
 35. Yiu E.M., Kornberg A.J. Duchenne muscular dystrophy // *J. Paediatr. Child. Health.* – 2015. – Vol. 51, No. 8. – P. 759–764. DOI: 10.1111/jpc.12868
 36. Flanigan K.M. Duchenne and Becker muscular dystrophies // *Neurol. Clin.* – 2014. – Vol. 32, No. 3. – P. 671–688. DOI: 10.1016/j.ncl.2014.05.002
 37. Muntoni F., Torelli S., Ferlini A. Dystrophin and mutations: one gene, several proteins, multiple phenotypes // *Lancet Neurol.* – 2003. – Vol. 2, No. 12. – P. 731–740. DOI: 10.1016/s1474-4422(03)00585-4
 38. Chang N.C., Chevalier F.P., Rudnicki M.A. Satellite Cells in Muscular Dystrophy – Lost in Polarity // *Trends Mol. Med.* – 2016. – Vol. 22, No. 6. – P. 479–496. DOI: 10.1016/j.molmed.2016.04.002
 39. Dumont N.A., Wang Y.X., von Maltzahn J., Pasut A., Bentzinger C.F., Brun C.E., Rudnicki M.A. Dystrophin expression in muscle stem cells regulates their polarity and asymmetric division // *Nat. Med.* – 2015. – Vol. 21, No. 12. – P. 1455–1463. DOI: 10.1038/nm.3990
 40. Bönnemann C.G. The collagen VI-related myopathies Ullrich congenital muscular dystrophy and Bethlem myopathy // *Handb. Clin. Neurol.* – 2011. – Vol. 101. – P. 81–96. DOI: 10.1016/B978-0-08-045031-5.00005-0
 41. Bönnemann C.G. The collagen VI-related myopathies: muscle meets its matrix // *Nat. Rev. Neurol.* – 2011. – Vol. 7, No. 7. – P. 379–390. DOI: 10.1038/nrneurol.2011.81.
 42. Katzin L.W., Amato A.A. Pompe disease: a review of the current diagnosis and treatment recommendations in the era of enzyme replacement therapy // *J. Clin. Neuromuscul. Dis.* – 2008. – Vol. 9, No. 4. – P. 421–431. DOI: 10.1097/CND.0b013e318176dbe4
 43. Taverna S., Cammarata G., Colomba P., Sciarrino S., Zizzo C., Francofonte D., Zora M., Scalia S., Brando C., Curto AL, Marsana EM., Olivieri R., Vitale S., Duro G. Pompe disease: pathogenesis, molecular genetics and diagnosis // *Aging (Albany NY).* – 2020. – Vol. 12, No. 15. – P. 15856–15874. DOI: 10.18632/aging.103794
 44. Ghosh P., Dahms N.M., Kornfeld S. Mannose 6-phosphate receptors: new twists in the tale // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* – 2003. – Vol. 4, No. 3. – P. 202–212. DOI: 10.1038/nrm1050
 45. Kohler L., Puertollano R., Raben N. Pompe Disease: From Basic Science to Therapy // *Neurotherapeutics.* – 2018. – Vol. 15, No. 4. – P. 928–942. DOI: 10.1007/s13311-018-0655-y
 46. Peruzzo P., Pavan E., Dardis A. Molecular genetics of Pompe disease: a comprehensive overview // *Ann. Transl. Med.* – 2019. – Vol. 7, No. 13. – Art. ID: 278. DOI: 10.21037/atm.2019.04.13
 47. Tarlow M.J., Ellis D.A., Pearce G.W., Anderson M. Muscle phosphofructokinase deficiency (Tarui's disease) // *Proc. Nutr. Soc.* – 1979. – Vol. 38, No. 3. – Art. ID: 110A.
 48. Vorgerd M., Zange J., Kley R., Grehl T., Hüsing A., Jäger M., Müller K., Schröder R., Mortier W., Fabian K., Malin JP., Luttmann A. Effect of high-dose creatine therapy on symptoms of exercise intolerance in McArdle disease: double-blind, placebo-controlled crossover study // *Arch. Neurol.* – 2002. – Vol. 59, No. 1. – P. 97–101. DOI: 10.1001/archneur.59.1.97
 49. Yamasaki T., Nakajima H. [Phosphofructokinase (PFK)]. *Nihon Rinsho.* – 2004. – Vol. 62, Suppl. 12. – P. 835–839.
 50. Wong L.J., Naviaux R.K., Brunetti-Pierri N., Zhang Q., Schmitt E.S., Truong C., Milone M., Cohen B.H., Wical B., Ganesh J., Basinger A.A., Burton B.K., Swoboda K., Gilbert D.L., Vanderver A., Saneto R.P., Maranda B., Arnold G., Abdenur J.E., Waters P.J., Copeland W.C. Molecular and clinical genetics of mitochondrial diseases due to POLG mutations // *Hum. Mutat.* – 2008. – Vol. 29, No. 9. – P. 150–172. DOI: 10.1002/humu.20824
 51. Cohen B.H., Chinnery P.F., Copeland W.C. POLG-Related Disorders / In: Adam M.P., Everman D.B., Mirzaa G.M., et al., editors // *GeneReviews*® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle. – 1993–2022.
 52. Rajakulendran S., Pitceathly R.D., Taanman J.W., Costello H., Sweeney M.G., Woodward C.E., Jaunmuktane Z., Holton J.L., Jacques T.S., Harding B.N., Fratter C., Hanna M.G., Rahman S. A Clinical, Neuropathological and Genetic Study of Homozygous A467T POLG-Related Mitochondrial Disease // *PLoS One.* – 2016. – Vol. 11, No. 1. – e0145500. DOI: 10.1371/journal.pone.0145500
 53. Adler M., Shieh P.B. Metabolic Myopathies // *Semin. Neurol.* – 2015. – Vol. 35, No. 4. – P. 385–397. DOI: 10.1055/s-0035-1558973
 54. Meena N.K., Raben N. Pompe Disease: New Developments in an Old Lysosomal Storage Disorder // *Biomolecules.* 2020 Sep 18;10(9):1339. DOI: 10.3390/biom10091339.
 55. Dhillon S. Avalglucosidase alfa: First Approval // *Drugs.* – 2021. – Vol. 81, No. 15. – P. 1803–1809. DOI: 10.1007/s40265-021-01600-3
 56. Horn J.M., Obermeyer A.C. Genetic and Covalent Protein Modification Strategies to Facilitate Intracellular Delivery // *Biomacromolecules.* – 2021. – Vol. 22. – P. 4883–4904. DOI: 10.1021/acs.biomac.1c00745
 57. Lawlor M.W., Armstrong D., Viola M.G., Widrick JJ., Meng H., Grange RW., Childers MK., Hsu CP, O'Callaghan M., Pierson CR., Buj-Bello A., Beggs AH. Enzyme replacement therapy rescues weakness and improves muscle pathology in mice with X-linked myotubular myopathy. *Hum Mol Genet.* – 2013. T. 22, № 8. C. 1525–1538. DOI: 10.1093/hmg/ddt003
 58. Wu R.P., Youngblood D.S., Hassinger J.N., Lovejoy C.E., Nelson M.H., Iversen P.L., Moulton H.M. Cell-penetrating peptides as transporters for morpholino oligomers: effects of amino acid composition on intracellular delivery and cytotoxicity // *Nucleic. Acids Res.* – 2007. – Vol. 35, No. 15. – P. 5182–5191. DOI: 10.1093/nar/gkm478
 59. Bladen C.L., Salgado D., Monges S., Foncuberta M.E., Kekou K., Kosma K., Dawkins H., Lamont L., Roy A.J., Chamova T., Guergueltcheva V., Chan S., Korngut L., Campbell C., Dai Y., Wang J., Barišić N., Brabec P., Lahdetie J., Walter M.C., Schreiber-Katz O., Karcagi V., Garami M., Viswanathan V., Bayat F., Buccella F., Kimura E., Koeks Z., van den Bergen J.C., Rodrigues M., Roxburgh R., Lusakowska A., Kostera-Pruszczyk A., Zimowski J., Santos R., Neagu E., Artemieva S., Rasic V.M., Vojinovic D., Posada M., Bloetzer C., Jeannot PY., Joncourt F., Diaz-Manera J., Gallardo E., Karaduman A.A., Topaloğlu H., El Sherif R., Stringer A., Shatillo A.V., Martin A.S., Peay H.L., Bellgard M.I., Kirschner J., Flanigan K.M., Straub V., Bushby K., Verschuuren J., Aartsma-Rus A., Bérout C., Lochmüller H. The TREAT-NMD DMD Global Database: analysis of more than 7,000 Duchenne muscular dystrophy mutations // *Hum. Mutat.* – 2015. – Vol. 36, No. 4. – P. 395–402. DOI: 10.1002/humu.22758
 60. Laporte J., Biancalana V., Tanner SM., Kress W., Schneider V., Wallgren-Pettersson C., Herger F., Buj-Bello A., Blondeau F., Liechti-Gallati S., Mandel J.L. MTM1 mutations in X-linked myotubular myopathy // *Hum. Mutat.* – 2000. – Vol. 15, No. 5. – P. 393–409. DOI: 10.1002/(SICI)1098-1004(200005)15:5<393::AID-HUMU1>3.0.CO;2-R

61. Diop D., Chauvin C., Jean-Jean O. Aminoglycosides and other factors promoting stop codon readthrough in human cells // *C.R. Biol.* – 2007. – Vol. 330, No. 1. – P. 71–79. DOI: 10.1016/j.crvi.2006.09.001
62. Schroeder R., Waldsich C., Wank H. Modulation of RNA function by aminoglycoside antibiotics // *EMBO J.* – 2000. – Vol. 19, No. 1. – P. 1–9. DOI: 10.1093/emboj/19.1.1
63. Barton-Davis E.R., Cordier L., Shoturma D.I., Leland S.E., Sweeney H.L. Aminoglycoside antibiotics restore dystrophin function to skeletal muscles of mdx mice // *J. Clin. Invest.* – 1999. – Vol. 104, No. 4. – P. 375–381. DOI: 10.1172/JCI7866
64. Clancy J.P., Bebök Z., Ruiz F., King C., Jones J., Walker L., Greer H., Hong J., Wing L., Macaluso M., Lyrene R., Sorscher E.J., Bedwell D.M. Evidence that systemic gentamicin suppresses premature stop mutations in patients with cystic fibrosis // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2001. – Vol. 163. – No. 7. – P. 1683–1692. DOI: 10.1164/ajrccm.163.7.2004001
65. Howard M., Frizzell R.A., Bedwell D.M. Aminoglycoside antibiotics restore CFTR function by overcoming premature stop mutations // *Nat. Med.* – 1996. – Vol. 2, No. 4. – P. 467–469. DOI: 10.1038/nm0496-467
66. Carnes J., Jacobson M., Leinwand L., Yarus M. Stop codon suppression via inhibition of eRF1 expression // *RNA.* – 2003. – Vol. 9, No. 6. – P. 648–653. DOI: 10.1261/rna.5280103
67. Welch E.M., Barton E.R., Zhuo J., Tomizawa Y., Friesen W.J., Trifillis P., Paushkin S., Patel M., Trotta C.R., Hwang S., Wilde R.G., Karp G., Takasugi J., Chen G., Jones S., Ren H., Moon Y.C., Corson D., Turpoff A.A., Campbell J.A., Conn M.M., Khan A., Almstead N.G., Hedrick J., Mollin A., Risher N., Weetall M., Yeh S., Branstrom A.A., Colacino J.M., Babiak J., Ju W.D., Hirawat S., Northcutt V.J., Miller L.L., Spatrick P., He F., Kawana M., Feng H., Jacobson A., Peltz S.W., Sweeney H.L. PTC124 targets genetic disorders caused by nonsense mutations // *Nature.* – 2007. – Vol. 447, No. 7140. – P. 87–91. DOI: 10.1038/nature05756
68. Berger J., Li M., Berger S., Meilak M., Rientjes J., Currie P.D. Effect of Ataluren on dystrophin mutations // *J. Cell. Mol. Med.* – 2020. – Vol. 24, No. 12. – P. 6680–6689. DOI: 10.1111/jcmm.15319
69. Allamand V., Bidou L., Arakawa M., Floquet C., Shiozuka M., Paturneau-Jouas M., Gartioux C., Butler-Browne G.S., Mouly V., Rousset J.P., Matsuda R., Ikeda D., Guicheney P. Drug-induced readthrough of premature stop codons leads to the stabilization of laminin alpha2 chain mRNA in CMD myotubes // *J. Gene Med.* – 2008. – Vol. 10, No. 2. – P. 217–224. DOI: 10.1002/jgm.1140
70. Iezzi S., Cossu G., Nervi C., Sartorelli V., Puri P.L. Stage-specific modulation of skeletal myogenesis by inhibitors of nuclear deacetylases // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2002. – Vol. 99, No. 11. – P. 7757–7762. DOI: 10.1073/pnas.112218599
71. Iezzi S., Di Padova M., Serra C., Caretti G., Simone C., Maklan E., Minetti G., Zhao P., Hoffman E.P., Puri P.L., Sartorelli V. Deacetylase inhibitors increase muscle cell size by promoting myoblast recruitment and fusion through induction of follistatin // *Dev. Cell.* – 2004. – Vol. 6, No. 5. – P. 673–684. DOI: 10.1016/s1534-5807(04)00107-8
72. Minetti G.C., Colussi C., Adami R., Serra C., Mozzetta C., Parente V., Fortuni S., Straino S., Sampaolesi M., Di Padova M., Illi B., Gallinari P., Steinkühler C., Capogrossi M.C., Sartorelli V., Bottinelli R., Gaetano C., Puri P.L. Functional and morphological recovery of dystrophic muscles in mice treated with deacetylase inhibitors // *Nat. Med.* – 2006. – Vol. 12, No. 10. – P. 1147–1150. DOI: 10.1038/nm1479
73. Love D.R., Hill D.F., Dickson G., Spurr N.K., Byth B.C., Marsden R.F., Walsh F.S., Edwards Y.H., Davies K.E. An autosomal transcript in skeletal muscle with homology to dystrophin // *Nature.* – 1989. – Vol. 339, No. 6219. – P. 55–58. DOI: 10.1038/339055a0
74. Khurana T.S., Hoffman E.P., Kunkel L.M. Identification of a chromosome 6-encoded dystrophin-related protein // *J. Biol. Chem.* – 1990. – Vol. 265, No. 28. – P. 16717–16720.
75. Khurana T.S., Watkins S.C., Chafey P., Chelly J., Tomé F.M., Fardeau M., Kaplan J.C., Kunkel L.M. Immunolocalization and developmental expression of dystrophin related protein in skeletal muscle // *Neuromuscul. Disord.* – 1991. – Vol. 1, No. 3. – P. 185–194. DOI: 10.1016/0960-8966(91)90023-1
76. Starikova A.V., Skopenkova V.V., Polikarpova A.V., Reshetov D.A., Vassilieva S.G., Velyaev O.A., Shmidt A.A., Savchenko I.M., Soldatov V.O., Egorova T.V., Bardina M.V. Therapeutic potential of highly functional codon-optimized microtrophin for muscle-specific expression // *Sci. Rep.* – 2022. – Vol. 12, No. 1. – Art. ID: 848. DOI: 10.1038/s41598-022-04892-x
77. Vuorinen A., Wilkinson I.V.L., Chatzopoulou M., Edwards B., Squire S.E., Fairclough R.J., Bazan N.A., Milner J.A., Conole D., Donald J.R., Shah N., Willis N.J., Martinez R.F., Wilson F.X., Wynne G.M., Davies S.G., Davies K.E., Russell A.J. Discovery and mechanism of action studies of 4,6-diphenylpyrimidine-2-carbohydrazides as utrophin modulators for the treatment of Duchenne muscular dystrophy // *Eur. J. Med. Chem.* – 2021. – Vol. 220. Art. ID: 113431. DOI: 10.1016/j.ejmech.2021.113431
78. Chatzopoulou M., Conole D., Emer E., Rowley J.A., Willis N.J., Squire S.E., Gillc B., Broughc S., Wilsong F.X., Wynnea G.M., Daviesa S.G., Daviesb K.E., Russellae A.J. Structure-activity relationships of 2-pyrimidinecarbohydrazides as utrophin modulators for the potential treatment of Duchenne muscular dystrophy // *Bioorg. Med. Chem.* – 2022. – Vol. 69. – Art. ID: 116812. DOI: 10.1016/j.bmc.2022.116812
79. Pearson C.M., Rimer D.G., Mommaerts W.F. A metabolic myopathy due to absence of muscle phosphorylase // *Am. J. Med.* – 1961. – Vol. 30. – P. 502–517. DOI: 10.1016/0002-9343(61)90075-4
80. Preisler N., Pradel A., Husu E., Madsen K.L., Becquemin M.H., Mollet A., Labrune P., Petit F., Hogrel J.Y., Jardel C., Maillot F., Vissing J., Laforêt P. Exercise intolerance in Glycogen Storage Disease Type III: weakness or energy deficiency? // *Mol. Genet. Metab.* – 2013. – Vol. 109, No. 1. – P. 14–20. DOI: 10.1016/j.ymgme.2013.02.008
81. Preisler N., Laforêt P., Echaniz-Laguna A., Ørngreen M.C., Lonsdorfer-Wolf E., Doutreleau S., Geny B., Stojkovic T., Piraud M., Petit F.M., Vissing J. Fat and carbohydrate metabolism during exercise in phosphoglucomutase type 1 deficiency // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2013. – Vol. 98, No. 7. – P. 1235–1240. DOI: 10.1210/jc.2013-1651
82. Stojkovic T., Vissing J., Petit F., Piraud M., Orngreen M.C., Andersen G., Claeys K.G., Wary C., Hogrel J.Y., Laforêt P. Muscle glycogenesis due to phosphoglucomutase 1 deficiency // *N. Engl. J. Med.* – 2009. – Vol. 361, No. 4. – P. 425–427. DOI: 10.1056/NEJMc0901158
83. Roe C.R., Mochel F. Anaplerotic diet therapy in inherited metabolic disease: therapeutic potential // *J. Inherit. Metab. Dis.* – 2006. – Vol. 29, No. 2–3. – P. 332–340. DOI: 10.1007/s10545-006-0290-3
84. Roe C.R., Sweetman L., Roe D.S., David F., Brunengraber H. Treatment of cardiomyopathy and rhabdomyolysis in long-chain fat oxidation disorders using an anaplerotic odd-chain triglyceride // *J. Clin. Invest.* – 2002. – Vol. 110, No. 2. – P. 259–269. DOI: 10.1172/JCI15311
85. Roe C.R., Yang B.Z., Brunengraber H., Roe D.S., Wallace M.,

- Garritson B.K. Carnitine palmitoyltransferase II deficiency: successful anaplerotic diet therapy // *Neurology*. – 2008. – Vol. 71, No. 4. – P. 260–264. DOI: 10.1212/01.wnl.0000318283.42961.e9
86. Laforêt P., Ørngreen M., Preisler N., Andersen G., Vissing J. Blocked muscle fat oxidation during exercise in neutral lipid storage disease // *Arch. Neurol.* – 2012. – Vol. 69, No. 4. – P. 530–533. DOI: 10.1001/archneurol.2011.631
87. Farshidfar F., Pinder M.A., Myrie S.B. Creatine Supplementation and Skeletal Muscle Metabolism for Building Muscle Mass- Review of the Potential Mechanisms of Action // *Curr. Protein Pept. Sci.* – 2017. – Vol. 18, No. 12. – P. 1273–1287. DOI: 10.2174/1389203718666170606105108
88. Marriage B., Clandinin M.T., Glerum D.M. Nutritional cofactor treatment in mitochondrial disorders // *J. Am. Diet. Assoc.* – 2003. – Vol. 103, No. 8. – P. 1029–1038. DOI: 10.1016/s0002-8223(03)00476-0
89. Avula S., Parikh S., Demarest S., Kurz J., Gropman A. Treatment of mitochondrial disorders // *Curr. Treat. Options Neurol.* – 2014. – Vol. 16, No. 6. – P. 292. DOI: 10.1007/s11940-014-0292-7
90. Tinker R.J., Lim A.Z., Stefanetti R.J., McFarland R. Current and Emerging Clinical Treatment in Mitochondrial Disease *Mol. Diagn. Ther.* – 2021. – Vol. 25, No. 2. – P. 181–206. DOI: 10.1007/s40291-020-00510-6
91. Viscomi C., Bottani E., Zeviani M. Emerging concepts in the therapy of mitochondrial disease // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2015. – Vol. 1847, No. 6–7. – P. 544–557. DOI: 10.1016/j.bbabi.2015.03.001
92. Barshop B.A., Naviaux R.K., McGowan K.A., Levine F., Nyhan W.L., Loupis-Geller A., Haas R.H. Chronic treatment of mitochondrial disease patients with dichloroacetate // *Mol. Genet. Metab.* – 2004. – Vol. 83, No. 1–2. – P. 138–149. DOI: 10.1016/j.ymgme.2004.06.009
93. Prietsch V., Lindner M., Zschocke J., Nyhan W.L., Hoffmann G.F. Emergency management of inherited metabolic diseases // *J. Inherit. Metab. Dis.* – 2002. – Vol. 25, No. 7. – P. 531–546. DOI: 10.1023/a:1022040422590
94. Parikh S., Saneto R., Falk M.J., Anselm I., Cohen B.H., Haas R., Medicine Society T.M. A modern approach to the treatment of mitochondrial disease // *Curr. Treat. Options. Neurol.* – 2009. – Vol. 11, No. 6. – P. 414–430. DOI: 10.1007/s11940-009-0046-0
95. Angelova P.R., Esteras N., Abramov A.Y. Mitochondria and lipid peroxidation in the mechanism of neurodegeneration: Finding ways for prevention // *Med. Res. Rev.* – 2021. – Vol. 41, No. 2. – P. 770–784. DOI: 10.1002/med.21712
96. Birnkrant D.J., Bushby K., Bann C.M., Apkon S.D., Blackwell A., Brumbaugh D., Case L.E., Clemens P.R., Hadjijannakis S., Pandya S., Street N., Tomezska J., Wagner K.R., Ward L.M., Weber D.R. Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 1: diagnosis, and neuromuscular, rehabilitation, endocrine, and gastrointestinal and nutritional management // *Lancet Neurol.* – 2018. – Vol. 17, No. 3. – P. 251–267. DOI: 10.1016/S1474-4422(18)30024-3. Erratum in: *Lancet Neurol.* – 2018.
97. McNeil S.M., Woulfe J., Ross C., Tarnopolsky M.A. Congenital inflammatory myopathy: a demonstrative case and proposed diagnostic classification // *Muscle Nerve.* – 2002. – Vol. 25, No. 2. – P. 259–264. DOI: 10.1002/mus.10043
98. Walter M.C., Reilich P., Thiele S., Schessl J., Schreiber H., Reiners K., Kress W., Müller-Reible C., Vorgerd M., Urban P., Schrank B., Deschauer M., Schlotter-Weigel B., Kohnen R., Lochmüller H. Treatment of dysferlinopathy with deflazacort: a double-blind, placebo-controlled clinical trial // *Orphanet J. Rare Dis.* – 2013. – Vol. 8, Art. ID: 26. DOI: 10.1186/1750-1172-8-26
99. Bonifati M.D., Ruzza G., Bonometto P., Berardinelli A., Gorni K., Orcesi S., Lanzi G., Angelini C. A multicenter, double-blind, randomized trial of deflazacort versus prednisone in Duchenne muscular dystrophy // *Muscle Nerve.* – 2000. – Vol. 23, No. 9. – P. 1344–1347. DOI: 10.1002/1097-4598(200009)23:9<1344::aid-mus4>3.0.co;2-f
100. Escolar D.M., Hache L.P., Clemens P.R., Cnaan A., McDonald C.M., Viswanathan V., Kornberg A.J., Bertorini T.E., Nevo Y., Lotze T., Pestronk A., Ryan M.M., Monasterio E., Day J.W., Zimmerman A., Arrieta A., Henricson E., Mayhew J., Florence J., Hu F., Connolly A.M. Randomized, blinded trial of weekend vs daily prednisone in Duchenne muscular dystrophy // *Neurology.* – 2011. – Vol. 77, No. 5. – P. 444–452. DOI: 10.1212/WNL.0b013e318227b164
101. Pasquini F., Guerin C., Blake D., Davies K., Karpati G., Holland P. The effect of glucocorticoids on the accumulation of utrophin by cultured normal and dystrophic human skeletal muscle satellite cells // *Neuromuscul. Disord.* – 1995. – Vol. 5, No. 2. – P. 105–114. DOI: 10.1016/0960-8966(94)00042-8
102. Serra F., Quarta M., Canato M., Toniolo L., De Arcangelis V., Trotta A., Spath L., Monaco L., Reggiani C., Naro F. Inflammation in muscular dystrophy and the beneficial effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs // *Muscle Nerve.* – 2012. – Vol. 46, No. 5. – P. 773–784. DOI: 10.1002/mus.23432
103. Aoyagi K., Ohara-Imaizumi M., Nishiwaki C., Nakamichi Y., Nagamatsu S. Insulin/phosphoinositide 3-kinase pathway accelerates the glucose-induced first-phase insulin secretion through TrpV2 recruitment in pancreatic β -cells // *Biochem. J.* – 2010. – Vol. 432, No. 2. – P. 375–386. DOI: 10.1042/BJ20100864
104. Iwata Y., Katanosaka Y., Shijun Z., Kobayashi Y., Hanada H., Shigekawa M., Wakabayashi S. Protective effects of Ca^{2+} handling drugs against abnormal Ca^{2+} homeostasis and cell damage in myopathic skeletal muscle cells // *Biochem. Pharmacol.* – 2005. – Vol. 70, No. 5. – P. 740–751. DOI: 10.1016/j.bcp.2005.05.034
105. Swiderski K., Todorov M., Gehrig S.M., Naim T., Chee A., Stapleton D.I., Koopman R., Lynch G.S. Tranilast administration reduces fibrosis and improves fatigue resistance in muscles of mdx dystrophic mice // *Fibrogenesis Tissue Repair.* – 2014. – Vol. 7, No. 1. – Art. ID: 1. DOI: 10.1186/1755-1536-7-1
106. Hodgetts S., Radley H., Davies M., Grounds MD. Reduced necrosis of dystrophic muscle by depletion of host neutrophils, or blocking TNF α function with Etanercept in mdx mice // *Neuromuscul. Disord.* – 2006. – Vol. 16, No. 9–10. – P. 591–602. DOI: 10.1016/j.nmd.2006.06.011
107. Piers A.T., Lavin T., Radley-Crabb H.G., Bakker A.J., Grounds M., Pinniger G.J. Blockade of TNF *in vivo* using cV1q antibody reduces contractile dysfunction of skeletal muscle in response to eccentric exercise in dystrophic mdx and normal mice // *Neuromuscul. Disord.* – 2011. – Vol. 21, Issue 2. – P. 132–141. DOI: 10.1016/j.nmd.2010.09.013
108. Mahdy M.A.A. Skeletal muscle fibrosis: an overview // *Cell. Tissue Res.* – 2019. – Vol. 375, No. 3. – P. 575–588. DOI: 10.1007/s00441-018-2955-2
109. Tsabari R., Simchovitz E., Lavi E., Eliav O., Avrahami R., Ben-Sasson S., Do T. Safety and clinical outcome of tamoxifen in Duchenne muscular dystrophy // *Neuromuscul. Disord.* – 2021. – Vol. 31. – P. 803–813. DOI: 10.1016/j.nmd.2021.05.005
110. Wu B., Shah S.N., Lu P., Bollinger L.E., Blaeser A., Sparks S., Harper A.D., Lu Q.L. Long-Term Treatment of Tamoxifen and Raloxifene Alleviates Dystrophic Phenotype and Enhances Muscle Functions of FKRP Dystroglycanopathy // *Am. J. Pathol.* – 2018. – Vol. 188, No. 4. – P. 1069–1080. DOI: 10.1016/j.ajpath.2017.12.011

111. Ceco E., McNally E.M. Modifying muscular dystrophy through transforming growth factor- β // *FEBS J.* – 2013. – Vol. 280, No. 17. – P. 4198–4209. DOI: 10.1111/febs.12266
112. Biressi S., Miyabara E.H., Gopinath S.D., Carlig P.M., Rando T.A. A Wnt-TGF β 2 axis induces a fibrogenic program in muscle stem cells from dystrophic mice // *Sci. Transl. Med.* – 2014. – Vol. 6, No. 267. – Art. ID: 267ra176. DOI: 10.1126/scitranslmed.3008411
113. Demonbreun A.R., Fallon K.S., Oosterbaan C.C., Vaught L.A., Reiser N.L., Bogdanovic E., Velez M.P., Salamone I.M., Page P.G.T., Hadhazy M., Quattrocchi M., Barefield D.Y., Wood L.D., Gonzalez J.P., Morris C., McNally E.M. Anti-latent TGF β binding protein 4 antibody improves muscle function and reduces muscle fibrosis in muscular dystrophy // *Sci. Transl. Med.* – 2021. – Vol. 13, No. 610. – Art. ID: eabf0376. DOI: 10.1126/scitranslmed.abf0376
114. Morales M.G., Cabrera D., Céspedes C., Vio C.P., Vazquez Y., Brandan E., Cabello-Verrugio C. Inhibition of the angiotensin-converting enzyme decreases skeletal muscle fibrosis in dystrophic mice by a diminution in the expression and activity of connective tissue growth factor (CTGF/CCN-2) // *Cell Tissue Res.* – 2013. – Vol. 353, No. 1. – P. 173–187. DOI: 10.1007/s00441-013-1642-6
115. Sun G., Haginoya K., Wu Y., Chiba Y., Nakanishi T., Onuma A., Sato Y., Takigawa M., Inuma K., Tsuchiya S. Connective tissue growth factor is overexpressed in muscles of human muscular dystrophy // *J. Neurol. Sci.* – 2008. – Vol. 267, No. 1–2. – P. 48–56. DOI: 10.1016/j.jns.2007.09.043
116. Frazier K., Williams S., Kothapalli D., Klapper H., Grotendorst G.R. Stimulation of fibroblast cell growth, matrix production, and granulation tissue formation by connective tissue growth factor // *J. Invest. Dermatol.* – 1996. – Vol. 107, No. 3. – P. 404–411. DOI: 10.1111/1523-1747.ep12363389
117. Smith L.R., Barton E.R. Regulation of fibrosis in muscular dystrophy // *Matrix. Biol.* – 2018. – Vol. 68–69. – P. 602–615. DOI: 10.1016/j.matbio.2018.01.014
118. de Winter J.M., Gineste C., Minardi E., Brocca L., Rossi M., Borsboom T., Beggs A.H., Bernard M., Bendahan D., Hwee D.T., Malik F.I., Pellegrino M.A., Bottinelli R., Gondin J., Ottenheijm C.A.C. Acute and chronic tirasemtiv treatment improves *in vivo* and *in vitro* muscle performance in actin-based nemaline myopathy mice // *Hum. Mol. Genet.* – 2021. – Vol. 30, No. 14. – P. 1305–1320. DOI: 10.1093/hmg/ddab112
119. McPherron A.C., Lawler A.M., Lee S.J. Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF-beta superfamily member // *Nature.* – 1997. – Vol. 387, No. 6628. – P. 83–90. DOI: 10.1038/387083a0
120. Guiraud S., Davies K.E. Pharmacological advances for treatment in Duchenne muscular dystrophy // *Curr. Opin. Pharmacol.* – 2017. – Vol. 34. – P. 36–48. DOI: 10.1016/j.coph.2017.04.002
121. Rybalka E., Timpani C.A., Debruin D.A., Bagaric R.M., Campelj D.G., Hayes A. The Failed Clinical Story of Myostatin Inhibitors against Duchenne Muscular Dystrophy: Exploring the Biology behind the Battle // *Cells.* – 2020. – Vol. 9, No. 12. – Art. ID: 2657. DOI: 10.3390/cells9122657
122. Корокин М.В., Солдатов В.О., Гудырев О.С., Коклин И.С., Таран Э.И., Мишенин М.О., Корокина Л.В., Кочкаров А.А., Покровский М.В., Вараксин М.В., Чупахин О.Н. Роль метаболизма кортизола в реализации патогенетических звеньев развития остеопороза – обоснование поиска новых фармакотерапевтических мишеней (обзор). Научные результаты биомедицинских исследований. – 2022. – Т. 8, № 4. – С. 457–473. DOI: 10.18413/2658-6533-2022-8-4-0-5

АВТОРЫ

Покровский Михаил Владимирович – доктор медицинских наук, профессор кафедры фармакологии и клинической фармакологии, руководитель НИИ фармакологии живых систем, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0002-2761-6249. E-mail: mpokrovsky@yandex.ru

Корокин Михаил Викторович – доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры фармакологии и клинической фармакологии, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0001-5402-0697. E-mail: mkorokin@mail.ru

Краюшкина Анастасия Михайловна – ассистент кафедры фармакологии и клинической фармакологии, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0002-6830-3820. E-mail: annkrayushkina98@gmail.com

Жунусов Никита Сергеевич – ассистент кафедры фармакологии и клинической фармакологии, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0002-1969-3615. E-mail: nzhunu@mail.ru

Лاپин Константин Николаевич – научный сотрудник лаборатории экспериментальных исследований НИИ общей реаниматологии имени В.А. Неговского РАН. ORCID ID: 0000-0002-7760-3526. E-mail: k.n.lapin@gmail.com

Солдатова Мария Олеговна – лаборант-исследователь НИИ Популяционной генетики и эпидемиологии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет». ORCID ID: 0000-0001-6637-1654. E-mail: mar.sold46@gmail.com

Кузьмин Егор Александрович – лаборант кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова». ORCID ID: 0000-0003-4098-1125. E-mail: eg.ku@yandex.ru

Гудырев Олег Сергеевич – кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры фармакологии и клинической фармакологии, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0003-0097-000X. E-mail: gudyrev@mail.ru

Кочкарова Индира Султановна – младший научный сотрудник НИИ Фармакологии живых систем ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0001-6202-9923. E-mail: kochkarova@bsu.edu.ru

Дейкин Алексей Васильевич – кандидат биологических наук, доцент кафедры фармакологии и клинической фармакологии, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0002-8151-6337. E-mail: deykin@bsu.edu.ru

УДК 616.988-08:578.834.1



АКТУАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ ЭТИОТРОПНОЙ ТЕРАПИИ COVID-19

Д.Н. Земсков¹, Л.А. Балыкова¹, О.А. Радаева¹, К.Я. Заславская¹, П.А. Белый²,
Е.В. Семенова¹, М.В. Ширманкина¹, К.Н. Корянова³

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва», 43005, Россия, г. Саранск, ул. Большевикская, д. 68

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова», Министерства здравоохранения Российской Федерации, 127473, Россия, г. Москва, ул. Делегатская, д. 20/1

³ Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 357532, Россия, г. Пятигорск, пр-т Калинина, д. 11

E-mail: dizem1978@gmail.com

Получена 01.09.2022

После рецензирования 03.10.2022

Принята к печати 08.10.2022

С начала пандемии предпринимались неоднократные попытки разработки этиотропной терапии новой коронавирусной инфекции. В качестве противовирусных средств использовались производные гидроксихлорохина, лопинавир/ритонавир и др., однако они продемонстрировали невысокую эффективность и недостаточную безопасность. В связи с чем, в настоящее время активно применяются другие группы препаратов, обладающих более эффективным и безопасным фармакологическим профилем.

Цель. Анализ литературных данных по эффективности и безопасности противовирусных препаратов для лечения COVID-19.

Материалы и методы. При поиске материала для написания обзорной статьи использовали такие реферативные базы данных, как PubMed, Google Scholar, e-Library. Поиск осуществлялся по публикациям за период с января 2020 по сентябрь 2022 г. Ключевые запросы: COVID-19, этиотропная терапия/etiotropic therapy; иммунологические препараты/immunologic drugs; противовирусные препараты/antiviral drugs; интерфероны/interferons.

Результаты. В настоящее время имеются в разной степени эффективные этиотропные препараты для лечения пациентов с COVID-19. В обзоре рассмотрены несколько групп лекарственных препаратов, представляющих интерес с точки зрения этиотропной терапии: иммунологические препараты (антиковидная плазма, препараты на основе противовирусных антител, препараты рекомбинантных интерферонов- $\alpha 2$ и - $\beta 1$, а также индукторы интерферона, например, препараты на основе РНК двуспиральной натриевой соли и др.); препараты, блокирующие проникновение вируса в клетку (умифеновир); препараты, нарушающие процесс репликации вируса (фавипиравир, ремдесивир, молнупиравир, нирматрелвир/ритонавир).

Заключение. Наиболее объемную доказательную базу данных по эффективности и безопасности имеют синтетические противовирусные средства, в частности фавипиравир, молнупиравир, ремдесивир и нирматрелвир/ритонавир. Поиск новых эффективных и безопасных этиотропных препаратов для лечения COVID-19 продолжается, также как сбор и анализ пострегистрационных данных об уже применяющихся в клинической практике средствах.

Ключевые слова: COVID-19; интерфероны; молнупиравир; фавипиравир; нирматрелвир/ритонавир; этиотропная терапия

Список сокращений: ИНФ – интерферон; ИИ – индукторы интерферонов; ВВИГ – внутривенный иммуноглобулин; дсРНК – двуспиральная рибонуклеиновая кислота; мРНК – малая интерферирующая рибонуклеиновая кислота; ОРДС – острый респираторный дистресс-синдром; ОШ – отношение шансов; ДИ – доверительный интервал; ОР – отношение рисков; НЯ – нежелательные явления; ИВЛ – искусственная вентиляция легких.

CURRENT ASPECTS OF ETIOTROPIC COVID-19 THERAPY

D.N. Zemskov¹, L.A. Balykova¹, O.A. Radaeva¹, K.Ya. Zaslavskaya¹, P.A. Bely²,
E.V. Semenova¹, M.V. Shirmankina¹, K.N. Koryanova³

¹ National Research Ogarev Mordovia State University, 68, Bol'shevistskaya Str., Saransk, Republic of Mordovia, Russia, 430005

² Evdokimov Moscow State Medical and Dental University, Bld. 1, 20, Delegatskaya Str., Moscow, Russia, 127473

³ Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University, 11, Kalinin Ave., Pyatigorsk, Russia, 357532

E-mail: dizem1978@gmail.com

Received 01 Sep 2022

After peer review 03 Oct 2022

Accepted 08 Oct 2022

Для цитирования: Д.Н. Земсков, Л.А. Балыкова, О.А. Радаева, К.Я. Заславская, П.А. Белый, Е.В. Семенова, М.В. Ширманкина, К.Н. Корянова. Актуальные аспекты этиотропной терапии COVID-19. Фармация и фармакология. 2022;10(5):432-445. DOI: 10.19163/2307-9266-2022-10-5-432-445

© Д.Н. Земсков, Л.А. Балыкова, О.А. Радаева, К.Я. Заславская, П.А. Белый, Е.В. Семенова, М.В. Ширманкина, К.Н. Корянова, 2022

For citation: D.N. Zemskov, L.A. Balykova, O.A. Radaeva, K.Ya. Zaslavskaya, P.A. Bely, E.V. Semenova, M.V. Shirmankin, K.N. Koryanova. Current aspects of etiotropic COVID-19 therapy. *Pharmacy & Pharmacology*. 2022;10(5):432-445. DOI: 10.19163/2307-9266-2022-10-5-432-445

Since the beginning of the pandemic, repeated attempts have been made to develop etiotropic therapy for a novel coronavirus infection. Hydroxychloroquine, lopinavir/ritonavir, etc. derivatives were used as antiviral agents, however, they demonstrated a low efficiency and an insufficient safety. In this connection, other groups of drugs with a more effective and safe pharmacological profile are currently being actively used.

The aim of the study was to analyze the literature references on the efficacy and safety of antiviral drugs for the COVID-19 treatment.

Materials and methods. When searching for the materials for the review article writing, such abstract databases as PubMed, Google Scholar, e-Library were used. The search was carried out on publications for the period from January 2020 to September 2022. The key queries were: COVID-19, etiotropic therapy; immunological drugs; antiviral drugs; interferons.

Results. Currently, there are various degrees of effective etiotropic drugs for the treatment of COVID-19 patients. The review has considered a few groups of drugs that are of interest from the point of view of etiotropic therapy: immunological drugs (anticovid plasma, the drugs based on antiviral antibodies, the drugs of recombinant interferons- $\alpha 2$ and - $\beta 1$, as well as interferon inducers, i.e., the drugs based on double-stranded RNA sodium salt, and others); drugs that block the penetration of the virus into the cell (umifenovir); the drugs that disrupt the process of the viral replication (favipiravir, remdesivir, molnupiravir, nirmatrelvir/ritonavir).

Conclusion. Synthetic antivirals, in particular favipiravir, molnupiravir, remdesivir, and nirmatrelvir/ritonavir, have the largest evidence base for their efficacy and safety. The search for new effective and safe etiotropic drugs for the treatment of COVID-19, as well as the collection and analysis of post-registration data on the drugs already used in clinical practice, continues.

Keywords: COVID-19; interferons; molnupiravir; favipiravir; nirmatrelvir/ritonavir; etiotropic therapy

Abbreviations: IFN – interferon; II – interferon inducers; IVIG – intravenous immunoglobulin; dsRNA – double-stranded ribonucleic acid; siRNA – small interfering RNA; ARDS – acute respiratory distress syndrome; OR – odds ratio; CI – confidence interval; RR – risk ratio; AE – adverse events; ALV – artificial lung ventilation.

ВВЕДЕНИЕ

Новая коронавирусная инфекция бросила вызов всему человечеству, показав глобальную уязвимость общества перед инфекционными заболеваниями. Основной мишенью SARS-CoV-2 является дыхательная система, однако, помимо фатальных легочных осложнений COVID-19, у пациентов отмечаются разнообразные опасные внелегочные проявления, в том числе тромботические осложнения, острое почечное повреждение, «острые» кардиоваскулярные нарушения [1, 2]. Прогноз при COVID-19 определяется сочетанием индивидуальных факторов риска (возраст, сопутствующие заболевания, организация медицинской помощи).

В ретроспективном исследовании Magleby R. и соавт., включающем 678 госпитализированных пациентов с COVID-19, было продемонстрировано, что независимым фактором риска летальности (отношение шансов (ОШ)=6,05; $p < 0,001$) и перевода на искусственную вентиляцию легких (ИВЛ) (ОШ=2,73; $p < 0,001$) является высокая вирусная нагрузка [3]. Раннее начало противовирусной терапии способствует эффективному снижению вирусной нагрузки, позволяет снизить риск прогрессирования заболевания и улучшить прогноз [4]. В связи с этим в ранней фазе болезни, когда отмечается максимальная скорость репликации SARS-CoV-2, основное значение имеет противовирусная терапия, тогда как в более поздние сроки ведущее место в патогенезе болезни приобретает гипертрофический синдром и коагулопатия, соответственно, возрастает роль противовоспалительных препаратов (глюкокортикостероидов), иммуномодулирующих средств, антикоагулянтов и их комбинации [5]. Однако следует отметить, что противовирусная терапия остается значимой даже на поздних сроках заболевания, ввиду длительного (от 17 до 27 дней) выделения вируса у больных, особенно с тяжелым течением инфекции [6].

С начала пандемии предпринимались

неоднократные попытки разработки этиотропной терапии новой коронавирусной инфекции. В качестве противовирусных средств использовались производные гидроксихлорохина, лопинавир/ритонавир и др., однако они продемонстрировали невысокую эффективность и недостаточную безопасность [7–10]. В связи с чем, в настоящее время активно применяются другие группы препаратов, обладающих более эффективным и безопасным фармакологическим профилем.

ЦЕЛЬ. Анализ литературных данных по эффективности и безопасности противовирусных препаратов для лечения COVID-19.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

При поиске материала для написания обзорной статьи использовали такие реферативные базы данных, как PubMed, Google Scholar, e-Library. Поиск осуществлялся по публикациям за период с января 2020 по сентябрь 2022 г. Ключевые запросы: COVID-19, этиотропная терапия/etiotropic therapy; иммунологические препараты/immunologic drugs; противовирусные препараты/antiviral drugs; интерфероны/interferons. В качестве источников рассматривались данные как клинических исследований, так и *in vitro*.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На текущий момент можно выделить следующие группы этиотропных препаратов для терапии COVID-19 (табл. 1):

- 1) иммунологические препараты (антиковидная плазма, препараты на основе противовирусных антител, препараты рекомбинантных интерферонов- $\alpha 2$ и - $\beta 1$, а также индукторы интерферона, например, препараты на основе РНК двуспиральной натриевой соли и др.);
- 2) препараты, блокирующие проникновение вируса в клетку (умифеновир);
- 3) препараты, нарушающие процесс репликации

вируса (фавипиравир, ремдесивир, молнупиравир, нирматрелвир/ритонавир)

1. Иммунологические препараты

1.1. Антиковидная плазма

Плазма от пациентов, перенесших COVID-19, является источником противовирусных антител и рассматривается как метод лечения, подкрепленный значительным историческим опытом, но все еще перспективный в контексте SARS-CoV-2. Помимо противовирусного (вируснейтрализующего) действия плазма снижает антителозависимую клеточную цитотоксичность, активацию комплемента и фагоцитоза [11]. Теоретически введение реконвалесцентной плазмы на ранней стадии заболевания является более эффективным [12], поскольку пик вирусемии отмечается на первой неделе заражения, а собственный первичный иммунный ответ обычно развивается на 10–14 сут [13]. Также, помимо прямых противовирусных эффектов, компоненты плазмы могут восстанавливать активность системы гемостаза [14].

В описании отдельных серий клинических случаев использования плазмы на фоне традиционной терапии и в контролируемом исследовании у пациентов с тяжелой формой COVID-19 в 76–90% были получены положительные результаты [15–17]. Выбор донора в соответствии с титрами или активностью нейтрализующих антител может дополнительно повысить эффективность антиковидной плазмы [18]. Клинико-биохимическими предикторами эффективности плазмы являются лимфопения, повышенный уровень прокальцитонина, ферритина, D-димера и С-реактивного белка. Считается, что предпочтение следует отдавать пациентам, которые находятся в некритическом состоянии, на ранней стадии болезни [19]. Потенциальная опасность заключается в усилении заболевания в присутствии определенных антител – антителозависимое усиление проникновения коронавируса [20]. Анализ более 5000 пациентов с тяжелой или угрожающей жизни инфекцией COVID-19, получавших антиковидную плазму, показал, что серьезные нежелательные явления (НЯ) отмечались у <1% пациентов в первые 4 ч после инфузии [21].

1.2. Внутривенный иммуноглобулин

Внутривенный иммуноглобулин (ВВИГ) способен ингибировать активацию каскада комплемента провоспалительных цитокинов, дифференцировку и активацию дендритных клеток, а также активацию нейтрофилов и формирование нейтрофильных внеклеточных ловушек [22]. Учитывая, что данные механизмы могут играть большую роль в патогенезе новой коронавирусной инфекции, ВВИГ является одним из вариантов терапии COVID-19 [23]. По данным многоцентрового двойного слепого плацебо-контролируемого исследования (3 фазы) с участием 146 пациентов (из которых 69 получали ВВИГ, 77 – плацебо) с острым респираторным дистресс-синдромом (ОРДС) вследствие COVID-19,

использование ВВИГ не приводило к улучшению клинических исходов (на 28 сут) и ассоциировалось с незначительным увеличением частоты тромбоэмболических осложнений [24].

1.3. Интерфероны

Исходя из патогенетических механизмов развития инфекции, вызванной SARS-CoV-2, возможной лекарственной мишенью является система интерферона (ИНФ). Вирус SARS-CoV-2 способен ингибировать индукцию интерферонов I и III типов [25]. В исследовании Contoli M. и соавт. у госпитализированных пациентов с COVID-19 и дыхательной недостаточностью были выявлены в 3,8 раза более низкие уровни ИНФ-α по сравнению с контрольной группой. При этом улучшение состояния больных сопровождалось повышением уровня того же ИНФ-α в крови [26]. Кроме того, у пациентов с врожденными дефектами в системе ИНФ I типа (с наличием аутоантител) отмечается предрасположенность к тяжелому течению COVID-19 [27]. Противовирусный эффект ИНФ-α2b в лечении COVID-19 определяется временем начала терапии [28].

1.4. РНК двуспиральной натриевой соли

Накопленные к настоящему времени данные показывают, что индукторы интерферона (ИИ) на основе двуспиральной рибонуклеиновой кислоты, натриевой соли дсРНК, являясь мультиклональным стимулятором, индуцируют синтез ИНФ несколькими клеточными популяциями (клетки мононуклеарно-фагоцитарной системы, гранулоциты, нейтрофилы, клетки эндотелия и фибробласты), характеризуются высокой активностью (специфической) и безопасностью.

Посредством активации ряда Toll-like рецепторов дсРНК стимулирует синтез эндогенных ИНФ (α, β, γ), которые блокируют способность клеток поддерживать размножение вирусов как за счёт активации синтеза белков, тормозящих процесс производства вирусных копий в пораженных клетках, так и, возможно, повреждая генетический материал вируса при взаимодействии с клеткой хозяина (по принципу схожему с эффектами миРНК). В дальнейшем происходит активация НК-клеток и механизмов адаптивного иммунитета.

В Российской Федерации зарегистрирован лекарственный препарат на основе натриевой соли дсРНК (Радамин®Виро ЛС-000381¹ от 03.08.2010, дата переоформления 27.12.2021). При введении в организм дсРНК стимулирует образование эндогенных ИНФ I (ИНФ-α, ИНФ-β) и ИНФ II (ИНФ-γ) типов, которые являются важнейшими цитокинами иммунного ответа, индуцируют дифференцировку миелоидных клеток, стимулируют фагоцитоз нейтрофилов и макрофагов, активируют НК-клетки, усиливают Т-хелперный ответ Th1-типа, таким образом, запускают врожденный и адаптивный

¹ Государственный реестр лекарственных средств. Инструкция к препарату Радамин®Виро. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=27d5a81d-b2e9-49d2-a9e6-1f1c9eacbaa4

иммунный ответ. Противовирусное действие препарата связано с активацией синтеза белков, тормозящих процесс производства вирусных копий в пораженных клетках [29].

ДсРНК относится к индукторам интерферона «раннего типа», при этом продукция ИНФ происходит уже через 2–6 ч после введения препарат с возвратом к фоновым значениям в течение 2 сут. Препарат подавляет репродукцию вирусов и различных микроорганизмов (в т.ч. числе хламидий) на клеточном уровне, препятствует развитию инфекционного процесса за счет активации неспецифической резистентности организма, оптимизируя воспалительные реакции. За счет своего механизма действия препарат обеспечивает высокую защиту организма уже на ранних стадиях заражения вирусными или бактериальными инфекциями, обладает выраженным противовоспалительным действием, а также опосредованно стимулирует репаративные и регенераторные процессы в организме, оказывает противовирусное, антибактериальное и иммуностимулирующее действие, а также повышает устойчивость организма к инфекции [29].

Сама по себе дсРНК в качестве ИИ известна уже более 10 лет. Однако новая технология производства натриевой соли дсРНК позволила получить высокоочищенный биологический продукт, что существенно повышает безопасность препарата и открывает широкие перспективы его использования в клинической практике [29].

2. Препараты, блокирующие проникновение вируса в клетку

2.1. Умифеновир

Одним из первых широко используемых с момента начала пандемии синтетических противовирусных препаратов в нашей стране был умифеновир. Он представляет собой противовирусный препарат широкого спектра действия, который блокирует проникновение вирусов в «клетки-хозяина», ингибируя слияние липидной оболочки вируса с клеточной мембраной. Изначально умифеновир разрабатывался для профилактики и лечения гриппа [30]. Он продемонстрировал активность в отношении SARS-CoV-2 *in vitro* [31]. В мета-анализе, посвященном оценке эффективности и безопасности применения умифеновира при COVID-19, было выявлено, что препарат связан с более высокой частотой регистрации отрицательных результатов ПЦР на 14-й день заболевания (ОШ=1,27; 95% ДИ=1,04–1,55) по сравнению с контрольной группой, однако, не ассоциирован со снижением риска прогрессирования COVID-19, клиническим улучшением и сокращением продолжительности пребывания в стационаре [32].

3. Препараты, нарушающие процесс репликации вируса

В последнее время основное значение в разработке стратегии противовирусной терапии

COVID-19 придается препаратам, способным ингибировать РНК-зависимую РНК-полимеразу прямого направленного действия, которая является важным ферментом РНК-содержащих вирусов, обеспечивающим процесс их репликации [33].

3.1. Фавипиравир

Фавипиравир, синтезированный и запатентованный японскими учеными Furuta Y. и др. в конце 1990-х гг., являлся противовирусным препаратом широкого спектра действия, предложенным для лечения тяжелых вирусных инфекций, в том числе гриппа А, В и С, а также лихорадки Эбола [34]. В 2014 году данный препарат был одобрен в Японии для лечения инфекции, вызванной пандемическим вариантом вируса гриппа, или при неэффективности других лекарственных препаратов. Последующие исследования показали, что фавипиравир обладает высокой активностью в отношении большой группы РНК-содержащих вирусов, таких как вирусы гриппа, бунья-, арена-, флави-, пикоранавирусы и др. [35]. В экспериментальном исследовании Yamada K. и соавт. было показано, что фавипиравир эффективен для постконтактной профилактики бешенства и может быть подходящей альтернативой иммуноглобулинам [36]. Фавипиравир показал хорошую ингибирующую активность *in vitro* в отношении SARS-CoV-2, однако для получения эффективных подавляющих концентраций и обеспечения противовирусной активности необходимы относительно высокие дозы препарата [35].

Фавипиравир представляет собой пролекарство, активной формой которого является рибофуранозил-трифосфат. В качестве аналога нуклеозида он ингибирует комплекс РНК-зависимой РНК-полимеразы SARS-CoV-2 посредством связывания с его каталитическим доменом и предотвращения включения нуклеотидов для репликации вирусной РНК, что приводит к увеличению частоты мутаций и, возможно, летальному мутагенезу. Также важно отметить, что РНК-зависимая РНК-полимераза отсутствует в клетках человека, поэтому препарат активен только в отношении вирусных частиц [37, 38].

Министерством здравоохранения Российской Федерации было выдано ускоренное разрешение на использование препаратов фавипиравира для лечения COVID-19 [37]. Аналогичные разрешения получены в Китае, Индии и ряде других стран. По результатам II/III фазы клинического исследования на 60 пациентах терапия фавипиравиром была хорошо переносимой и безопасной и приводила к клиренсу вируса у 62,5% пациентов с COVID-19 через 4 сут. На 5 сут в два раза больше пациентов, принимавших фавипиравир, получили отрицательный результат ПЦР на SARS-CoV-2 по сравнению с пациентами контрольной группы ($p < 0,05$) [39].

Было проведено множество клинических испытаний и обсервационных исследований, в которых сообщалось об эффективности и безопасности фавипиравира при лечении пациентов

с COVID-19 [38–44]. Alamer A. и соавт. проведена оценка эффективности фавипиравира в лечении COVID-19 ($n=457$). Установлено, что среднее время от начала заболевания до выписки составляло 10 сут (95% ДИ = 9–10) в группе пациентов, получающих фавипиравир ($n=234$), против 15 сут (95% ДИ = 14–16) в группе сравнения, получавшей поддерживающую терапию ($n=223$) [38]. В проспективном открытом многоцентровом клиническом исследовании, включавшем 240 пациентов с COVID-19 (120 пациентов получали фавипиравир, 120 – умифеновир), в группе пациентов, получавших фавипиравир, отмечалось более быстрое снижение температуры и уменьшение выраженности кашля [40].

По результатам открытого рандомизированного многоцентрового сравнительного исследования ($n=206$) применение фавипиравира для лечения COVID-19 способствовало более быстрому улучшению состояния (6–8 сут) по сравнению с использованием стандартной терапии (7–12 сут), а также характеризовалось благоприятным профилем безопасности. По данным ПЦР элиминация SARS-CoV-2 к 10 дню терапии регистрировалась у 98% пациентов, получавших фавипиравир, и у 80% в контрольной группе ($p=0,00007$). НЯ отмечались у 24,04% пациентов основной группы и у 27,45% контрольной группы [41].

В ряде мета-анализов, обобщивших данные клинических исследований, была подтверждена польза добавления фавипиравира к стандартной терапии [43, 44]. У госпитализированных пациентов фавипиравир, по сравнению с контрольной группой, получавшей только стандартную терапию, способствовал более быстрой элиминации вируса – в среднем на 5 сут (ОШ=1,60; $p=0,02$), более раннему снижению температуры – в среднем на 3–4-е сут (ОШ=1,99; $p < 0,01$), улучшению рентгенологической картины в легких (ОШ=1,33; $p < 0,01$) и более ранней выписке из стационара (ОШ=1,19; $p < 0,01$). Что касается НЯ, то в группе фавипиравира была зафиксирована более высокая частота гиперурикемии (ОШ=9,42; $p < 0,01$), повышения уровня аланинаминотрансферазы (ОШ=1,354; $p < 0,01$), но более низкая частота тошноты (ОШ=0,42; $p < 0,01$) и рвоты (ОШ = 0,19; $p = 0,02$). Авторы пришли к выводу, что добавление фавипиравира к стандартной терапии приносит пользу госпитализированным пациентам с COVID-19. В то же время отмечено, что беременным, кормящим женщинам и пациентам с гиперурикемией в анамнезе следует избегать применения фавипиравира [43].

Фавипиравир для приема внутрь оказался достаточно эффективным и безопасным для терапии новой коронавирусной инфекции как легкого, так и среднетяжелого течения и прочно занял свою нишу в амбулаторной практике. Однако при осложненном течении парентеральная терапия имеет преимущества перед пероральным способом доставки лекарственного вещества. Данная терапия может применяться в ситуациях, когда пациент находится в тяжелом состоянии или без сознания, имеет затруднения при глотании

или состояния, препятствующие этому. Также это может быть важно при ЖКТ-симптомах COVID-19, у пациентов с антибиотик-ассоциированной диареей (при бесконтрольном применении комбинации антибиотиков на амбулаторном этапе), обострении хронических заболеваний ЖКТ и псевдомембранозном колите и других ситуациях, когда пероральное введение затруднительно. Внутривенный путь введения лекарственного средства применяется для быстрого и выраженного результата, так как препарат сразу попадает в кровь, быстро обесценивается максимальной биодоступностью и фармакокинетика в целом более предсказуемая – нет взаимодействия с пищей и пищеварительными ферментами [42]. Ввиду чего в 2021 году в РФ была разработана и зарегистрирована новая лекарственная форма фавипиравира для парентерального введения – Арепливир® (ПУ ЛП-007598 от 18.05.2022). В клинических центрах Москвы, Смоленска, Ярославля, Санкт-Петербурга, Саранска и Рязани было проведено открытое рандомизированное многоцентровое сравнительное исследование фавипиравира для парентерального введения ($n=209$) у госпитализированных пациентов 18–80 лет со среднетяжелой формой коронавирусной инфекции. По результатам исследования были получены данные, подтверждающие высокую эффективность и безопасность применения парентеральной формы фавипиравира для лечения COVID-19. В основной группе улучшение клинического статуса на 2 и более балла по шкале Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) к 10-му дню терапии, что соответствует слабовыраженным симптомам или полному отсутствию признаков заболевания, отмечалось у 56,86% пациентов, а в группе контроля (пациенты, получающие стандартную терапию) – у 28,04% ($p < 0,0001$). В группе пациентов, получающих фавипиравир, улучшение клинического статуса наступало быстрее (медиана – 5 сут), чем в контрольной (7 сут) группе. На 5 и 14 сут лечения (визит 2 и 4) регистрировали более выраженное улучшение клинического статуса в основной группе в отличие от пациентов группы сравнения [42].

Более быстрое и усиленное действие фавипиравира для парентерального применения направлено на повышение эффективности терапии и предотвращение развития крайне тяжелого течения COVID-19, попадания в ОПИТ и смерти [42, 45].

3.2. Ремдесивир

Одним из первых препаратов из группы ингибиторов РНК-зависимой РНК-полимеразы был ремдесивир, первоначально разработанный для лечения инфекции, вызванной вирусом Эбола. Он представляет собой пролекарство, подавляющее размножение широкого круга вирусов, в том числе фило-, парамиксо-, пневмо- и орто-коронавирусов (SARS-CoV и коронавирус ближневосточного респираторного синдрома [MERS-CoV]) [46–48]. Данный препарат вводится парентерально, что затрудняет его использование в амбулаторных

условиях². Ремдесивир в высоких дозах ингибирует фермент РНК-зависимую РНК-полимеразу вируса, вызывая замедленное обрывание цепи РНК и не влияя на активность человеческих полимераз³ [49, 50].

Национальный институт аллергии и инфекционных заболеваний (National Institute of Allergy and Infectious Diseases, NIAID) в США инициировал плацебо-контролируемое двойное слепое рандомизированное исследование III фазы для оценки эффективности и безопасности ремдесивира по сравнению с плацебо (NCT04280705). В данное исследование было включено 1062 госпитализированных пациента с COVID-19 и признаками инфекции нижних дыхательных путей (541 пациент в группе ремдесивира, 521 – плацебо). У пациентов, получавших терапию ремдесивиром, среднее время выздоровления составило 10 сут (95% ДИ=9–11), по сравнению с 15 днями (95% ДИ=13–18) в группе плацебо (ОШ=1,29; 95% ДИ=1,12–1,49; $p < 0,001$). О серьезных НЯ сообщалось у 131 из 532 пациентов, получавших ремдесивир (24,6%), и у 163 из 516 пациентов, получавших плацебо (31,6%). Авторами был сделан вывод о том, что ремдесивир превосходит плацебо в отношении влияния на длительность заболевания и выраженность клинической симптоматики [46].

У пациентов с COVID-19 средней степени тяжести, получивших 10-дневный курс ремдесивира, не было статистически значимой разницы в клиническом статусе по сравнению со стандартной терапией к 11 дню лечения. Пациенты, получавшие 5-дневный курс ремдесивира, имели статистически значимую разницу в клиническом состоянии по сравнению со стандартной терапией (ОШ=1,65; 95% ДИ =1,09–2,48; $p=0,02$), но эта разница, по мнению исследователей, не имела клинического значения [50]. В части других рандомизированных исследований также не удалось получить убедительных доказательств эффективности ремдесивира.

Несмотря на неоднозначность результатов исследований FDA одобрило ремдесивир для применения у госпитализированных взрослых пациентов с тяжелой формой COVID-19. В дальнейшем спектр показаний был расширен и ремдесивир был рекомендован также для лечения детей в возрасте ≥ 28 дней с массой тела ≥ 3 кг с COVID-19⁴. В поддержку окончательного одобрения были также опубликованы данные ряда других клинических исследований [51–56]. В двойном слепом плацебо-контролируемом исследовании ($n=562$), включавшем невакцинированных амбулаторных пациентов в возрасте ≥ 12 лет (с одним и более факторами риска развития тяжелой формы COVID-19), риск госпитализации был на 87% ниже в

группе ремдесивира ($n=279$) по сравнению с плацебо ($n=283$) (95% ДИ=0,03–0,59) [51]. В исследовании Goldman D.L. и соавт. у 77 детей с тяжелым течением COVID-19 терапия ремдесивиром характеризовалась благоприятным профилем безопасности с высокой частотой клинического выздоровления [52].

К настоящему времени получены результаты множества дополнительных рандомизированных контролируемых испытаний и мета-анализов, выводы которых по прежнему противоречивы. Среди этих работ наиболее авторитетным представляется независимое исследование ВОЗ Solidarity, которое по результатам промежуточного анализа не выявило существенного эффекта ремдесивира (как и других противовирусных препаратов) на показатели смертности у госпитализированных пациентов с COVID-19 [54]. По этой причине ВОЗ первоначально не рекомендовала применять ремдесивир у таких пациентов. Однако продолжение исследования позволило установить, что ремдесивир не оказывал влияния на выживаемость вентилируемых пациентов с COVID-19, тогда как в небольшой степени снижал риск смерти (до 14,6% по сравнению с 16,3% в контрольной группе) или перехода на ИВЛ (14,1% против 15,7% в контрольной группе) госпитализированных пациентов [54]. Исходя из этих данных, ВОЗ пересмотрела свои заключения относительно возможности применения ремдесивира и в настоящее время ремдесивир рекомендован при легкой или средней степени тяжести COVID-19, при условии высокого риска госпитализации⁵. Singh S. и соавт. обобщили данные 4 исследований с участием 7324 пациентов. При применении ремдесивира по сравнению с контрольной группой не наблюдалось снижения смертности (OR=0,92; 95% ДИ=0,79–1,07; $p=0,30$). Авторы пришли к выводу, что исходя из отсутствия значимого влияния на смертность и учитывая высокую стоимость препарата, его применение при COVID-19 не является целесообразным, особенно в странах с низким уровнем дохода [55].

3.3. Молнупиравир

Еще одним инновационным препаратом, ранее не применявшимся в клинической практике и получившим ускоренное одобрение в период пандемии COVID-19, стал молнупиравир. Он является пролекарством, аналогом N-гидроксицитидина, который фосфорилируется с образованием трифосфата N-гидроксицитидина и с помощью РНК-полимеразы встраивается в вирусную РНК, приводя к накоплению мутаций в геноме вируса и в последствие ингибируя репликацию [57]. Молнупиравир активен в отношении РНК-содержащих вирусов, включая и SARS-CoV-2, что показано в экспериментах *in vitro* и *in vivo* [58]. Результаты клинических исследований I/II/III фазы подтвердили эффективность и безопасность использования молнупиравира при COVID-19 [59, 60].

² Cohen P., Gebo K. COVID-19: Outpatient evaluation and management of acute illness in adults // UpToDate. Literature review current through: Jun 2022.

³ Coronavirus (COVID-19) update: FDA approves first COVID-19 treatment for young children. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/coronavirus-covid-19-update-fda-approves-first-covid-19-treatment-young-children>.

⁴ Там же.

⁵ Ремдесивир при COVID-19. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/359753/WHO-2019-nCoV-Therapeutics-Remdesivir-Poster-A-2022.1-eng.pdf>

При проведении клинического исследования I фазы на здоровых добровольцах (n=130) были получены данные о хорошей переносимости препарата. У 35,4% и 43,8% (контрольная группа) пациентов отмечались легкие побочные эффекты при применении однократной дозы, у 42,9% и 50,0% (контрольная группа) при использовании многократных нарастающих доз соответственно [59]. По результатам клинического исследования фазы IIa (n=202) период элиминации вируса SARS-CoV-2 по данным ПЦР был короче в исследуемой группе по сравнению с пациентами, получавшими плацебо (медиана 14 сут для молнупиравира и 27 сут для плацебо; $p = 0,01$)⁶.

В двойное слепое рандомизированное плацебо-контролируемое исследование MOVE-OUT III фазы были включены 1433 негоспитализированных взрослых пациента с легкой и средней степенью тяжести COVID-19 (наиболее распространенными вариантами SARS-CoV-2 были δ (58,1%), μ (20,5%), γ (10,7%) и наличием, как минимум, одного фактора риска тяжелого течения новой коронавирусной инфекции (716 участников получали молнупиравир, 717 – плацебо). Пациенты из 15 российских центров также принимали участие в исследовании MOVE-OUT. Риск госпитализации или смерти был ниже в группе пациентов, принимавших молнупиравир (6,8%) по сравнению с приемом плацебо (9,7%) (95% ДИ=5,9–0,1%). Частота регистрации НЯ (в т.ч. вирусной пневмонии) в группе пациентов, получавших молнупиравир, была сопоставимой с таковой в группе плацебо (30,4% и 33,0% соответственно). Наиболее часто встречающимися побочными эффектами были: диарея (1,7% и 2,1%), тошнота (1,4% и 0,7%) и головокружение (1,0% и 0,7%) [60].

Ввиду роста заболеваемости COVID-19 и необходимостью внедрения в клиническую практику эффективных лекарственных средств для его лечения в Российской Федерации также был разработан и зарегистрирован препарат молнупиравира (Эсперавир®) в пероральной лекарственной форме – капсулы (ЛП-007856 от 18.05.2022)⁷. По результатам клинического исследования с участием 240 амбулаторных пациентов с COVID-19 легкого и среднетяжелого течения из 12 российских центров, применение молнупиравира в течение 5 дней в дозе 800 мг 2 раза в сутки приводило к снижению в 4 раза риска ухудшения течения заболевания ко 2-ой неделе исследования по сравнению со стандартной терапией ($p=0,0149$). Необходимо отметить, что около 70% пациентов, принимавших участие в исследовании, имели сопутствующие заболевания (в основном ожирение II степени и выше, а также артериальную гипертензию).

Важным показателем для прогнозирования течения COVID-19 является скорость элиминации вируса. У 71,67% пациентов, получавших

молнупиравир, РНК SARS-CoV-2 в мазке из носоглотки и/или ротоглотки не определялась уже на 6–7 сут от начала терапии. У 19% пациентов из группы молнупиравира к 6–7 сут удалось достичь полного клинического выздоровления. В группе стандартной терапии излечение к этому моменту было зарегистрировано лишь у 6% пациентов ($p=0,0039$).

Лечение COVID-19 с применением молнупиравира приводило также к достоверному снижению по сравнению со стандартной терапией частоты и выраженности таких симптомов заболевания, как кашель, изменение обоняния и вкусовой чувствительности за последние 24 часа уже через 6–7 дней от начала терапии. Полученные данные говорят о значимых преимуществах молнупиравира по сравнению со стандартной терапией в отношении динамики исчезновения симптомов COVID-19, снижения вирусной нагрузки, улучшения состояния пациентов и их клинического статуса. Терапия молнупиравиром хорошо переносилась, большинство НЯ были легкой степени тяжести, случаев отмены терапии или изменения дозы исследуемого препарата в связи с развитием НЯ зарегистрировано не было [61].

Молнупиравир противопоказан в период беременности и лактации, а также запрещен к применению у пациентов до 18 лет [57].

3.4. Нирматрелвир/ритонавир

Накапливаются данные о противовирусной эффективности комбинации нирматрелвира и ритонавира в лечении COVID-19. Комбинация с торговым названием «Паксловид» была разработана компанией Pfizer и одобрена FDA для экстренного использования при коронавирусной инфекции легкой и средней степени тяжести у взрослых и детей старше 12 лет с высоким риском развития тяжелой формы заболевания. Данный препарат включен в рекомендации ВОЗ по терапии COVID-19 [62, 63]. Нирматрелвир – ингибитор 3-химотрипсин-подобного фермента цистеиновой протеазы SARS-CoV-2 (M^{pro}), участвующей в репликации вируса. Он обладает высокой противовирусной активностью в отношении разных типов SARS-CoV-2, включая варианты альфа (B.1.1.7), бета (B.1.351), гамма (P.1), дельта (B.1.617.2) и омикрон (B.1.1.529) [64]. Ритонавир – ингибитор цитохрома P450 3A4 играет роль фармакокинетического бустера, замедляя метаболизм нирматрелвира [62, 63]. Комбинированный препарат нирматрелвир/ритонавир впервые был зарегистрирован в декабре 2021 года в Великобритании для лечения COVID-19 у взрослых, которым не требовалась дополнительная кислородотерапия и которые подвержены повышенному риску прогрессирования до тяжелой формы COVID-19. В январе 2022 г. данный препарат был одобрен по тем же показаниям в Европейском Союзе, затем в США, а также ряде других стран.

На данный момент в двух рандомизированных исследованиях показано, что применение нирматрелвира/ритонавира у амбулаторных пациентов с легкой и средней степенью тяжести COVID-19 в течение 5 дней приводит к снижению частоты госпитализаций и смертности [62, 64]. В двойном слепом рандомизированном плацебо-

⁶ US Food and Drug Administration. Fact sheet for healthcare providers: emergency authorization for Paxlovid. 2022. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.fda.gov/media/155050/download>. Accessed 30 April 2022.

⁷ Государственный реестр лекарственных средств. Инструкция к препарату молнупиравир (Эсперавир®). – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=62a879e9-2c06-4028-8a58-5bac4e01d9ef

контролируемом исследовании фазы 2/3 EPIC-HR оценивалась эффективность нирматрелвира/ритонавира в лечении 1120 амбулаторных невакцинированных пациентов с высоким риском тяжелого течения новой коронавирусной инфекции в сравнении с 1126 пациентами, получавшими плацебо. Использование нирматрелвира/ритонавира привело к снижению риска развития тяжелой формы COVID-19 (госпитализаций и смертности от всех причин) на 88,9% (95% ДИ=75%, 8 из 1039 [0,8%]) против 66 из 1046 [6,3%] в группе плацебо. В группе нирматрелвира/ритонавира не было зафиксировано летальных исходов (0/1039), тогда как в группе плацебо было описано 12 смертей (12/1046) к 28 дню наблюдения, при этом частота развития НЯ была сопоставима в обеих группах (22,6% и 23,9% в исследуемой и контрольной группах, соответственно) [64].

Второе исследование (n=180351 пациентов) было проведено в январе-феврале 2022 года в Израиле, когда преобладал штамм омикрон, 2,6% участников получали нирматрелвир/ритонавир, что привело к снижению риска развития тяжелой формы COVID-19/смертности (ОШ=0,54; 95% ДИ=0,39–0,75). Это оказалось сопоставимо с адекватным вакцинальным статусом (ОШ=0,20; 95% ДИ=0,17–0,22). Комбинированный противовирусный препарат оказался более эффективным у пожилых и иммунокомпроментированных пациентов, а также больных с сопутствующими неврологическими и сердечно-сосудистыми заболеваниями (p < 0,05 для всех), независимо от статуса вакцинации [62].

В настоящее время недостаточно клинических данных о применении комбинации нирматрелвир/ритонавир у детей младше 12 лет (<40 кг). Gangfeng Y. и соавт. провели когортное исследование на небольшой выборке пациентов (n=5 – основная группа, n=30 – группа сравнения) 6–14 лет с сопутствующей патологией и установили, что данная комбинация может быть одним из вариантов лечения COVID-19 у детей с сопутствующей патологией. Несмотря на то, что изучаемый препарат рекомендован ЕС для применения детьми с 12 лет, эффективность и безопасность комбинации нирматрелвира и ритонавира в педиатрической практике требует дальнейшего изучения [63].

В недавнем обзоре Saravolatz L.D. и соавт., проанализировав доступные данные клинических исследований пероральных противовирусных препаратов, одобренных FDA, сделали вывод, что комбинация нирматрелвир/ритонавир продемонстрировала большее снижение риска госпитализации и смерти, чем молнупиравир в сравнении с плацебо [65], а также он имеет лучший профиль безопасности (не имеет доказанного тератогенного действия). ВОЗ считает данный препарат «лучшим терапевтическим средством для лечения COVID-19 на сегодняшний день»⁸.

⁸ WHO recommends highly successful COVID-19 therapy and calls for wide geographical distribution and transparency from originator, 22 April 2022 Statement, Geneva. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.who.int/news/item/22-04-2022-who-recommends-highly-successful-covid-19-therapy-and-calls-for-wide-geographical-distribution-and-transparency-from-originator>.

В Российской Федерации была разработана уникальная технология, позволившая объединить оба действующих вещества (нирматрелвир и ритонавир) в одну фиксированную лекарственную форму (лекарственный препарат Скайвира® ЛП-008056 от 20.04.2022)⁹, что позволяет снизить количество применяемых таблеток в 6 раз по сравнению с американским аналогом. Это обеспечивает снижение полипрагмазии и повышает приверженность и безопасность терапии в целом.

По результатам российского открытого двухэтапного многоцентрового исследования рассматриваемая фиксированная комбинация обладает высокой эффективностью и благоприятным профилем безопасности при применении у пациентов с COVID-19 (включая пациентов с коморбидной патологией). Доля пациентов, получающих препарат Скайвира®, достигших полного выздоровления к 6 дню наблюдения была в 2 раза больше, чем в группе сравнения. В основной группе не было зарегистрировано ни одного случая перехода COVID-19 в более тяжелую степень течения, в отличие от пациентов, получавших стандартную терапию (8 пациентов были госпитализированы) (p=0,0035, т.е. p<0,0275) [66].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в настоящее время имеются в разной степени эффективные этиотропные препараты для лечения пациентов с COVID-19. Наиболее объемную доказательную базу данных по эффективности и безопасности имеют синтетические противовирусные средства, в частности фавипиравир, молнупиравир, ремдесивир и нирматрелвир/ритонавир. В последней 16 версии российских временных рекомендаций по профилактике, диагностике и лечению новой коронавирусной инфекции (от 18.08.2022) помимо вышеуказанных в качестве этиотропных препаратов также обозначены иммуноотропные средства (антиковидная плазма, моноклональные антитела и интерферон альфа интраназально), умифеновир и оригинальная отечественная разработка – препарат МИР-19 (синтетическая малая интерферирующая рибонуклеиновая кислота, миРНК)¹⁰. Следует отметить, что поиск новых эффективных и безопасных этиотропных препаратов для лечения COVID-19 продолжается также как сбор и анализ пострегистрационных данных об уже применяющихся в клинической практике средствах.

⁹ Государственный реестр лекарственных средств Российской Федерации. Инструкция для препарата Скайвира®. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=e51916eb-403a-40a7-ade0-0e0421269063

¹⁰ Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» Версия 16 (18.08.2022). – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/060/193/original/%D0%92%D0%9C%D0%A0_COVID-19_V16.pdf

Таблица 1 – Препараты для этиотропной терапии COVID-19

Группы препаратов	МНН	Механизм действия	Краткая информация об эффективности и безопасности	Ссылка
Иммунологические препараты	Антиковидная плазма	Противовирусное (вируснейтрализующее действие), антителозависимая клеточная цитотоксичность, активация компонента и фагоцитоза	Краткая информация об эффективности и безопасности	11–21
	Внутривенный иммуноглобулин	Ингибитор активации каскада компонента провоспалительных цитокинов, дифференцировки и активации дендритных клеток, а также активации нейтрофилов	Эффективность у пациентов ОРДС вследствие COVID-19 – не выявлено улучшение клинических исходов (на 28-й день) и обнаружена ассоциация с незначительным увеличением частоты тромбозомболических осложнений.	22–24
	Интерфероны	Блокируют репликацию вируса через стимуляцию противовирусного иммунитета	У госпитализированных пациентов с COVID-19 и дыхательной недостаточностью были выявлены в 3,8 раза более низкие уровни интерферона-α по сравнению с контрольной группой, при этом улучшение состояния больных сопровождалось повышением уровня интерферона-α в крови.	25, 26
	РНК деспиральной натрия соль	Индуктор ИФН-α (лимфоцитарный) и ИФН-β (фибробластный)	Стимулирует образование эндогенных ИФН I (ИФН-α, ИФН-β) и ИФН II (ИФН-γ) типов, которые являются важнейшими цитокинами иммунного ответа, индуцируют дифференцировку миелоидных клеток, стимулируют фагоцитоз нейтрофилов и макрофагов, активируют натуральные киллеры, усиливают T-хелперный ответ Th1-типа, таким образом, запускают врожденный и адаптивный иммунный ответ.	29
Препараты, блокирующие проникновение вируса в клетку	Умифеновир	Блокирует проникновение вирусов в «клетки-хозяева», ингибируя слияние липидной оболочки вируса с клеточной мембраной	Эффективность у пациентов с COVID-19 – более высокая частота регистрации отрицательных результатов ПЦР на 14-й день заболевания (ОШ=1,27; 95% ДИ=1,04–1,55) по сравнению с контрольной группой; не выявлена ассоциация со снижением риска прогрессирования COVID-19, клиническим улучшением и сокращением продолжительности пребывания в стационаре.	30–32
Препараты, нарушающие процесс репликации вируса	Фавипиравир	Ингибитор комплекса РНК-зависимой РНК-полимеразы SARS-CoV-2 посредством связывания с его каталитическим доменом и предотвращения включения нуклеотидов для репликации вирусной РНК, что приводит к увеличению частоты мутаций и, возможно, «летальному мутагенезу»	Эффективность фавипиравира у госпитализированных пациентов с COVID-19 по данным мета-анализа – более быстрая элиминация вируса в группе фавипиравира – в среднем, на 5-й день (ОШ=1,60; p=0,02), более раннее снижение температуры – в среднем на 3–4-й день (ОШ=1,99; p<0,01), улучшение рентгенологической картины в легких (ОШ=1,33; p<0,01) и более ранняя выписка из стационара (ОШ=1,19; p<0,01). Эффективность препарата Арелливир® для парентерального введения у госпитализированных пациентов со средне-тяжелой и тяжелой формой COVID-19 – улучшение клинического статуса на 2 и более балла по шкале ВОЗ к визиту 3, отмечалось у 56,86% пациентов, а в группе контроля (пациенты, получающие стандартную терапию) – у 28,04% (p<0,0001).	34–45
	Ремдесивир	Ингибитор фермента РНК-зависимой РНК-полимеразы SARS-CoV-2	Мета-анализ 4 исследований с участием 7324 пациентов госпитализированных пациентов с COVID-19 – применении ремдесивира по сравнению с контрольной группой не приводило к снижению смертности (ОШ=0,92; 95% ДИ=0,79–1,07; p=0,30).	46–56
	Молнупиравир	Пролекарство, аналогом N-тидроксицитидина, который фосфорилируется с образованием трифосфата N-тидроксицитидина и с помощью РНК-полимеразы встраивается в вирусную РНК, приводя к накоплению мутаций в геноме вируса и «летальному мутагенезу»	Исследование MOVE-OUT (n=1433) – риск госпитализации или смерти ниже в группе пациентов, принимавших молнупиравир (6,8%), по сравнению с приемом плацебо (9,7%) (95% ДИ=5,9–0,1%). Эффективность препарата молнупиравир у амбулаторных пациентов с COVID-19 (n=240) – снижение в 4 раза риска ухудшения течения заболевания ко 2-ой неделе исследования по сравнению со стандартной терапией (p=0,0149); у 71,67% пациентов, получавших молнупиравир, РНК SARS-CoV-2 в мазке из носоглотки и/или ротоглотки не определялась уже на 6-7 день от начала терапии; случаев отмены терапии или изменения дозы исследуемого препарата в связи с развитием НЯ зарегистрировано не было.	57–61
	Нирматрелвир/ритонавир	Ингибитор 3-химотрипсин-подобного фермента цистеиновой протеазы SARS-CoV-2	Исследование EPIC-HR у амбулаторных пациентов с COVID-19 (n=1120) – снижение риска развития тяжелой формы COVID-19 (госпитализаций и смертности от всех причин) на 88,9% (95% ДИ=75%, 8 из 1039 [0,8%]) против 66 из 1046 [6,3%] в группе плацебо) Эффективность препарата нирматрелвир/ритонавир у амбулаторных пациентов с COVID-19: доля пациентов, достигших полного выздоровления к 6 дню наблюдения была в 2 раза больше в группе пациентов, получающих исследуемый препарат, чем в группе сравнения; в основной группе не было зарегистрировано ни одного случая перехода COVID-19 в более тяжелую степень течения, в отличие от пациентов, получающих стандартную терапию (8 пациентов были госпитализированы) (p=0,0035, т.е. p<0,0275).	62–66

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Данный обзор выполнен при поддержке компании ООО «ПРОМОМЕД РУС». Спонсор не оказывал влияния на выбор материала для публикации, анализ и интерпретацию данных.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Д.Н. Земсков – сбор источников, обработка данных, написание статьи; Л.А. Балыкова – идея и концепция обзора, написание текста, редактирование; О.А. Радаева – сбор источников, обработка данных, написание статьи; К.Я. Заславская – сбор источников, обработка данных, написание статьи; П.А. Белый – сбор источников, обработка данных, написание статьи; Е.В. Семенова – сбор источников, обработка данных, написание статьи; М.В. Ширманкина – сбор источников, обработка данных, написание статьи; К.Н. Корянова – сбор источников, обработка данных, написание статьи.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Gupta A., Madhavan M.V., Sehgal K., Nair N., Mahajan S., Sehrawat T.S., Bikdeli B., Ahluwalia N., Ausiello J.C., Wan E.Y., Freedberg D.E., Kirtane A.J., Parikh S.A., Maurer M.S., Nordvig A.S., Accili D., Bathon J.M., Mohan S., Bauer K.A., Leon M.B., Krumholz H.M., Uriel N., Mehra M.R., Elkind M.S.V., Stone G.W., Schwartz A., Ho D.D., Bilezikian J.P., Landry D.W. Extrapulmonary manifestations of COVID-19 // *Nat. Med.* – 2020. – Vol. 26, No. 7. – P. 1017–1032. DOI: 10.1038/s41591-020-0968-3
- Saeed S., Tadic M., Larsen T.H., Grassi G., Mancina G. Coronavirus disease 2019 and cardiovascular complications: focused clinical review // *J. Hypertens.* – 2021. – Vol. 39, No. 7. – P. 1282–1292. DOI: 10.1097/HJH.0000000000002819
- Magleby R., Westblade L.F., Trzebucki A., Simon M.S., Rajan M., Park J., Goyal P., Safford M.M., Satlin M.J. Impact of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Viral Load on Risk of Intubation and Mortality Among Hospitalized Patients With Coronavirus Disease 2019 // *Clin. Infect. Dis.* – 2021. – Vol. 73, No. 11. – P. 4197–4205. DOI: 10.1093/cid/ciaa851
- Грановская М.В., Заславская К.Я., Балыкова Л.А., Пушкарь Д.Ю. COVID-19: набор симптомов или системная патология? Клиническая лекция. Часть 2. Арепливи́р (фавипиравир) в терапии пациентов с коронавирусной инфекцией: предпосылки для назначения и первые результаты использования // *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение (Приложение)*. – 2020. – Т. 9, № 3. – С. 10–17. DOI: 10.33029/2305-3496-2020-9-3S-10-17
- Gandhi R.T., Lynch J.B., Del Rio C. Mild or Moderate Covid-19 // *N. Engl. J. Med.* – 2020. – Vol. 383, No. 18. – P. 1757–1766. DOI: 10.1056/NEJMcp2009249
- Okita Y., Morita T., Kumanogoh A. Duration of SARS-CoV-2 RNA positivity from various specimens and clinical characteristics in patients with COVID-19: a systematic review and meta-analysis // *Inflamm. Regener.* – 2022. – Vol. 42, No. 1. – Art. ID: 6. DOI: 10.1186/s41232-022-00205-x
- Zhirnov O.P. Molecular targets in the chemotherapy of coronavirus infection // *Biochemistry (Mosc.)*. – 2020. – Vol. 85, No. 5. – P. 523–530. DOI: 10.1134/S0006297920050016
- WHO Solidarity Trial Consortium, Pan H., Peto R., Henaó-Restrepo A.M., Preziosi M.P., Sathiyamoorthy V., Abdool Karim Q., Alejandria M.M., Hernández García C., Kieny M.P., Malekzadeh R., Murthy S., Reddy K.S., Roses Periago M., AbiHanna P., Ader F., Al-Bader A.M., Alhasawi A., Allum E., Alotaibi A., Alvarez-Moreno C.A., Appadoo S., Asiri A., Aukrust P., Barratt-Due A., Bellani S., Branca M., Cappel-Porter H.B.C., Cerrato N., Chow T.S., Como N., Eustace J., García P.J., Godbole S., Gotuzzo E., Griskevicius L., Hamra R., Hassan M., Hassany M., Hutton D., Irmansyah I., Jancoriene L., Kirwan J., Kumar S., Lennon P., Lopardo G., Lydon P., Magrini N., Maguire T., Manevska S., Manuel O., McGinty S., Medina M.T., Mesa Rubio M.L., Miranda-Montoya M.C., Nel J., Nunes E.P., Perola M., Portolés A., Rasmin M.R., Raza A., Rees H., Reges P.P.S., Rogers C.A., Salami K., Salvadori M.I., Sinani N., Sterne J.A.C., Stevanovikj M., Tacconelli E., Tikkinen K.A.O., Trelle S., Zaid H., Røttingen J.A., Swaminathan S. Repurposed Antiviral Drugs for Covid-19 – Interim WHO Solidarity Trial Results // *N. Engl. J. Med.* – 2021. – Vol. 384, No. 6. – P. 497–511. DOI: 10.1056/NEJMoa2023184
- Pathak D.S.K., Salunke D.A.A., Thivari D.P., Pandey A., Nandy D.K., Harish V.K., Ratna D., Pandey D.S., Chawla D.J., Mujawar D.J., Dhanwate D.A., Menon D.V. No benefit of hydroxychloroquine in COVID-19: Results of Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials // *Diabetes Metab. Syndr.* – 2020. – Vol. 14, No. 6. – P. 1673–1680. DOI: 10.1016/j.dsx.2020.08.033
- Patel T.K., Patel P.B., Barvaliya M., Saurabh M.K., Bhalla H.L., Khosla P.P. Efficacy and safety of lopinavir-ritonavir in COVID-19: A systematic review of randomized controlled trials // *J. Infect. Public. Health.* – 2021. – Vol. 14, No. 6. – P. 740–748. DOI: 10.1016/j.jiph.2021.03.015
- Casadevall A., Pirofski L.A. The convalescent sera option for containing COVID-19 // *J. Clin. Invest.* – 2020. – Vol. 130, No. 4. – P. 1545–1548. DOI: 10.1172/JCI138003
- Cheng Y., Wong R., Soo Y.O., Wong W.S., Lee C.K., Ng M.H., Chan P., Wong K.C., Leung C.B., Cheng G. Use of convalescent plasma therapy in SARS patients in Hong Kong // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* – 2005. – Vol. 24, No. 1. – P. 44–46. DOI: 10.1007/s10096-004-1271-1279
- Cao B., Wang Y., Wen D., Liu W., Wang J., Fan G., Ruan L., Song B., Cai Y., Wei M., Li X., Xia J., Chen N., Xiang J., Yu T., Bai T., Xie X., Zhang L., Li C., Yuan Y., Chen H., Li H., Huang H., Tu S., Gong F., Liu Y., Wei Y., Dong C., Zhou F., Gu X., Xu J., Liu Z., Zhang Y., Li H., Shang L., Wang K., Li K., Zhou X., Dong X., Qu Z., Lu S., Hu X., Ruan S., Luo S., Wu J., Peng L., Cheng F., Pan L., Zou J., Jia C., Wang J., Liu X., Wang S., Wu X., Ge Q., He J., Zhan H., Qiu F., Guo L., Huang C., Jaki T., Hayden F.G., Horby P.W., Zhang D., Wang C. A Trial of Lopinavir-Ritonavir in Adults Hospitalized with Severe

- Covid-19 // *N. Engl. J. Med.* – 2020. – Vol. 382, No. 19. – P. 1787–1799. DOI: 10.1056/NEJMoa2001282
14. Roback J.D., Guarner J. Convalescent plasma to treat COVID-19: possibilities and challenges // *JAMA.* – 2020. – Vol. 323, No. 16. – P. 1561–1562. DOI: 10.1001/jama.2020.4940
 15. Shen C., Wang Z., Zhao F., Yang Y., Li J., Yuan J., Wang F., Li D., Yang M., Xing L., Wei J., Xiao H., Yang Y., Qu J., Qing L., Chen L., Xu Z., Peng L., Li Y., Zheng H., Chen F., Huang K., Jiang Y., Liu D., Zhang Z., Liu Y., Liu L. Treatment of 5 Critically Ill Patients With COVID-19 With Convalescent Plasma // *JAMA.* – 2020. – Vol. 323. Vol. 16. – P. 1582–1589. DOI: 10.1001/jama.2020.4783
 16. Zhang B., Liu S., Tan T., Huang W., Dong Y., Chen L., Chen Q., Zhang L., Zhong Q., Zhang X., Zou Y., Zhang S. Treatment With Convalescent Plasma for Critically Ill Patients With Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection // *Chest.* – 2020. – Vol. 158, No. 1. – P. 9–13. DOI: 10.1016/j.chest.2020.03.039
 17. Salazar E., Perez K.K., Ashraf M., Chen J., Castillo B., Christensen P.A., Eubank T., Bernard D.W., Eagar T.N., Long S.W., Subedi S., Olsen R.J., Leveque C., Schwartz M.R., Dey M., Chavez-East C., Rogers J., Shehabeldin A., Joseph D., Williams G., Thomas K., Masud F., Talley C., Dlouhy K.G., Lopez B.V., Hampton C., Lavinder J., Gollihar J.D., Maranhao A.C., Ippolito G.C., Saavedra M.O., Cantu C.C., Yerramilli P., Pruitt L., Musser J.M. Treatment of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Patients with Convalescent Plasma // *Am. J. Pathol.* – 2020. – Vol. 190, No. 8. – P. 1680–1690. DOI: 10.1016/j.ajpath.2020.05.014
 18. Tedder R.S., Semple M.G. Appropriate selection of convalescent plasma donors for COVID-19 // *Lancet Infect. Dis.* – 2020. – Vol. 21, No. 2. – P. 168–169. DOI: 10.1016/S1473-3099(20)30470-9
 19. Liu S.T.H., Lin H.M., Baine I., Wajnberg A., Gumprecht J.P., Rahman F., Rodriguez D., Tandon P., Bassily-Marcus A., Bander J., Sanky C., Dupper A., Zheng A., Nguyen F.T., Amanat F., Stadlbauer D., Altman D.R., Chen B.K., Krammer F., Mendu D.R., Firpo-Betancourt A., Levin M.A., Bagiella E., Casadevall A., Cordon-Cardo C., Jhang J.S., Arinsburg S.A., Reich D.L., Aberg J.A., Bouvier N.M. Convalescent plasma treatment of severe COVID-19: a propensity score-matched control study // *Nat. Med.* – 2020. – Vol. 26, No. 11. – P. 1708–1713. DOI: 10.1038/s41591-020-1088-9
 20. Wan Y., Shang J., Sun S., Tai W., Chen J., Geng Q., He L., Chen Y., Wu J., Shi Z., Zhou Y., Du L., Li F. Molecular Mechanism for Antibody-Dependent Enhancement of Coronavirus Entry. Molecular mechanism for antibody dependent enhancement of coronavirus entry // *J. Virol.* – 2020. – Vol. 94, No. 5. – P. 2015–2019. DOI: 10.1128/JVI.02015-19
 21. Joyner M.J., Wright R.S., Fairweather D., Seneff J.W., Bruno K.A., Klassen S.A., Carter R.E., Klompas A.M., Wiggins C.C., Shepherd J.R., Rea R.F., Whelan E.R., Clayburn A.J., Spiegel M.R., Johnson P.W., Lesser E.R., Baker S.E., Larson K.F., Ripoll J.G., Andersen K.J., Hodge D.O., Kunze K.L., Buras M.R., Vogt M.N., Herasevich V., Dennis J.J., Regimbal R.J., Bauer P.R., Blair J.E., Van Buskirk C.M., Winters J.L., Stubbs J.R., Paneth N.S., Verdun N.C., Marks P., Casadevall A. Early safety indicators of COVID-19 convalescent plasma in 5000 patients // *J. Clin. Invest.* – 2020. – Vol. 130, No. 9. – P. 4791–4797. DOI: 10.1172/JCI140200.
 22. Galeotti C., Kaveri S.V., Bayry J. IVIG-mediated effector functions in autoimmune and inflammatory diseases // *Int. Immunol.* – 2017. – Vol. 29, No. 11. – P. 491–498. DOI: 10.1093/intimm/dxx039
 23. Masso Silva J.A., Sakoulas G., Nizet V., Crotty Alexander L.E., Meier A. Effect of intravenous immunoglobulin on neutrophil antimicrobial and inflammatory functions-implications in neutrophil-mediated immunopathology // *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine.* – 2021. – Vol. 203, No. 9. DOI: 10.1164/ajrccm-conference.2021.203.1_MeetingAbstracts.A1309
 24. Mazeraud A., Jamme M., Mancusi R.L., Latroche C., Megarbane B., Siami S., Zarka J., Moneger G., Santoli F., Argaud L., Chillet P., Muller G., Bruel C., Asfar P., Beloncle F., Reignier J., Vinsonneau C., Schimpf C., Amour J., Goulenok C., Lemaitre C., Rohaut B., Mateu P., De Rudnicki S., Mourvillier B., Declercq P.L., Schwebel C., Stoclin A., Garnier M., Madeux B., Gaudry S., Bailly K., Lamer C., Aegerter P., Rieu C., Sylla K., Lucas B., Sharshar T. Intravenous immunoglobulins in patients with COVID-19-associated moderate-to-severe acute respiratory distress syndrome (ICAR): multicentre, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial // *Lancet Respir. Med.* – 2022. – Vol. 10, No. 2. – P. 158–166. DOI: 10.1016/S2213-2600(21)00440-9
 25. Blanco-Melo D., Nilsson-Payant B.E., Liu W.C., Uhl S., Hoagland D., Møller R., Jordan T.X., Oishi K., Panis M., Sachs D., Wang T.T., Schwartz R.E., Lim J.K., Albrecht R.A., tenOever B.R. Imbalanced Host Response to SARS-CoV-2 Drives Development of COVID-19 // *Cell.* – 2020. – Vol. 181, No. 5. – P. 1036–1045.e9. DOI: 10.1016/j.cell.2020.04.026
 26. Contoli M., Papi A., Tomassetti L., Rizzo P., Vieceli Dalla Sega F., Fortini F., Torsani F., Morandi L., Ronzoni L., Zucchetti O., Pavasini R., Fogagnolo A., Volta C.A., Bartlett N.W., Johnston S.L., Spadaro S., Campo G. Blood Interferon- α Levels and Severity, Outcomes, and Inflammatory Profiles in Hospitalized COVID-19 Patients // *Front Immunol.* – 2021. – No. 12. – Art. ID: 648004. DOI:10.3389/fimmu.2021.648004
 27. Bastard P., Orlova E., Sozaeva L., Lévy R., James A., Schmitt M.M., Ochoa S., Kareva M., Rodina Y., Gervais A., Le Voyer T., Rosain J., Philippot Q., Neehus A.L., Shaw E., Migaud M., Bizien L., Ekwall O., Berg S., Beccuti G., Ghizzoni L., Thiriez G., Pavot A., Goujard C., Frémond M.L., Carter E., Rothenbuhler A., Linglart A., Mignot B., Comte A., Cheikh N., Hermine O., Breivik L., Husebye E.S., Humbert S., Rohrlch P., Coaquette A., Vuoto F., Faure K., Mahlaoui N., Kotnik P., Battelino T., Trebušak Podkrajšek K., Kisand K., Ferré E.M.N., DiMaggio T., Rosen L.B., Burbelo P.D., McIntyre M., Kann N.Y., Shcherbina A., Pavlova M., Kolodkina A., Holland S.M., Zhang S.Y., Crow Y.J., Notarangelo L.D., Su H.C., Abel L., Anderson M.S., Jouanguy E., Neven B., Puel A., Casanova J.L., Lionakis M.S. Preexisting autoantibodies to type I IFNs underlie critical COVID-19 pneumonia in patients with APS-1 // *J. Exp. Med.* – 2021. – Vol. 218, No. 7. – Art. ID: 20210554. DOI: 10.1084/jem.20210554
 28. Pereda R., González D., Rivero H.B., Rivero J.C., Pérez A., López L.D.R., Mezquia N., Venegas R., Betancourt J.R., Domínguez R.E. Therapeutic Effectiveness of Interferon- α 2b Against COVID-19: The Cuban Experience // *J. Interferon Cytokine Res.* – 2020. – Vol. 40, No. 9. – P. 438–442. DOI: 10.1089/jir.2020.0124

29. Радаева О.А., Таганов А.В., Рогожина Е.А. Перспективы использования индукторов интерферона на основе двуспиральной РНК для лечения вирусных и бактериальных инфекций // *PMЖ. Медицинское обозрение.* – 2022. – Т. 6, № 11. – С. 643–649. DOI: 10.32364/2587-6821-2022-6-11-643-649
30. Blaising J., Polyak S.J., Pécheur E.I. Arbidol as a broad-spectrum antiviral: an update // *Antiviral Res.* – 2014. – Vol. 107. – P. 84–94. DOI: 10.1016/j.antiviral.2014.04.006
31. Wang X., Cao R., Zhang H., Liu J., Xu M., Hu H., Li Y., Zhao L., Li W., Sun X., Yang X., Shi Z., Deng F., Hu Z., Zhong W., Wang M. The anti-influenza virus drug, arbidol is an efficient inhibitor of SARS-CoV-2 in vitro // *Cell Discov.* – 2020. – Vol. 2, No. 6. – P. 28. DOI: 10.1038/s41421-020-0169-8
32. Huang D., Yu H., Wang T., Yang H., Yao R., Liang Z. Efficacy and safety of umifenovir for coronavirus disease 2019 (COVID-19): A systematic review and meta-analysis // *J. Med. Virol.* – 2021. – Vol. 93, No. 1. – P. 481–490. DOI: 10.1002/jmv.26256
33. Jockusch S., Tao C., Li X., Anderson T.K., Chien M., Kumar S., Russo J.J., Kirchdoerfer R.N., Ju J. A library of nucleotide analogues terminate RNA synthesis catalyzed by polymerases of coronaviruses that cause SARS and COVID-19 // *Antiviral Res.* – 2020. – Vol. 180. – Art. ID: 104857. DOI: 10.1016/j.antiviral.2020.104857
34. Furuta Y., Takahashi K., Fukuda Y., Kuno M., Kamiyama T., Kozaki K., Nomura N., Egawa H., Minami S., Watanabe Y., Narita H., Shiraki K. In vitro and in vivo activities of anti-influenza virus compound T-705 // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2002. – Vol. 46, No. 4. – P. 977–981. DOI: 10.1128/AAC.46.4.977-981.2002
35. Jochmans D., van Nieuwkoop S., Smits S.L., Neyts J., Fouchier R.A., van den Hoogen B.G. Antiviral Activity of Favipiravir (T-705) against a Broad Range of Paramyxoviruses In Vitro and against Human Metapneumovirus in Hamsters // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2016. – Vol. 60. – P. 4620–4629. DOI: 10.1128/AAC.00709-16
36. Yamada K., Noguchi K., Komono T., Furuta Y., Nishizono A. Efficacy of Favipiravir (T-705) in Rabies Postexposure Prophylaxis // *J. Infect. Dis.* – 2016. – Vol. 213, No. 8. – P. 1253–1261. DOI: 10.1093/infdis/jiv586
37. Ivashchenko A.A., Dmitriev K.A., Vostokova N.V., Azarova V.N., Blinow A.A., Egorova A.N., Gordeev I.G., Ilin A.P., Karapetian R.N., Kravchenko D.V., Lomakin N.V., Merkulova E.A., Papazova N.A., Pavlikova E.P., Savchuk N.P., Simakina E.N., Sitdekov T.A., Smolyarchuk E.A., Tikhomolova E.G., Yakubova E.V., Ivachtchenko A.V. AVIFAVIR for Treatment of Patients With Moderate Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): Interim Results of a Phase II/III Multicenter Randomized Clinical Trial // *Clin. Infect. Dis.* – 2021. – Vol. 73, No. 3. – P. 531–534. DOI: 10.1093/cid/ciaa1176
38. Hashemian S.M., Farhadi T., Velayati A.A. A review on favipiravir: the properties, function, and usefulness to treat COVID-19 // *Expert. Rev. Anti Infect. Ther.* – 2021. – Vol. 19, No. 8. – P. 1029–1037. DOI: 10.1080/14787210.2021.1866545
39. Alamer A., Alrashed A.A., Alfaifi M., Alosaimi B., AlHassar F., Almutairi M., Howaidi J., Almutairi W., Mohzari Y., Sulaiman T., Al-Jedai A., Alajami H.N., Alkharji F., Alsaeed A., Alali A.H., Baredhwan A.A., Abraham I., Almulhim A.S. Effectiveness and safety of favipiravir compared to supportive care in moderately to critically ill COVID-19 patients: a retrospective study with propensity score matching sensitivity analysis // *Curr. Med. Res. Opin.* – 2021. – Vol. 37, No. 7. – P.1085–1097. DOI: 10.1080/03007995.2021.1920900
40. Chen C., Zhang Y., Huang J., Yin P., Cheng Z., Wu J., Chen S., Zhang Y., Chen B., Lu M., Luo Y., Ju L., Zhang J., Wang X. Favipiravir Versus Arbidol for Clinical Recovery Rate in Moderate and Severe Adult COVID-19 Patients: A Prospective, Multicenter, Open-Label, Randomized Controlled Clinical Trial // *Front. Pharmacol.* – 2021. – No. 12. – Art. ID: 683296. DOI: 10.3389/fphar.2021.683296
41. Балыкова Л.А., Грановская М.В., Заславская К.Я., Симакина Е.Н., Агафьина А.С., Иванова А.Ю., Колонтарев К.Б., Пушкарь Д.Ю. Новые возможности направленной противовирусной терапии COVID-19: результаты многоцентрового клинического исследования эффективности и безопасности применения препарата Арепливир // *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение.* – 2020. – Т. 9, № 3. – С. 16–29. DOI: 10.33029/2305-3496-2020-9-3-16-29
42. Балыкова Л.А., Заславская К.Я., Павелкина В.Ф., Пятаев Н.А., Селезнева Н.М., Кириченко Н.В., Иванова А.Ю., Родоман Г.В., Колонтарев К.Б., Скрупский К.С., Симакина Е.Н., Мубаракшина О.А., Таганов А.В., Пушкарь Д.Ю. Эффективность и безопасность инфузионного введения фавипиравира у пациентов, госпитализированных с COVID-19 // *Фармация и фармакология.* – 2022. – Т. 10, № 1. – С. 113–126. DOI: 10.19163/2307-9266-2022-10-1-113-126
43. Hassanipour S., Arab-Zozani M., Amani B., Heidarzad F., Fathalipour M., Martinez-de-Hoyo R. The efficacy and safety of Favipiravir in treatment of COVID-19: a systematic review and meta-analysis of clinical trials // *Sci. Rep.* – 2021. – Vol. 11, No. 1. – Art. ID: 11022. DOI: 10.1038/s41598-021-90551-6. Erratum in: *Sci. Rep.* – 2022. – Vol. 12, No. 1. – Art. ID: 1996.
44. Hung D.T., Ghula S., Aziz J.M.A., Makram A.M., Tawfik G.M., Abozaid A.A., Pancharatnam R.A., Ibrahim A.M., Shabouk M.B., Turnage M., Nakhare S., Karmally Z., Kouz B., Le T.N., Alhijazeen S., Phuong N.Q., Ads A.M., Abdelaal A.H., Nam N.H., Iiyama T., Kita K., Hirayama K., Huy N.T. The efficacy and adverse effects of favipiravir on patients with COVID-19: A systematic review and meta-analysis of published clinical trials and observational studies // *Int. J. Infect. Dis.* – 2022. – Vol. 120. – P. 217–227. DOI: 10.1016/j.ijid.2022.04.035
45. Резолюция совета экспертов: возможности этиотропной терапии респираторных инфекций, вызванных РНК-вирусами // *Терапия.* – 2021. – Т. 7, № 5. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://therapy-journal.ru/ru/archive/article/40450>.
46. Beigel J.H., Tomashek K.M., Dodd L.E., Mehta A.K., Zingman B.S., Kalil A.C., Hohmann E., Chu H.Y., Luetkemeyer A., Kline S., Lopez de Castilla D., Finberg R.W., Dierberg K., Tapson V., Hsieh L., Patterson T.F., Paredes R., Sweeney D.A., Short W.R., Touloumi G., Lye D.C., Ohmagari N., Oh M.D., Ruiz-Palacios G.M., Benfield T., Fätkenheuer G., Kortepeter M.G., Atmar R.L., Creech C.B., Lundgren J., Babiker A.G., Pett S., Neaton J.D., Burgess T.H., Bonnett T., Green M., Makowski M., Osinusi A., Nayak S., Lane H.C.; ACTT-1 Study Group Members. Remdesivir for the Treatment of Covid-19 –

- Final Report // *N. Engl. J. Med.* – 2020. – Vol. 383, No. 19. – P. 1813–1826. DOI: 10.1056/NEJMoa2007764
47. Williamson B.N., Feldmann F., Schwarz B., Meade-White K., Porter D.P., Schulz J., van Doremalen N., Leighton I., Yinda C.K., Pérez-Pérez L., Okumura A., Lovaglio J., Hanley P.W., Saturday G., Bosio C.M., Anzick S., Barbican K., Cihlar T., Martens C., Scott D.P., Munster V.J., de Wit E. Clinical benefit of remdesivir in rhesus macaques infected with SARS-CoV-2 // *Nature.* – 2020. – Vol. 585, No. 7824. – P.273-276. DOI: 10.1038/s41586-020-2423-5
48. Wang M., Cao R., Zhang L., Yang X., Liu J., Xu M., Shi Z., Hu Z., Zhong W., Xiao G. Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro // *Cell. Res.* – 2020. – Vol. 30, No. 3. – P. 269–271. DOI: 10.1038/s41422-020-0282-0
49. Sheahan T.P., Sims A.C., Graham R.L., Menachery V.D., Gralinski L.E., Case J.B., Leist S.R., Pyrc K., Feng J.Y., Trantcheva I., Bannister R., Park Y., Babusis D., Clarke M.O., Mackman R.L., Spahn J.E., Palmiotti C.A., Siegel D., Ray A.S., Cihlar T., Jordan R., Denison M.R., Baric R.S. Broad-spectrum antiviral GS-5734 inhibits both epidemic and zoonotic coronaviruses // *Sci. Transl. Med.* – 2017. – Vol. 9, No. 396. – Art. ID: eaal3653. DOI: 10.1126/scitranslmed.aal3653
50. Spinner C.D., Gottlieb R.L., Criner G.J., Arribas López J.R., Cattelan A.M., Soriano Viladomiu A., Ogbuagu O., Malhotra P., Mullane K.M., Castagna A., Chai L.Y.A., Roestenberg M., Tsang O.T.Y., Bernasconi E., Le Turnier P., Chang S.C., Sen Gupta D., Hyland R.H., Osinusi A.O., Cao H., Blair C., Wang H., Gaggar A., Brainard D.M., McPhail M.J., Bhagani S., Ahn M.Y., Sanyal A.J., Huhn G., Marty F.M.; GS-US-540-5774 Investigators. Effect of Remdesivir vs Standard Care on Clinical Status at 11 Days in Patients With Moderate COVID-19: A Randomized Clinical Trial // *JAMA.* – 2020. – Vol. 324, No. 11. – P. 1048–1057. DOI: 10.1001/jama.2020.16349
51. Wang Y., Zhang D., Du G., Du R., Zhao J., Jin Y., Fu S., Gao L., Cheng Z., Lu Q., Hu Y., Luo G., Wang K., Lu Y., Li H., Wang S., Ruan S., Yang C., Mei C., Wang Y., Ding D., Wu F., Tang X., Ye X., Ye Y., Liu B., Yang J., Yin W., Wang A., Fan G., Zhou F., Liu Z., Gu X., Xu J., Shang L., Zhang Y., Cao L., Guo T., Wan Y., Qin H., Jiang Y., Jaki T., Hayden F.G., Horby P.W., Cao B., Wang C. Remdesivir in adults with severe COVID-19: a randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial // *Lancet.* – 2020. – Vol. 395. – P. 1569–1578. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)31022-9. Erratum in: *Lancet.* – 2020. – Vol. 395, No. 10238. – Art. ID: 1694.
52. Goldman D.L., Aldrich M.L., Hagmann S.H.F., Bamford A., Camacho-Gonzalez A., Lapadula G., Lee P., Bonfanti P., Carter C.C., Zhao Y., Telep L., Pikora C., Naik S., Marshall N., Katsarolis I., Das M., DeZure A., Desai P., Cao H., Chokkalingam A.P., Osinusi A., Brainard D.M., Méndez-Echevarría A. Compassionate Use of Remdesivir in Children With Severe COVID-19 // *Pediatrics.* – 2021. – Vol. 147, No. 5. – Art. ID: e2020047803. DOI: 10.1542/peds.2020-047803
53. Gottlieb R.L., Vaca C.E., Paredes R., Mera J., Webb B.J., Perez G., Oguchi G., Ryan P., Nielsen B.U., Brown M., Hidalgo A., Sachdeva Y., Mittal S., Osiyemi O., Skarbinski J., Juneja K., Hyland R.H., Osinusi A., Chen S., Camus G., Abdelghany M., Davies S., Behenna-Renton N., Duff F., Marty F.M., Katz M.J., Ginde A.A., Brown S.M., Schiffer J.T., Hill J.A.; GS-US-540-9012 (PINETREE) Investigators. Early Remdesivir to Prevent Progression to Severe Covid-19 in Outpatients // *N. Engl. J. Med.* – 2022. – Vol. 386, No. 4. – P. 305–315. DOI: 10.1056/NEJMoa2116846
54. WHO Solidarity Trial Consortium. Remdesivir and three other drugs for hospitalised patients with COVID-19: final results of the WHO Solidarity randomised trial and updated meta-analyses // *Lancet.* – 2022. – Vol. 399, No. 10339. – P. 1941–1953. DOI: 10.1016/S0140-6736(22)00519-0
55. Singh S., Khera D., Chugh A., Khera P.S., Chugh V.K. Efficacy and safety of remdesivir in COVID-19 caused by SARS-CoV-2: a systematic review and meta-analysis // *BMJ Open.* – 2021. – Vol. 11, No. 6. – Art. ID: e048416. DOI: 10.1136/bmjopen-2020-048416
56. Wahl A., Gralinski L.E., Johnson C.E., Yao W., Kovarova M., Dinnon K.H. 3rd., Liu H., Madden V.J., Krzystek H.M., De C., White K.K., Gully K., Schäfer A., Zaman T., Leist S.R., Grant P.O., Bluemling G.R., Kolykhalov A.A., Natchus M.G., Askin F.B., Painter G., Browne E.P., Jones C.D., Pickles R.J., Baric R.S., Garcia J.V. SARS-CoV-2 infection is effectively treated and prevented by EIDD-2801 // *Nature.* – 2021. – Vol. 591, No. 7850. – P. 451–457. DOI: 10.1038/s41586-021-03312-w
57. Painter W.P., Holman W., Bush J.A., Almazed F., Malik H., Erout N.C.J.E., Morin M.J., Szewczyk L.J., Painter G.R. Human Safety, Tolerability, and Pharmacokinetics of Molnupiravir, a Novel Broad-Spectrum Oral Antiviral Agent with Activity Against SARS-CoV-2 // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2021. – Vol. 65, No. 5. – Art. ID: e02428-20. DOI: 10.1128/AAC.02428-20
58. Vangeel L., Chiu W., De Jonghe S., Maes P., Slechten B., Raymenants J., André E., Leysen P., Neyts J., Jochmans D. Remdesivir, Molnupiravir and Nirmatrelvir remain active against SARS-CoV-2 Omicron and other variants of concern // *Antiviral Res.* – 2022. – Vol. 198. – Art. ID: 105252. DOI: 10.1016/j.antiviral.2022.105252
59. Fischer W.A. 2nd, Eron J.J. Jr., Holman W., Cohen M.S., Fang L., Szewczyk L.J., Sheahan T.P., Baric R., Mollan K.R., Wolfe C.R., Duke E.R., Azizad M.M., Borroto-Esoda K., Wohl D.A., Coombs R.W., James Loftis A., Alabanza P., Lipansky F., Painter W.P. A phase 2a clinical trial of molnupiravir in patients with COVID-19 shows accelerated SARS-CoV-2 RNA clearance and elimination of infectious virus // *Sci. Transl. Med.* – 2022. – Vol. 14, No. 628. – Art. ID: eabl7430. DOI: 10.1126/scitranslmed.abl7430
60. Jayk Bernal A., Gomes da Silva M.M., Musungaie D.B., Kovalchuk E., Gonzalez A., Delos Reyes V., Martín-Quiros A., Caraco Y., Williams-Diaz A., Brown M.L., Du J., Pedley A., Assaid C., Strizki J., Grobler J.A., Shamsuddin H.H., Tipping R., Wan H., Paschke A., Butters J.R., Johnson M.G., De Anda C.; MOVE-OUT Study Group. Molnupiravir for Oral Treatment of Covid-19 in Nonhospitalized Patients // *N. Engl. J. Med.* – 2022. – Vol. 386, No. 6. – P. 509–520. DOI: 10.1056/NEJMoa2116044
61. Пшеничная Н.Ю., Омарова Х.Г., Балыкова Л.А., Пушкарь Д.Ю., Заславская К.Я., Земсков Д.Н., Таганов А.В., Белый П.А. Эффективность и безопасность препарата молнупиравир у взрослых амбулаторных пациентов с COVID-19 // *Инфекционные болезни.* – 2022. – №4.
62. Najjar-Debbiny R., Gronich N., Weber G., Khoury J., Amar M., Stein N., Goldstein L.H., Saliba W. Effectiveness of Paxlovid in Reducing Severe COVID-19 and Mortality in High Risk Patients // *Clin. Infect. Dis.* – 2022. – ciac443. DOI: 10.1093/cid/ciac443

63. Yan G., Zhou J., Zhu H., Chen Y., Lu Y., Zhang T., Yu H., Wang L., Xu H., Wang Z., Zhou W. The feasibility, safety, and efficacy of Paxlovid treatment in SARS-CoV-2-infected children aged 6-14 years: a cohort study // *Ann. Transl. Med.* – 2022. – Vol. 10, No. 11. – Art. ID: 619. DOI: 10.21037/atm-22-2791
64. Hammond J., Leister-Tebbe H., Gardner A., Abreu P., Bao W., Wisemandle W., Baniecki M., Hendrick V.M., Damle B., Simón-Campos A., Pypstra R., Rusnak J.M.; EPIC-HR Investigators. Oral Nirmatrelvir for High-Risk, Nonhospitalized Adults with Covid-19 // *N. Engl. J. Med.* – 2022. – Vol. 386, No. 15. – P. 1397–1408. DOI: 10.1056/NEJMoa2118542
65. Saravolatz L.D., Depcinski S., Sharma M. Molnupiravir and Nirmatrelvir-Ritonavir: Oral COVID Antiviral Drugs. *Clin Infect Dis.* 2022 Mar 4:ciac180. DOI: 10.1093/cid/ciac180.
66. Балыкова Л.А., Селезнева Н.М., Горшенина Е.И., Шепелева О.И., Кириченко Н.В., Симакина Е.Н., Колонтарев К.Б., Пушкарь Д.Ю., Земсков Д.Н., Заславская К.Я., Носков С.М., Таганов А.В., Белый П.А. Современная направленная противовирусная терапия COVID-19: результаты многоцентрового клинического исследования эффективности и безопасности фиксированной комбинации, содержащей нирматрелвир и ритонавир // *Фармация и фармакология.* – 2022. – Т. 10, № 4. – С. 371–386. DOI: 10.19163/2307-9266-2022-10-4-371-386

АВТОРЫ

Земсков Дмитрий Николаевич – ассистент кафедры биологической и фармацевтической химии с курсом организации и управления фармацией Медицинский институт ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарева». ORCID ID: 0000-0002-0181-4327. E-mail: dizem1978@gmail.com

Балыкова Лариса Александровна – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий кафедрой педиатрии, директор Медицинского института ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарева». ORCID ID: 0000-0002-2290-0013. E-mail: larisabalykova@yandex.ru

Радаева Ольга Александровна – доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой иммунологии, микробиологии и вирусологии с курсом клинической иммунологии и аллергологии Медицинский институт ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарева». ORCID ID: 0000-0003-1383-2474. E-mail: radaevamed@mail.ru

Заславская Кира Яковлевна – ассистент кафедры биологической и фармацевтической химии с курсом организации и управления фармацией Медицинский

институт ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарева». ORCID ID: 0000-0002-7348-9412. E-mail: kiryonok@yandex.ru

Белый Петр Александрович – кандидат медицинских наук, старший лаборант кафедры пропедевтики внутренних болезней и гастроэнтерологии ФГБОУ ВО МГМУ им. А.И. Евдокимова» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-5998-4874. E-mail: pbely@ncpharm.ru

Семенова Елена Васильевна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры фармакологии, Медицинский институт ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарева». ORCID ID: 0000-0001-6905-0063. E-mail: yelenadan@mail.ru

Ширманкина Марина Васильевна – клинический ординатор кафедры педиатрии, Медицинский институт ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарева». ORCID ID: 0000-0002-9049-5662. E-mail: shirmankina99@mail.ru

Корянова Ксения Николаевна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакологии с курсом клинической фармакологии ПМФИ – филиала ВолгГМУ. ORCID ID: 0000-0003-1571-9301. E-mail: kskor-16@mail.ru

УДК: 615.281:614.27:616.98:578.834.1-036.21(470.43)



ОСОБЕННОСТИ ПОТРЕБЛЕНИЯ ПРОТИВОВИРУСНЫХ И АНТИМИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ СИСТЕМНОГО ДЕЙСТВИЯ В ПЕРИОД РАСПРОСТРАНЕНИЯ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ В РОЗНИЧНОМ СЕКТОРЕ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО РЫНКА САМАРСКОЙ ОБЛАСТИ

И.К. Петрухина, П.А. Лебедев, И.И. Сиротко, Т.К. Рязанова, Е.П. Гладунова, А.А. Гаранин

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
443099, Россия, г. Самара, ул. Чапаевская, д. 89

E-mail: i.k.petrukhina@samsmu.ru

Получена 25.04.2022

После рецензирования 05.07.2022

Принята к печати 08.09.2022

Анализ структуры потребления лекарственных препаратов в период пандемии COVID-19 в аптечной сети отражает существующую амбулаторную практику и позволяет сделать обобщенные выводы о соответствии ее стандартам фармакотерапии.

Цель. Сравнительный анализ популяционного потребления антимикробных и противовирусных лекарственных препаратов, реализованных в розничном секторе фармацевтического рынка Самарской области в 2015–2021 гг.

Материалы и методы. Исследование проведено в розничном секторе фармацевтического рынка Самарской области. В качестве материала исследования использовали сведения о номенклатуре и объемах отпуска антибактериальных и отдельных противовирусных лекарственных препаратов в период распространения новой коронавирусной инфекции (в 2020 г.) в сети аптек Самарской области. Данные сопоставлены с показателями реализации лекарственных препаратов в 2015–2019 гг. Использованы методы ретроспективного, сравнительного, графического, методологического, контент-анализ и статистические методы анализа.

Результаты. Авторами установлена значительная деформация потребления антимикробных препаратов системного действия в аптечном сегменте Самарской области в период 2015–2019 гг. с преобладанием группы АТХ J01D с доминированием цефалоспоринов (38%) преимущественно парентерального пути введения. Доля потребления в натуральном выражении макролидов (J01F) составила 14,9%, фторхинолонов (J01M) – 11,3%, бета-лактамов антибиотиков с ингибиторами бета-лактамаз – 10,7%, бета-лактамов антибиотиков-пенициллинов (J01C) – 8,1%. В сравнении с 2019 г., в 2020 г. в условиях пандемии COVID-19 общее потребление АМП увеличилось в 2,1 раз. В группе «Другие бета-лактамы антибиотиков» с преимущественной долей цефалоспоринов произошло увеличение в 3,2 раза, «Макролиды и линкозамиды» – в 3,5 раза, «Производные хинолона» – в 2,6 раза. Отмеченные факты следует оценивать как фактор, который может оказать непосредственное влияние на рост антибиотикорезистентности в популяционном масштабе. Среди противовирусных препаратов наибольший рост потребления отмечен для осельтамивира и римантадина. В абсолютном выражении объем потребления противовирусных лекарственных препаратов в 2020 г. увеличился в 2,4 раза, что сопровождалось увеличением стоимости одной упаковки на 55,8%.

Заключение. В период распространения новой коронавирусной инфекции отмечен значительный рост потребления антимикробных и противовирусных лекарственных препаратов (по отдельным фармакотерапевтическим группам и наименованиям – до 20 раз), что может негативным образом отразиться на росте антибиотикорезистентности у населения.

Ключевые слова: антимикробные препараты системного действия; противовирусные препараты; аптечный сегмент; потребление; пандемия COVID-19

Список сокращений: АМП – антимикробные препараты; ЛП – лекарственные препараты; DDD – суточная поддерживающая доза; МНН – международное непатентованное наименование; АТХ – анатомо-терапевтическо-химическая классификация; ОРВИ – острая респираторная вирусная инфекция; РНК – рибонуклеиновая кислота.

Для цитирования: И.К. Петрухина, П.А. Лебедев, И.И. Сиротко, Т.К. Рязанова, Е.П. Гладунова, А.А. Гаранин. Особенности потребления противовирусных и антимикробных препаратов системного действия в период распространения новой коронавирусной инфекции в розничном секторе фармацевтического рынка Самарской области. *Фармация и фармакология*. 2022;10(5):446-459. DOI: 10.19163/2307-9266-2022-10-5-446-459

© И.К. Петрухина, П.А. Лебедев, И.И. Сиротко, Т.К. Рязанова, Е.П. Гладунова, А.А. Гаранин, 2022

For citation: I.K. Petrukhina, P.A. Lebedev, I.I. Sirotko, T.K. Ryazanova, E.P. Gladunova, A.A. Garanin. Consumption details of systemically acting antiviral and antimicrobial preparations in period of novel coronavirus infection spread in retail sector of Samara region pharmaceutical market. *Pharmacy & Pharmacology*. 2022;10(5):446-459. DOI: 10.19163/2307-9266-2022-10-5-446-459

CONSUMPTION DETAILS OF SYSTEMICALLY ACTING ANTIVIRAL AND ANTIMICROBIAL PREPARATIONS IN PERIOD OF NOVEL CORONAVIRUS INFECTION SPREAD IN RETAIL SECTOR OF SAMARA REGION PHARMACEUTICAL MARKET

I.K. Petrukhina, P.A. Lebedev, I.I. Sirotko, T.K. Ryazanova, E.P. Gladunova, A.A. Garanin

Samara State Medical University,
89, Chapaevskaya Str., Samara, Russia 443099

E-mail: i.k.petrukhina@samsmu.ru

Received 25 April 2022

After peer review 05 July 2022

Accepted 08 Sep 2022

An analysis of the medicinal preparation consumption structure in the period of the COVID-19 pandemic in the pharmacy network reflects the existing outpatient practice and makes it possible to draw generalized conclusions about its compliance with the pharmacotherapy standards.

The aim. Comparative analysis of population consumption of antimicrobial and antiviral medicines sold in the retail pharmacies of the Samara region in 2015–2021.

Materials and methods. The study was conducted in the retail sector of the Samara region pharmaceutical market. The material of the study was the information on the list of items and dispensing volumes of antibacterial and individual antiviral drugs during the novel coronavirus infection spread (in 2020) in the network of the Samara region pharmacies. The data are compared with the indicators of the drug sales in 2015–2019. Methods of retrospective, comparative, graphical, methodological, content analyzes and statistical methods of analyses were used.

Results. The authors have established a significant distortion in the consumption of systemic antimicrobial preparations in the Samara region pharmacy segment in the period of 2015–2019 with the predominance of the ATC (Anatomical Therapeutic Chemical Classification System) J01D group, primarily cephalosporins (38%), mainly by the parenteral administration route. The share of macrolides (J01F) consumption in volume terms was 14.9%, of fluoroquinolones (J01M) – 11.3%, beta-lactam antibiotics with beta-lactamase inhibitors – 10.7%, beta-lactam antibiotics penicillins (J01C) – 8.1%. Compared to 2019, in 2020, under the conditions of the COVID-19 pandemic, the total consumption of AMPs increased by 2.1 times. In the “Other beta-lactam antibiotics” group with a predominant proportion of cephalosporins, there was an increase by 3.2 times, in the “Macrolides and lincosamides” group – by 3.5 times, in “Quinolone derivatives” – by 2.6 times. The noted facts should be assessed as the phenomenon that can have a direct impact on the growth of an antibiotic resistance on a population scale. Among antivirals, the largest consumption increase was noted for oseltamivir and rimantadine. In absolute terms, the volume of antiviral preparations consumption in 2020 increased by 2.4 times, which was accompanied by an increase in the cost of one package by 55.8%.

Conclusion. In the period of spreading a novel coronavirus infection, a significant increase in the consumption of antimicrobial and antiviral preparations (up to 20 times for certain pharmacotherapeutic groups and names) was notified, which may negatively affect the growth of the antibiotic resistance in the population.

Keywords: systemic antimicrobial preparations; antiviral drugs; pharmacy segment; consumption; COVID-19 pandemic

Abbreviations: AMPs – antimicrobial preparations; MP – medicinal preparations; DDD – Defined Daily Dose; INN – international non-proprietary name; ATC – Anatomical Therapeutic Chemical Classification System; ARVI – acute respiratory viral infection; RNA – ribonucleic acid.

ВВЕДЕНИЕ

Новая коронавирусная инфекция стала беспрецедентным вызовом для системы здравоохранения Российской Федерации (РФ), фарминдустрии, системы лекарственного обеспечения регионов. Наибольшие затруднения вызывает поиск эффективных способов этиотропного лечения [1–3]. В условиях отсутствия новых лекарственных препаратов (ЛП), эффективно подавляющих репликацию SARS-Cov-2, актуальным представляется скрининг известных противовирусных средств. Получение надежных сведений в отношении клинической пользы препаратов оказалось весьма проблематичным в текущей ситуации и привело к

тому, что критерием пользы стали предпочтения врачей и пациентов [4–8].

Структура потребления antimicrobных препаратов (АМП) системного действия, противовирусных средств населением через аптечную сеть, отражающая амбулаторную практику в период, предшествующий пандемии, а также динамика потребления ЛП в период пандемии, представляется важной в плане соответствия направленности современных рекомендаций¹.

¹ Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 3 (03.03.2020). – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://edu.rosminzdrav.ru/fileadmin/user_upload/specialists/COVID-19/Vremennye_MR_COVID-19_03.03.2020__versija_3__6-6_ver1.pdf

При этом масштабы использования АМП и противовирусных ЛП в амбулаторной практике различных регионов РФ достоверно не известны, такие данные в печати единичны. Вместе с тем уже в ближайшее время особо остро может встать проблема антибиотикорезистентности в случае нерационального увеличения использования АМП [9–15]. Назначение и использование АМП всегда должно быть оправдано, поскольку нерациональное применение ЛП данной фармакотерапевтической группы может привести к заметному росту антибиотикорезистентности в популяционном масштабе [1, 12, 16]. Динамика потребления АМП и противовирусных препаратов позволяет косвенно оценить оптимальность фармакотерапии новой коронавирусной инфекции, а также установить соответствие современным стандартам. Результаты такого анализа могут быть использованы для повышения эффективности и безопасности использования ЛП на уровне популяции [17–26].

В этой связи высокую актуальность приобретают маркетинговые исследования, позволяющие выявлять тенденции популяционного потребления антимикробных (АМП) и противовирусных ЛП в розничном секторе фармацевтического рынка.

ЦЕЛЬ. Сравнительный анализ популяционного потребления антимикробных и противовирусных лекарственных препаратов, реализованных в розничном секторе фармацевтического рынка Самарской области в 2015–2021 гг.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на примере розничного сектора фармацевтического рынка Самарской области. По ряду демографических, медико-социальных, экономических и инфраструктурных показателей данный субъект входит в число наиболее развитых регионов Приволжского федерального округа и РФ. Областной фармацевтический рынок является высококонцентрированным рынком с высокой степенью конкуренции.

Материалом исследования являлись сведения о номенклатуре и объемах отпуска антибактериальных и некоторых противовирусных ЛП в период распространения коронавирусной инфекции (в 2020–2021 гг.) в аптечной сети Самарской области. Анализируемая аптечная сеть включает 30 аптек, расположенных в разных муниципальных образованиях Самарской области. Данные сетевые аптеки имеют широкий ассортимент ЛП и других товаров аптечного ассортимента (около 30 тыс. наименований).

Использованы методы ретроспективного (анализ изменения показателей розничной реализации ЛП населению в течение 2015–2021 гг.), сравнительного (анализ отдельных групповых и внутригрупповых показателей), графического (представление динамических рядов реализации

ЛП), методологического (выделение общих для объектов характеристик, анализ взаимосвязи между явлениями), контент-анализ (анализ содержания текстовых массивов о реализации ЛП в анализируемом периоде) и статистические методы анализа. Статистическую обработку проводили с использованием IBM SPSS Advanced Statistics 24.0 № 5725-A54 (IBM, США).

Оценка репрезентативности выборки в проводимых исследованиях осуществлялась по оценке количества покупок ЛП рассматриваемых групп в анализируемой розничной сети фармацевтического рынка Самарской области. С этой целью была использована формула:

$$m = 2\sqrt{n},$$

где: m – полученная численность выборки; n – численность генеральной совокупности.

Под генеральной совокупностью в проводимых исследованиях понимается численность населения Самарской области (n в 2021 г. составляет 3154200 человек). Следовательно, численность выборки для обеспечения ее репрезентативности должна составлять 3552 покупки антибактериальных ЛП в 2020 г. В 2015–2021 гг. в исследуемой аптечной сети ежегодно совершалось около 50 тысяч покупок, что подтверждает репрезентативность полученных данных, т.е. соответствие характеристик выборки характеристикам генеральной совокупности.

Для препаратов рассчитывали стоимость одной средней суточной поддерживающей дозы (defined daily dose, DDD) путем деления общей стоимости упаковок препаратов с одним МНН на общее количество DDD.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Потребление антимикробных препаратов системного действия

За период 2015–2021 гг. в исследуемом секторе розничного сегмента фармацевтического рынка Самарской области было реализовано около 18 млн упаковок ЛП и других товаров аптечного ассортимента, из которых 2,57% приходилось на АМП. За период 2015–2021 гг. средняя доля АМП в общем объеме отпущенных упаковок составила 3,38%. Для сравнения, на российском фармацевтическом рынке доля АМП в натуральном объеме продаж составляет около 11,69%, причем 43,7% покупок совершается за счет личных средств населения. В целом в 2015–2021 гг. ассортимент антибактериальных ЛП составлял в среднем (\pm стандартное отклонение, SD) 54 ± 3 международных непатентованных наименований (МНН), что соответствует 138 ± 3 торговым наименованиям.

Заметный рост потребления антибактериальных ЛП в розничном секторе фармацевтического рынка Самарской области отмечен в 2020 г. (по сравнению

с 2019 г. реализация в упаковках увеличилась в 2,12 раза), что превышает среднегодовые колебания реализованного спроса на данную группу ЛП в 2015–2019 гг. Изучение динамики реализованного спроса на отдельные подгруппы АМП для системного применения (в соответствии с принадлежностью к подгруппам по анатомо-терапевтическо-химической [АТХ-]классификации) выявило достоверное увеличение в 2020 г. количества отпущенных упаковок для следующих подгрупп: J01D «Другие бета-лактамы», J01F «Макролиды и линкозамиды», J01M «Производные хинолона» (табл. 1, рис. 1). На наш взгляд, это обстоятельство обусловлено влиянием распространения новой коронавирусной инфекции и в ряде случаев ажиотажным спросом на лекарственные препараты некоторых фармакотерапевтических групп.

Вместе с тем, по итогам 2021 г. отмечено возвращение уровня потребительского спроса к значениям 2015–2019 гг. Возможными причинами данной тенденции могут являться: формирование к концу 2020 г. запасов антибактериальных ЛП в домашних аптечках; реализация программ обеспечения ЛП, назначаемыми для больных COVID-19 за счет средств федерального бюджета; изменение алгоритма лечения амбулаторных больных (в 2021 г. на амбулаторном этапе оказания медицинской помощи из схем фармакотерапии АМП были исключены).

В 2020 г. на фоне значительного увеличения спроса на ЛП АТХ-подгрупп J01D «Другие бета-лактамы», J01F «Макролиды и линкозамиды», J01M «Производные хинолона» отмечено снижение доли (от общего количества реализованных упаковок АМП) для препаратов подгрупп J01A «Тетрациклины», J01C «Бета-лактамы антибиотико-пенициллины», J01G «Аминогликозиды», J01X «Другие антибактериальные препараты» и «Бета-лактамы антибиотико-пенициллины с ингибиторами бета-лактамаз». Как видно из рисунка 2, в 2021 г. отмечается возврат к сложившейся картине спроса на АМП в 2015–2019 гг., за исключением аминогликозидов, количество реализованных упаковок, которых в 2019–2021 гг. ежегодно снижалось в среднем на 35% (рис. 2).

В 2015–2021 гг. максимальная доля от общего объема реализованного спроса приходилась на АТХ-подгруппу J01D «Другие бета-лактамы антибиотико-пенициллины» (рис. 3). Среднее значение доли (\pm SD) от объема реализованного спроса в натуральном выражении для этой АТХ-подгруппы составило $38,5 \pm 5,6\%$.

В 2020 г. на фоне начала пандемии новой коронавирусной инфекции отмечено увеличение доли ЛП этой АТХ-подгруппы до 47,6%. В 2021 г. значение доли препаратов J01D от общего объема реализованного спроса вернулось к прежним среднегодовым значениям (39,0%) (табл. 1,

рис. 1). За последние два года всплеск спроса на эти ЛП отмечался в октябре, хотя в 2021 г. он был менее выраженным по сравнению с 2020 г. (рис. 4).

В 2020 г., как и в предшествующем периоде (2015–2019 гг.), в группе «Другие бета-лактамы антибиотико-пенициллины» наибольшие объемы потребления в натуральном выражении имели препараты цефтриаксона (медиана 72,2%), в диапазоне от 63,5% в 2020 г. до 76,8% в 2017 г. от общего объема реализованного спроса препаратов этой АТХ-подгруппы). В то же время в 2020 г. в общей структуре отпущенных упаковок ЛП АТХ-подгруппы J01D отмечено резкое увеличение доли и количества отпущенных упаковок для ЛП цефазолина, цефдиторена и меропенема, которые в 2021 г. вернулись к прежним значениям. Наибольшим спросом в амбулаторной практике пользуются парентеральные препараты из группы цефалоспоринов J01D, включая цефтриаксон, а также цефазолин (8,3–12,9%) и цефотаксим (7,7–5,4%). В соответствии с современными рекомендациями амоксициллин и его комбинация с клавулановой кислотой (β -лактамы антибиотико-пенициллины с ингибиторами β -лактамаз) должны являться основой лечения подавляющего большинства бактериальных инфекций в амбулаторной практике. Тем не менее, частота продаж амоксициллина с 2015 г. по 2021 г. снизилась с 14,1% до 6,1% (табл. 1). В сочетании с ингибиторами β -лактамаз, где основная доля препаратов приходится на амоксициллин (96,9–81,6%), частота использования этого препарата суммарно не превышает 10% в 2020 г. (табл. 1).

Согласно литературным данным, в амбулаторной практике препаратом выбора первого ряда является амоксициллин, назначаемый перорально при пневмонии, обострении хронической обструктивной болезни легких, остром риносинусите, бронхите, остром тонзиллите, неосложненной инфекции кожи и мягких тканей [8, 15, 17]. Вместе с тем в розничном секторе фармацевтического рынка Самарской области отмечен высокий потребительский спрос на β -лактамы антибиотико-пенициллины.

В 2015–2021 гг. значительную долю в структуре потребления в натуральном выражении также занимали ЛП J01F АТХ-подгрупп «Макролиды и линкозамиды» (15,0%) и J01M «Производные хинолона» (11,4%) (табл. 1, рис. 1). Для группы «Макролиды и линкозамиды» в 2020 г. отмечено увеличение доли (в общей структуре отпущенных упаковок – до 19,9%). В 2021 г. эта доля уменьшилась по отношению к 2020 г., но продолжала оставаться высокой по сравнению со среднегодовыми данными для периода 2015–2019 гг. (14,4%). При анализе спроса по месяцам обнаружено, что в 2020 и 2021 гг. спрос на эти АМП, как и в случае АТХ-подгруппы J01D «Другие бета-лактамы антибиотико-пенициллины», достигал максимума в октябре (рис. 5).

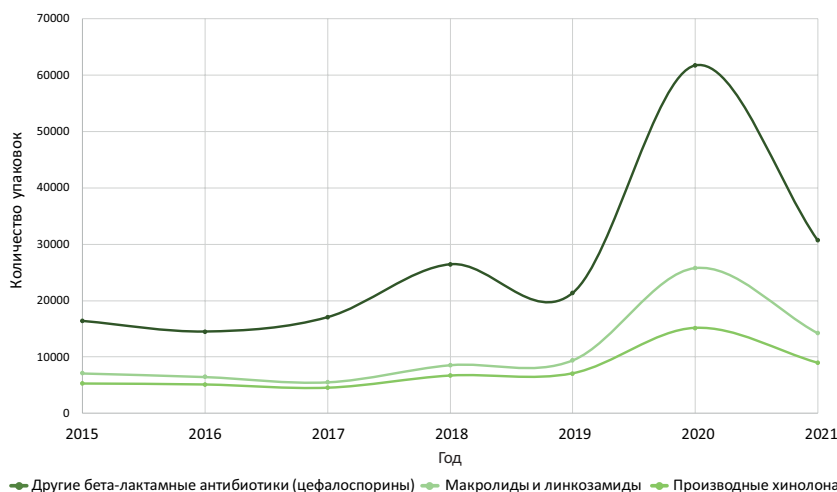


Рисунок 1 – Динамика реализованного спроса на некоторые группы антибактериальных лекарственных препаратов, продажи которых увеличились в период пандемии

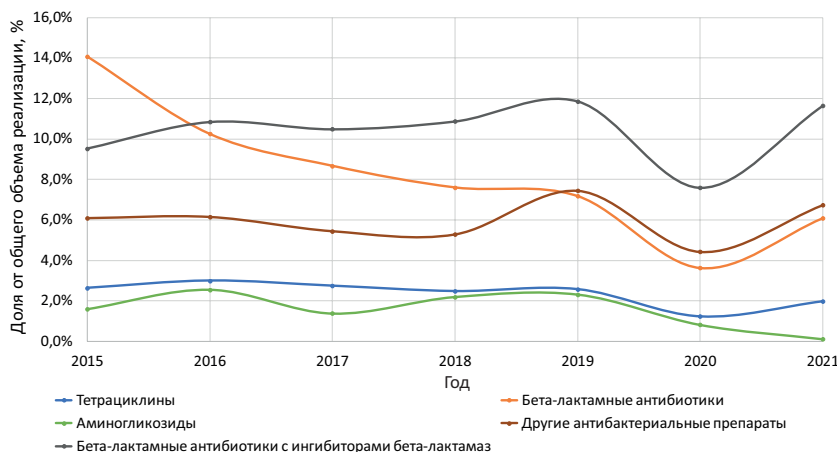


Рисунок 2 – Динамика реализованного спроса на некоторые группы антибактериальных лекарственных препаратов, продажи которых уменьшились или не изменились в период пандемии

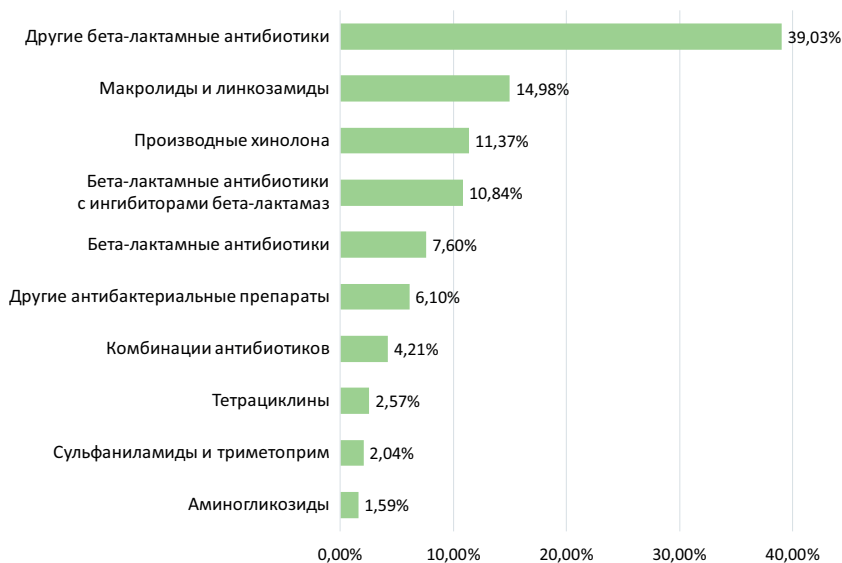


Рисунок 3 – Медианные доли от объема реализованного спроса антибактериальных лекарственных препаратов в 2015–2021 гг.

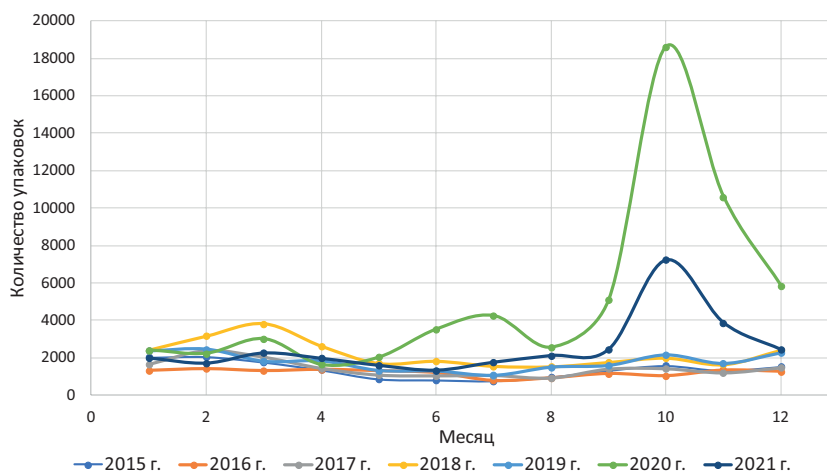


Рисунок 4 – Динамика спроса на препараты АТХ-подгруппы J01D «Другие бета-лактамы» в 2015–2021 гг. (по месяцам)

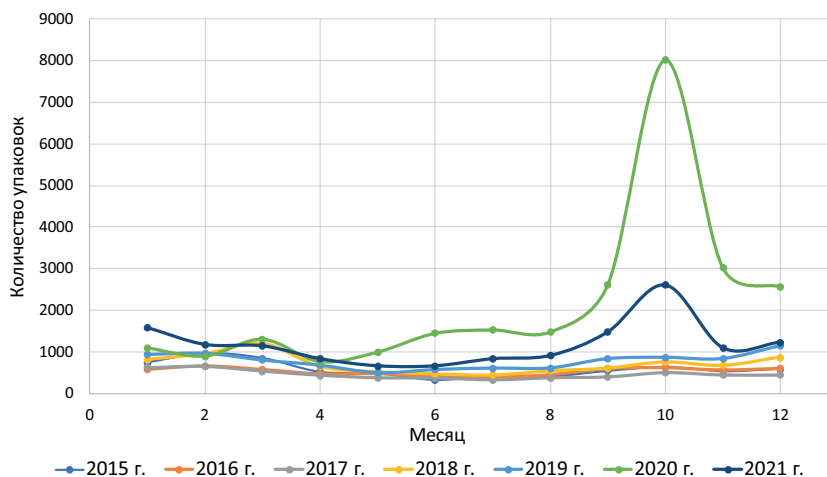


Рисунок 5 – Динамика спроса на препараты АТХ-подгруппы J01F «Макролиды и линкозамиды» в 2015–2021 гг. (по месяцам)

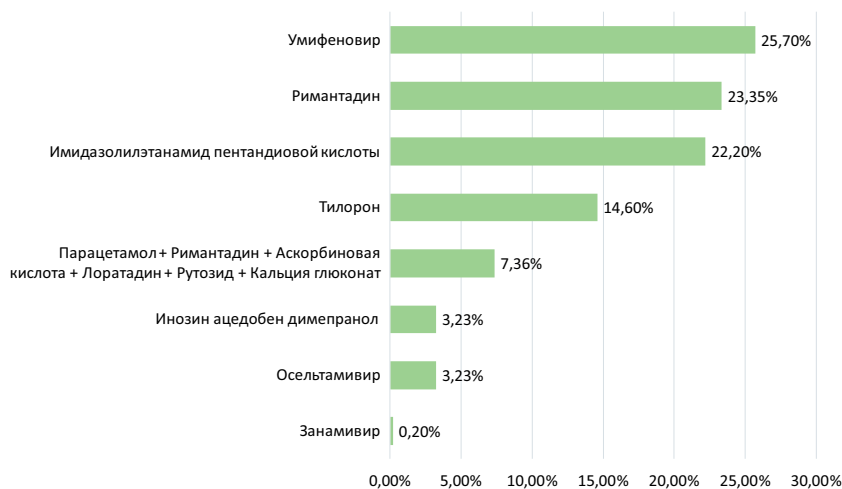


Рисунок 6 – Медианные доли от объема реализованного спроса противовирусных лекарственных препаратов в 2015–2020 гг.

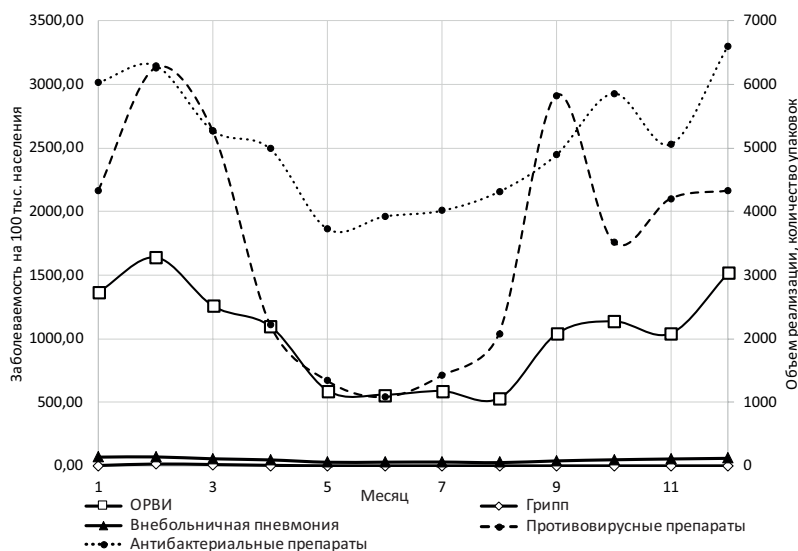


Рисунок 7 – Заболеваемость ОРВИ, гриппом, COVID-19, внебольничными пневмониями в 2019 г. (по данным Роспотребнадзора по Самарской области), объемы реализованных упаковок противовирусных препаратов и АМП

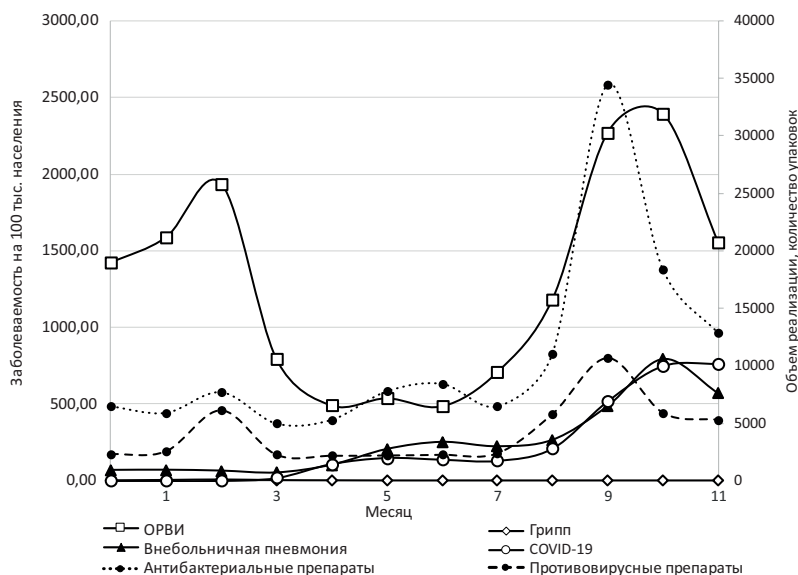


Рисунок 8 – Заболеваемость ОРВИ, гриппом, COVID-19, внебольничными пневмониями в 2020 г. (по данным Роспотребнадзора по Самарской области), объемы реализованных упаковок противовирусных препаратов и АМП

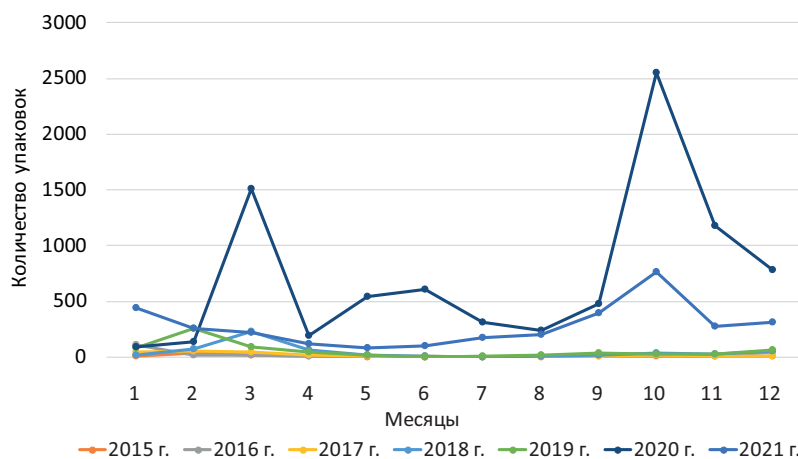


Рисунок 9 – Динамика спроса на осельтамивир в 2015–2021 гг.

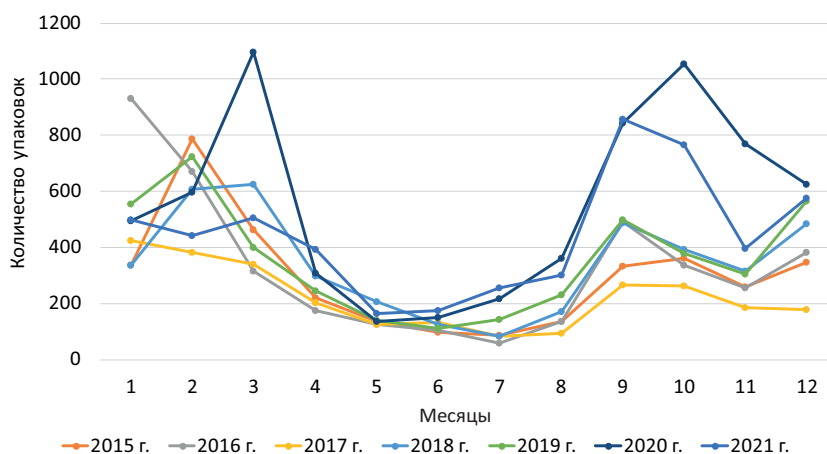


Рисунок 10 – Динамика спроса на римантадин в 2015–2021 гг.

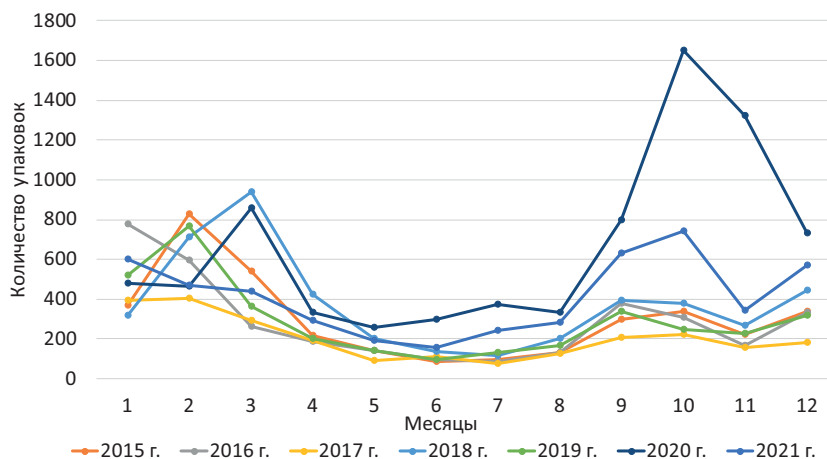


Рисунок 11 – Динамика спроса на имидазолилэтанамид пентадиеновой кислоты в 2015–2021 гг.

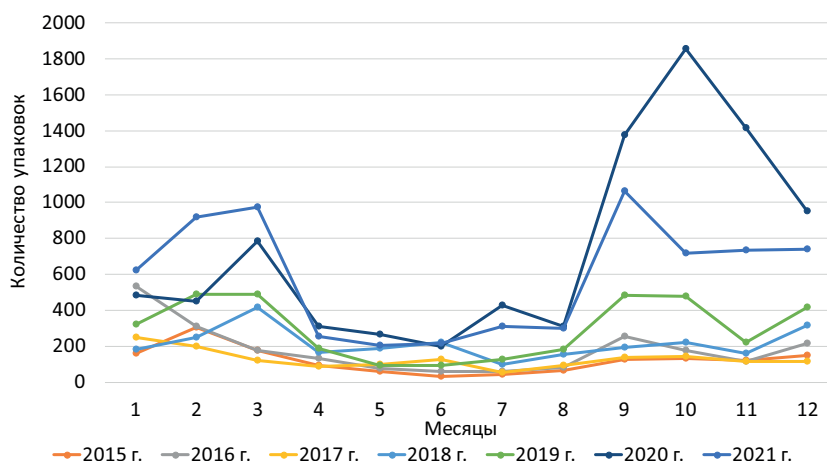


Рисунок 12 – Динамика спроса на тиролон в 2015–2021 гг.

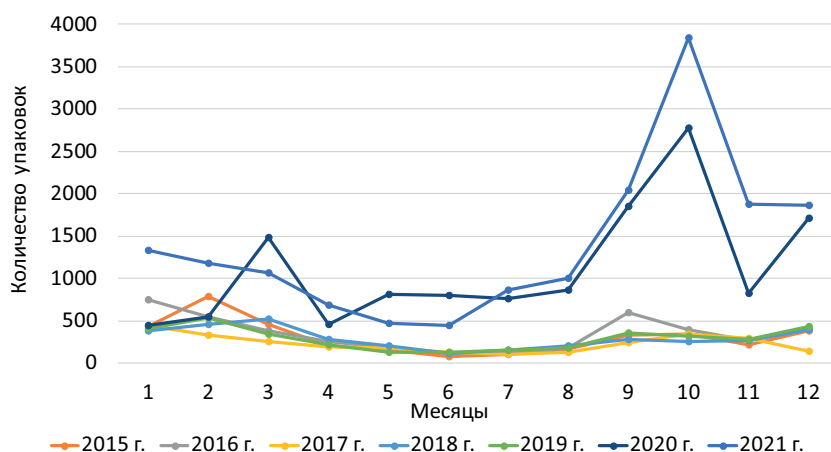


Рисунок 13 – Динамика спроса на умифеновир в 2015–2021 гг.

Таблица 1 – Структура потребления антибактериальных лекарственных препаратов в розничном секторе фармацевтического рынка Самарской области

АТХ-подгруппы лекарственных препаратов (МНН)	Доля от объема реализованного спроса (в упаковках), %*							Медиана (минимум–максимум) в 2015–2021 г.
	Годы							
	2015 г.	2016 г.	2017 г.	2018 г.	2019 г.	2020 г.	2021 г.	
J01A Тетрациклины	2,6	3,0	2,7	2,5	2,6	1,2	2,0	2,6 (1,2–3,0)
Доксициклин	85,5	88,7	85,6	84,3	86,5	80,2	87,7	87,6 (80,2–88,7)
Тетрациклин	14,5	11,1	12,8	15,3	13,3	19,1	9,9	13,3 (9,9–19,10)
J01C Бета-лактамы антибиотико-пенициллины	14,1	10,3	8,7	7,6	7,2	3,6	6,1	7,6 (3,6–14,1)
Амоксициллин	58,6	81,3	85,4	93,3	91,3	95,5	100,0	91,3 (58,6–100,0)
J01D Другие бета-лактамы антибиотико-пенициллины	34,0	33,5	41,0	41,4	35,0	47,6	39,0	39,0 (33,5–47,6)
Цефтриаксон	71,8	65,8	76,8	74,0	72,5	63,5	75,7	72,6 (63,5–76,8)
Цефазолин	8,5	8,3	5,1	4,0	3,5	12,8	4,5	5,1 (3,5–12,8)
Цефотаксим	5,5	7,8	3,1	5,4	5,1	6,3	2,5	5,4 (2,5–7,8)
Цефиксим	4,6	5,4	5,9	6,8	8,1	3,9	8,3	5,9 (3,9–8,3)
Цефдиторен	0,0	0,4	0,3	1,0	1,8	8,1	2,1	1,0 (0,00–8,1)
Бета-лактамы антибиотико-ингибиторами бета-лактамаз	9,5	10,8	10,5	10,9	11,9	7,6	11,7	10,8 (7,6–11,9)
Амоксициллин+клавулановая кислота	88,2	94,6	95,4	96,9	91,9	81,6	93,3	93,3 (81,6–96,9)
J01E Сульфаниламиды и триметоприм	2,1	2,0	1,9	2,2	2,3	1,2	1,5	2,0 (1,2–2,3)
Ко-тримоксазол	85,8	85,7	81,8	85,9	89,6	91,2	98,8	98,9 (81,8–98,8)
Сульфадиметоксин	12,8	12,9	10,6	12,8	9,8	8,4	1,1	10,6 (1,1–12,9)
J01F Макролиды и линкозамиды	14,8	15,0	13,3	13,4	15,5	19,9	18,1	15,0 (13,3–19,9)
Азитромицин	48,2	46,1	44,6	50,4	49,4	79,7	68,7	49,4 (44,6–79,7)
Кларитромицин	23,9	25,3	28,6	27,3	30,2	12,4	20,0	25,3 (12,4–30,2)
Джозамицин	8,4	10,4	10,1	7,8	8,2	3,4	5,5	8,2 (3,4–10,4)
Линкомицин	9,0	8,1	8,0	7,4	7,5	2,7	4,2	7,5 (2,7–9,0)
J01G Аминогликозиды	1,6	2,5	1,4	2,2	2,3	0,8	0,1	1,6 (0,1–2,5)
Гентамицин	19,0	14,1	18,1	13,0	11,1	29,2	72,4	18,1 (11,1–72,4)
Амикацин	51,5	37,9	65,8	86,8	88,5	70,8	27,6	65,8 (27,6–88,5)
J01M Производные хинолона	10,9	11,8	10,9	10,5	11,6	11,7	11,4	11,4 (10,5–11,8)
Ципрофлоксацин	37,1	37,4	37,3	36,1	35,6	21,8	30,4	36,1 (21,8–37,4)
Левифлоксацин	25,9	31,1	33,7	37,1	38,1	59,8	49,6	37,1 (25,9–59,8)
Норфлоксацин	18,3	17,6	15,4	15,2	15,6	7,8	13,0	15,4 (7,8–18,3)
J01X Другие антибактериальные препараты	6,1	6,2	5,4	5,3	7,4	4,4	6,7	6,1 (4,4–7,4)
Метронидазол	96,0	92,8	93,6	91,8	94,8	91,7	92,9	92,9 (91,7–96,0)
Комбинации антибиотиков	4,3	4,9	4,2	4,1	4,3	2,0	3,4	4,2 (2,0–4,9)
Бензатина бензилпенициллин + бензилпенициллин прокаин	37,6	35,3	23,9	33,3	21,1	16,3	18,5	23,9 (16,3–37,6)
Бензатина бензилпенициллин + бензилпенициллин прокаин + бензилпенициллин натрия	18,7	11,7	16,7	13,7	13,3	18,0	13,6	13,7 (11,7–18,7)
Ципрофлоксацин+тинидазол	39,8	44,2	51,6	48,2	57,9	63,5	66,5	51,6 (39,8–66,5)

Примечание: * – для анализа использованы показатели реализованного спроса в упаковках. Для фармакотерапевтических групп указаны доли от общего объема реализованного спроса, для МНН – доля от объема реализованного спроса для конкретной фармакотерапевтической группы; в таблице представлены МНН с наибольшими объемами реализованного спроса внутри каждой фармакотерапевтической группы.

Таблица 2 – Структура потребления противовирусных лекарственных препаратов, назначаемых для лечения респираторных вирусных инфекций, в розничном секторе фармацевтического рынка Самарской области

Противовирусные лекарственные препараты (МНН)	Доля в структуре реализованного спроса, %						
	2015 г.	2016 г.	2017 г.	2018 г.	2019 г.	2020 г.	2021 г.
Занамивир	0,10	0,40	0,20	0,34	0,23	0,19	0,06
Имидазолилэтанамид пентандиовой кислоты	24,97	22,20	22,64	25,63	16,80	15,85	11,96
Инозин ацедобен димепранол	3,49	2,58	2,95	4,63	4,82	2,09	3,23
Осельтамивир	0,71	1,60	2,11	3,23	3,25	17,26	8,04
Римантадин	24,74	25,55	24,69	23,35	20,35	13,34	12,81
Тилорон	10,26	14,10	14,34	14,60	20,56	17,71	17,00
Умифеновир	25,61	26,97	25,70	19,97	17,13	26,79	40,13
Фавипиравир*	–	–	–	–	–	0,44	1,18
Парацетамол + римантадин + аскорбиновая кислота + Лоратадин + рутозид + кальция глюконат	10,11	6,61	7,36	8,23	0,17	6,22	5,52

Примечание: для анализа использованы показатели реализованного спроса в упаковках; * – препараты фавипиравира зарегистрированы в России в 2020 г.

Таблица 3 – Средняя стоимость лечения одной поддерживающей суточной дозы противовирусных лекарственных препаратов в 2019–2020 гг.

МНН	Медиана (минимум-максимум) стоимости 1 DDD, руб. (2019 г.)	Медиана (минимум-максимум) стоимости 1 DDD, руб. (2020 г.)	Медиана (минимум-максимум) стоимости 1 DDD, руб. (2021 г.)	Медиана (минимум-максимум) стоимости 1 DDD при лечении оригинальными препаратами, руб. (на примере 2021 г.)
Занамивир	234,09 (234,09–234,09)	276,33 (256,33–300,10)	280,32 (280,32–280,32)	280,32 (280,32–280,32)
Имидазолилэтанамид пентандиовой кислоты	82,21 (77,34–87,08)	103,38 (85,86–120,70)	102,09 (73,33–122,79)	102,09 (73,33–122,79)
Инозин ацедобен димепранол	192,43 (93,19–417,22)	209,75 (115,25–374,58)	216,98 (145,00–312,09)	247,40 (187,88–245,72)
Осельтамивир	174,88 (133,92–291,74)	202,99 (167,22–288,68)	210,53 (126,46–248,71)	245,38 (242,05–248,71)
Римантадин	11,64 (6,87–255,80)	20,65 (11,32–261,82)	16,92 (7,72–157,55)	–
Тилорон	102,09 (41,66–143,53)	102,26 (51,99–151,42)	92,27 (46,29–134,74)	133,43 (132,12–134,74)
Умифеновир	169,06 (97,77–291,56)	188,25 (99,85–335,25)	238,62 (119,60–384,22)	253,10 (246,88–384,22)
Фавипиравир	–	2073,68 (1795,27–2073,68)	1255,79 (1001,78–2382,38)	–

В 2020–2021 гг. в группе «Макролиды и линкозамиды» отмечено увеличение доли ЛП азитромицина от общего количества отпущенных упаковок этой АТХ-подгруппы, которая составила 79,7% и 68,7% соответственно (по сравнению со средним значением $47,8 \pm 2,4\%$ в 2015–2019 гг.). Спрос на остальные ЛП в рамках этой АТХ-подгруппы оставался на прежнем уровне или незначительно снизился. Согласно документу Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) и отечественным рекомендациям, макролиды должны рассматриваться как препараты второй линии при лечении респираторных инфекций [16].

Группа фторхинолонов рассматривается как АМП резерва и не рекомендована для лечения острых неосложненных инфекций в амбулаторной практике. В нашем исследовании их доля от общего количества

отпущенных упаковок оставалась примерно на том же уровне и в среднем составляла $11,4 \pm 0,5\%$. Среди ЛП АТХ-подгруппы «Производные хинолона» чаще обращались за ЛП ципрофлоксацина, левофлоксацина и норфлоксацина (медианы за период 2015–2021 гг. – 36,1%, 37,1% и 15,4% объема реализованного спроса этой группы соответственно), при этом в 2020–2021 гг. отмечено увеличение спроса на «респираторные» ЛП этой группы: левофлоксацин и моксифлоксацин.

В 2020 г. для АТХ-подгрупп «Другие бета-лактамы антибиотики» количество отпущенных упаковок увеличилось в 3,2 раза, «Макролиды и линкозамиды» – в 3,5 раза, «Производные хинолона» – в 2,6 раза в 2020 г. (по сравнению со средними значениями отпущенных упаковок ЛП этих подгрупп в 2015–2019 гг.). Аналогичный рост

был отмечен для отдельных МНН: цефтриаксон – в 2,9 раза, цефазолин – в 7,5 раза, цефотаксим – в 3,3 раза, цефдиторен – в 33 раза, меропенем – в 90 раз, азитромицин – в 5,8 раза, левофлоксацин – в 4,7 раза, моксифлоксацин – в 7,0 раз. Интерес к цефдиторену, очевидно, обусловлен тем, что он вошел в отечественные клинические рекомендации по лечению внебольничных пневмоний в 2018 г. Количество отпущенных упаковок остальных ЛП находилось примерно на уровне предшествующего периода, соответственно их доля в общей структуре потребления в 2020 г. несколько снизилась.

Для большинства групп и отдельных наименований, рассматриваемых ЛП, отмечено увеличение стоимости 1 DDD в 2020 г. по отношению к 2019 г. Стоимость одной упаковки возросла на 15%, медианная стоимость 1 DDD возросла на 20%. В 2021 г. соответствующие значения по отношению к 2020 г. составили 3,5% и 5,0%.

Противовирусные препараты

Ассортимент противовирусных ЛП, разрешенных к применению для лечения ОРВИ, был представлен 8 из 9 МНН, зарегистрированных в Российской Федерации (кроме балокасира карбоксила, зарегистрированного в сентябре 2020 г.), что соответствует 35 торговым наименованиям. Доля противовирусных ЛП в общей структуре отпущенных упаковок по итогам 2021 г. составила 0,92% (для сравнения в 2018 и 2020 гг. – 0,93 и 1,02% соответственно). В абсолютном выражении (по количеству упаковок) объем потребления противовирусных ЛП в 2020 г. увеличился в 2,38 раза, что превышает среднегодовые колебания потребительского спроса в период, предшествующий началу распространения новой коронавирусной инфекции (увеличение в среднем в 1,15 раз).

Среди противовирусных ЛП наибольшие объемы потребления в натуральном выражении приходились на ЛП имидазолилэтанамида пентадиовой кислоты (медиана 22,2% объема реализованного спроса, диапазон 15,9% – 25,6%), умифеновира (25,7%, 16,7% – 40,1%) и римантадина (23,4%, 12,8% – 25,6%) (табл. 2, рис. 6). В 2020–2021 гг. потребление римантадина закономерно снизилось до 13,3 и 12,8% соответственно, поскольку к показаниям для его применения не относятся ОРВИ, инфицирование SARS-CoV-2, в то же время заболеваемость гриппом в 2020 г., по сравнению с 2019 г., уменьшилась на 25%.

В период распространения новой коронавирусной инфекции (2020 г.) в общей структуре потребления отмечено значительное увеличение доли осельтамивира (до 17,26% по сравнению с 0,71% в 2015 г., 1,60% – в 2016 г., 2,11% – в 2017 г., 3,23% – в 2018 г. и 3,25% – в 2019 г.) и количества отпущенных упаковок (в 23,5 раза по сравнению со средним значением в 2015–2019 гг.). Осельтамивир – ингибитор нейраминидазы, одобренный для лечения гриппа, не имеет документированной активности *in*

vitro против SARS-CoV-2. По-видимому, понимание неэффективности осельтамивира при инфекции, вызванной SARS-CoV-2, и улучшение диагностики привели к снижению в 2021 г. доли осельтамивира от общего объема реализованного спроса до 8,0%.

Кроме того, в 2020 г. возросло количество отпущенных упаковок ЛП имидазолилэтанамида пентадиовой кислоты, тилорона и умифеновира (в 2,2, 3,9 и 3,8 раза соответственно по сравнению со средними значениями в 2015–2019 гг.). Инозин ацедобен димепранол зарегистрирован в более чем 70 странах как противовирусный и иммуномодулирующий препарат, получивший хорошую доказательную базу с 1971 г. Показано, что он подавляет репликацию вируса простого герпеса, цитомегаловируса и вируса Эпштейна-Барр, папилломы человека, вирусов гриппа и ОРВИ [22, 24]. Тем не менее, положительные качества препарата не сказались на частоте его потребления, которое остается одним из самых низких в рассматриваемом сегменте аптечного рынка (табл. 2).

Умифеновир имеет высокий рейтинг продаж в нашем исследовании (табл. 2, рис. 6), поскольку официально рекомендован Минздравом России для применения у пациентов с нетяжелым течением COVID-19, а также у пациентов с признаками ОРВИ и неподтвержденным РНК SARS-CoV-2 [25, 27]. В 2021 г. на долю препаратов умифеновира приходилось 40,1% от общего объема продаж противовирусных ЛП.

Среди противовирусных ЛП, применяемых для лечения ОРВИ, наибольшую стоимость 1 DDD имели ЛП, содержащие фавипиравир – вещество, активное в отношении новой коронавирусной инфекции (по итогам 2021 г. медиана составила 1255,79 руб., диапазон от 1001,78 до 2382,38 руб.).

С учетом того, что в 2019 г. препарат фавипиравир в розничном секторе не был представлен, увеличение стоимости 1 DDD противовирусных препаратов в 2020 г., по отношению к 2019 г., произошло на 43,1% (при этом средняя стоимость одной упаковки возросла на 55,8%). Без учета данного препарата рост средней стоимости 1 DDD составил 9,4% (средняя цена одной упаковки увеличилась на 13,7%). В 2021 г. не выявлено существенных изменений уровня цен по отношению к 2020 г., за исключением препаратов умифеновира, для которых стоимость 1 DDD возросла на 26,8% (табл. 3). Во всех случаях стоимость лечения оригинальными лекарственными препаратами превышала стоимость лечения воспроизведенными препаратами (при наличии их на фармацевтическом рынке).

На рис. 7 и 8 представлена заболеваемость ОРВИ, гриппом, внебольничными пневмониями в 2019 и 2020 гг., а также COVID-19² в 2020 г.

² Информационные материалы Управления Роспотребнадзора Самарской области по эпидемиологической ситуации по заболеваемости ОРВИ и гриппом в Самарской области за период 2019 и 2020 г. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.63.rospotrebnadzor.ru>

Кроме хорошо известной динамики уменьшения заболеваемости в летний период, следует отметить увеличение заболеваемости ОРВИ на 24% в 2020 г. и уменьшение заболеваемости гриппом на 25% по сравнению с 2019 г. Представленные на этих графиках объемы продаж противовирусных ЛП (в натуральном выражении) показывают четко выраженные сезонные колебания с максимальными значениями в осенне-зимне-весенний период, что соответствует периоду наибольшей заболеваемости ОРВИ. Как и следовало ожидать, наименьшие объемы продаж противовирусных лекарственных препаратов на протяжении 2015–2020 гг. отмечены в июле и августе. Следует обратить внимание на то, что объем реализации АМП существенно выше, чем противовирусных препаратов, причем данная тенденция наиболее заметно выражена в 2020 г.

На рис. 9–13 приведена помесечная динамика реализации противовирусных препаратов в 2015–2021 гг. Несмотря на разный спектр препаратов, их динамика потребления совершенно одинакова. Динамика спроса на типичные противогриппозные препараты, осельтамивир и римантадин, полностью соответствует другим противовирусным препаратам и не соотносится с заболеваемостью гриппом среди населения Самарской области. Во всех случаях в 2020–2021 гг. наиболее выраженный всплеск уровня спроса на противовирусные ЛП отмечался в осенний период, однако в 2021 г. он был ниже по сравнению с 2020 г.

Таким образом, зафиксировано значительное увеличение спроса на антибактериальные и противовирусные ЛП в осенний период 2020 г. на фоне роста заболеваемости новой коронавирусной инфекцией.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучены особенности потребления АМП и противовирусных ЛП в розничном секторе фармацевтического рынка Самарской области за период 2015–2021 гг. Установлено, что в структуре потребления значительная доля принадлежит препаратам цефтриаксона, которые предназначены для парентерального применения.

Отмечен рост потребления АМП в 2,12 раз в 2020 г. по сравнению со средними значениями отпущенных упаковок ЛП этих подгрупп в 2015–2019 гг. Для АТХ-подгрупп «Другие β-лактамы», «Макролиды и линкозамиды»,

«Производные хинолона» в 2020 г. этот показатель возрос в 3,2, 3,5 и 2,6 раза соответственно, что имеет неблагоприятные последствия для бактериальной резистентности.

Динамика заболеваемости ОРВИ, COVID-19 и внебольничной пневмонии в 2020 г. во многом имеют похожий паттерн, что, вероятно, больше связано с трудностью распознавания этих форм респираторной инфекции, в основном базирующейся на результатах ПЦР метода выявления РНК SARS-Cov-2. Потребление АМП и противовирусных препаратов тесно связано с заболеваемостью ОРВИ и имеет четкие максимумы в весенний и осенне-зимний периоды. При этом потребление АМП выше, чем противовирусных препаратов. Кумулятивная заболеваемость гриппом в 2020 г. на 25% ниже заболеваемости 2019 г., что может быть объяснено купирующим эффектом санитарных мероприятий во время пандемии COVID-19.

В абсолютном выражении объем потребления противовирусных ЛП в 2020 г. увеличился в 2,38 раз, что сопровождалось увеличением средней стоимости одной упаковки на 55,8%. В начальный период распространения новой коронавирусной инфекции (2020 г.) в общей структуре потребления отмечено значительное увеличение доли осельтамивира (до 17,26% по сравнению с 0,71%, 1,60%, 2,11%, 3,23% и 3,25% в 2015–2019 гг. соответственно) и количества отпущенных упаковок (в 23,5 раза по сравнению со средним значением в 2015–2019 гг.). В 2021 г. возросла доля препаратов умифеновира от общего объема реализованного спроса (до 40,1%).

На наш взгляд, результаты проведенного исследования подтверждают необходимость усиления контроля над реализацией АМП. Другими мерами может являться своевременное информирование медицинских специалистов амбулаторного звена о появлении новых версий методических рекомендаций Минздрава России по лечению новой коронавирусной инфекции. Немаловажное значение приобретает просветительская работа с населением о недопустимости следования ложным алгоритмам терапии COVID-19, периодически появляющихся в свободном доступе в сети Интернет, социальных сетях и мессенджерах, и содержащих в своей схеме информацию о необходимости приема одновременно двух, а порой и трех АМП даже при легком течении новой коронавирусной инфекции.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Данное исследование не имело финансовой поддержки от сторонних организаций.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

И.К. Петрухина, П.А. Лебедев – концепция и дизайн исследования, редактирование, утверждение окончательного варианта статьи; И.И. Сиротко, Е.П. Гладунова – сбор и обработка материала, статистическая обработка данных; Т.К. Рязанова – сбор и обработка материала, написание текста, составление списка литературы; А.А. Гаранин – написание текста, составление списка литературы.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Langford B.J., So M., Raybardhan S., Leung V., Westwood D., MacFadden D.R., Soucy J.R., Daneman N. Bacterial co-infection and secondary infection in patients with COVID-19: a living rapid review and meta-analysis // *Clin. Microbiol. Infect.* – 2020. – Vol. 26, No. 12. – P. 1622–1629. DOI: 10.1016/j.cmi.2020.07.016
- Lansbury L., Lim B., Baskaran V., Lim W.S. Co-infections in people with COVID-19: a systematic review and meta-analysis // *J. Infect.* – 2020. – Vol. 81, No. 2. – P. 266–275. DOI: 10.1016/j.jinf.2020.05.046
- Шишкова В.Н. Возможности современных препаратов в профилактике и лечении ОРВИ и гриппа // *PMЖ.* – 2016. – № 6. – С. 395–400.
- Сидоренко С.В., Яковлев С.В., Спичак Т.В., Суворова М.П., Рафальский В.В., Таточенко В.К., Дронов И.А., Захарова И.Н., Заплатников А.Л., Геппе Н.А., Лобзин Ю.В., Абеуова Б.А., Бояджян Г.Г., Бакрадзе М.Д., Малахов А.Б., Мумладзе Э.Б., Мырзабекова Г.Т., Урсова Н.И. Стратегия и тактика рационального применения антимикробных средств в амбулаторной практике. Евразийские клинические рекомендации // *Consilium Medicum. Педиатрия (Прил.)*. – 2016. – № 4. – С. 10–20.
- Баранов А.А., Богомилский М.Р., Волков И.К., Геппе Н.А., Козлов Р.С., Козлова Л.В., Коровина Н.А., Манеров Ф.К., Мизерницкий Ю.Л., Намазова Л.С., Насонова В.А., Самсыгина Г.А., Сергеева Т.В., Спичак Т.В., Строчунский Л.С., Таточенко В.К., Якушин С.Б. Применение антибиотиков у детей в амбулаторной практике: практические рекомендации // *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. – 2007. – Т. 9, № 3. – С. 200–210.
- Gulliford M.C., Moore M.V., Little P., Hay A.D., Fox R., Prevost A.T., Juszczak D., Charlton J., Ashworth M. Safety of reduced antibiotic prescribing for self limiting respiratory tract infections in primary care: cohort study using electronic health records // *BMJ.* – 2016. – No. 354. – i3410. DOI: 10.1136/bmj.i3410
- Misurski, D.A., Lipson D.A., Changolkar A.K. Inappropriate Antibiotic Prescribing in Managed Care Subjects with Influenza // *Am. J. Manag. Care.* – 2011. – Vol. 17, No. 9. – P. 601–608.
- Godman B., Egwuenu A., Haque M., Malande O.O., Schellack N., Kumar S., Saleem Z., Sneddon J., Hoxha I., Islam S., Mwita J., do Nascimento R.C.R.M., Dias Godói I.P., Niba L.L., Amu A.A., Acolatse J., Incoom R., Sefah I.A., Oranga S., Kurdi A., Chikowe I., Khuluza F., Kibuule D., Ogunleye O.O., Olalekan A., Markovic-Pekovic V., Meyer J.C., Alfadl A., Phuong T.N.T., Kalungia A.C., Campbell S., Pisana A., Wale J., Seaton R.A. Strategies to improve antimicrobial utilization with a special focus on developing countries // *Life.* – 2021. – Vol. 11, No. 6. – Art. No. 528. DOI: 10.3390/life11060528
- Таточенко В.К. Терапия ОРЗ у детей // *PMЖ.* – 2004. – № 21. – С. 1200.
- Strathdee S.A., Davies S.C., Marcelin J.R. Confronting antimicrobial resistance beyond the COVID-19 pandemic and the 2020 US election // *Lancet.* – 2020. – Vol. 396, No. 10257. – P. 1050–1053. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)32063-8
- Rawson T.M., Moore L.S.P., Zhu N., Ranganathan N., Skolimowska K., Gilchrist M., Satta G., Cooke G., Holmes A. Bacterial and Fungal Coinfection in Individuals With Coronavirus: A Rapid Review To Support COVID-19 Antimicrobial Prescribing // *Clin. Infect. Dis.* – 2020. – Vol. 71, No. 9. – P. 2459–2468. DOI: 10.1093/cid/ciaa530
- Crane M.A., Popovic A., Panaparambil R., Stolbach A.I., Romley J.A., Ghanem K.G. Reporting of Infectious Diseases in the United States During the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Pandemic // *Clin. Infect. Dis.* – 2022. – Vol. 74, No. 5. – P. 901–904. DOI: 10.1093/cid/ciab529.
- Козлов Р.С. Резистентность к антимикробным препаратам как реальная угроза национальной безопасности // *PMЖ. Медицинское обозрение.* – 2014. – Т. 22, № 4. – С. 321.
- Волкова Ю.С., Слободенюк Е.В. Антимикробные препараты для системного применения на фармацевтическом рынке г. Хабаровска: фармакоэкономический анализ // *Тихоокеанский медицинский журнал.* – 2014. – № 2. – С. 35–37.
- Яковлев С.В. Новая концепция рационального применения антибиотиков в амбулаторной практике. // *Антибиотики и Химиотерапия.* – 2019. – Т. 64, № 3–4. – С. 48–58. DOI: 10.24411/0235-2990-2019-100017
- Яковлев С.Я., Журавлева М.В., Проценко Д.Н., Белобородов В.Б., Н.И. Брико и др. Программа СКАТ (Стратегия Контроля Антимикробной Терапии) при оказании стационарной медицинской помощи. Методические рекомендации для лечебно-профилактических учреждений Москвы // *Consilium Medicum.* – 2017. – № 19 (7.1. Хирургия). – С. 15–51.
- Liu J.W., Lin S.H., Wang L.C., Chiu H.Y., Lee J.A. Comparison of Antiviral Agents for Seasonal Influenza Outcomes in Healthy Adults and Children: A Systematic Review and Network Meta-analysis // *JAMA Netw. Open.* – 2021. – Vol. 4, No. 8. – Art. ID: e2119151. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2021.19151. Erratum in: *JAMA Netw. Open.* 2021. – Vol. 4, No. 10. – Art. ID: e2133433.
- Selkova E.P., Iakovlev V.N., Semenenko T.A., Filatov N.N., Gotvianskaia T.P., et al. Evaluation of amyxin effect in prophylaxis of acute respiratory viral infections // *Zhur. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* – 2001. – No. 3. – P. 42–46.
- Ekins S., Lane T.R., Madrid P.B. Tilorone: a Broad-Spectrum Antiviral Invented in the USA and Commercialized in Russia and beyond // *Pharm. Res.* – 2020. – Vol. 37, No. 4. – Art. No. 71. DOI: 10.1007/s11095-020-02799-8. Erratum in: *Pharm. Res.* – 2020. – Vol. 37, No. 12. – Art. No. 239.
- Semenenko T.A., Selkova E.P., Nikitina G.Y., Gotvyanskaya T.P., Yudina T.I., Amaryan M.P., Nosik N.N., Turyanov M.H. Immunomodulators in the prevention of acute respiratory viral infections // *Russ. J. Immunol.* – 2002. – Vol. 7, No. 2. – P. 105–114.
- Закиров ИГ. Опыт применения амиксина при лечении и профилактике некоторых вирусных инфекционных заболеваний // *Клиническая медицина (Москва).* – 2002. – Т. 80, № 12. – С. 54–56.
- Ленева И.А., Федякина И.Т., Еропкин М.Ю., Гудова Н.В., Романовская А.А., Даниленко Д.М., Виноградова С.М., Лепешкин А.Ю., Шестопалов А.М. Изучение противовирусной активности отечественных противогриппозных химиопрепаратов в культуре клеток и на модели животных // *Вопросы вирусологии.* – 2010. – № 3. – С. 19–25.
- Sliva J., Pantzartzi C.N., Votava M. Inosine Pranobex: A Key Player in the Game Against a Wide Range of Viral

- Infections and Non-Infectious Diseases // Adv. Ther. – 2019. – Vol. 36, No. 8. – P. 1878-1905. DOI: 10.1007/s12325-019-00995-6
24. Beran J., Šalapová E., Špaždel M.; Isoprinosine Study (EWO ISO-2014/1) Team. Inosine pranobex is safe and effective for the treatment of subjects with confirmed acute respiratory viral infections: analysis and subgroup analysis from a Phase 4, randomised, placebo-controlled, double-blind study // BMC Infect. Dis. – 2016. – Vol. 16, No. 1. – Art. No. 648. DOI: 10.1186/s12879-016-1965-5
25. Ленева И.А., Пшеничная Н.Ю., Булгакова В.А. Умифеновир и коронавирусные инфекции: обзор результатов исследований и опыта применения в клинической практике // Терапевтический Архив. – 2020. – Т. 92, № 11. – С. 91–97. DOI: 10.26442/00403660.2020.11.000713
26. Alavi Darazam I., Shokouhi S., Mardani M., Pourhoseingholi M.A., Rabiei M.M., Hatami F., Shabani M., Moradi O., Gharehbagh F.J., Irvani S.S.N., Amirdosara M., Hajiesmaeili M., Rezaei O., Khoshkar A., Lotfollahi L., Gachkar L., Dehbsneh H.S., Khalili N., Soleymaninia A., Kushi A.H., Shoushtari M.T., Torabinaid P. Umifenovir in hospitalized moderate to severe COVID-19 patients: A randomized clinical trial // Int. Immunopharmacol. – 2021. – Vol. 99. – Art. ID: 107969. DOI: 10.1016/j.intimp.2021.107969

АВТОРЫ

Петрухина Ирина Константиновна – доктор фармацевтических наук, доцент, заместитель директора Института фармации, заведующий кафедрой управления и экономики фармации ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-6207-5575. E-mail: i.k.petrukhina@samsmu.ru

Лебедев Петр Алексеевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой терапии Института профессионального образования ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-3501-2354. E-mail: p.a.lebedev@samsmu.ru

Сиротко Илья Иванович – доктор медицинских наук, профессор кафедры терапии Института профессионального образования ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-8884-7016. E-mail: i.i.sirotko@samsmu.ru

Рязанова Татьяна Константиновна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры управления и экономики фармации ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-4581-8610. E-mail: t.k.ryazanova@samsmu.ru

Гладунова Елена Павловна – доктор фармацевтических наук, доцент, профессор кафедры управления и экономики фармации ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-5198-0393. E-mail: e.p.gladunova@samsmu.ru

Гаранин Андрей Александрович – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры пропедевтической терапии ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-6665-1533. E-mail: a.a.garanin@samsmu.ru

УДК 616.24



ОСОБЕННОСТИ ФАРМАКОКИНЕТИКИ ОЛОКИЗУМАБА У ПАЦИЕНТОВ С НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ COVID-19

Е.В. Тавлуева¹, Е.В. Зернова¹, М.П. Кутепова¹, Н.Э. Костина², В.С. Лесина², Д.Р. Моулд⁴, К. Ито⁴,
А.В. Зинченко³, А.Н. Долгорукова³, М.В. Никольская³, М.С. Лемак³, О.В. Филон³, М.Ю. Самсонов³

¹ Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы

«Городская клиническая больница им. Ф.И. Иноземцева Департамента здравоохранения города Москвы»,
105187, Россия, г. Москва, ул. Фортунатовская, д. 1

² Бюджетное учреждение здравоохранения Воронежской области

«Воронежская областная клиническая больница № 1»,
394066, Россия, г. Воронеж, пр-т Московский, д. 151

³ Акционерное общество «Р-Фарм»,

123154, Россия, г. Москва, ул. Берзарина, д. 19, кор. 1

⁴ Projections Research, Inc.,

19460, США, Пенсильвания, Фениксвилл, Springview Lane, 535

E-mail: mv.nikolskaya@rpharm.ru

Получена 10.09.2022

После рецензирования 15.09.2022

Принята к печати 06.10.2022

Цель. Изучение особенностей фармакокинетики олокизумаба при внутривенном введении у пациентов с COVID-19 среднетяжелого течения для купирования синдрома гипервоспаления.

Материалы и методы. Изучение фармакокинетики проводилось в рамках клинического исследования III фазы (исследование RESET, NCT05187793) эффективности и безопасности нового режима применения олокизумаба (внутривенно, в дозах 128 мг или 256 мг) у пациентов с COVID-19. Определение концентрации олокизумаба в плазме крови проводили методом иммуноферментного анализа. Популяционный анализ выполнен с помощью ранее разработанной фармакокинетической модели на основе линейной двухкамерной модели.

Результаты. В анализ фармакокинетики были включены данные 8 пациентов с COVID-19 среднетяжелого течения, получавшие олокизумаб в дозе 128 мг внутривенно. Согласно результатам анализа в данной популяции наблюдалось увеличение клиренса препарата, по сравнению с данными, полученными у здоровых добровольцев и пациентов с ревматоидным артритом: 0,435, 0,178 и 0,147 л/сут, соответственно. Анализ параметров в рамках популяционной фармакокинетической модели показал, что основными факторами повышенного клиренса олокизумаба являются высокий индекс массы тела. Кроме того, независимым фактором повышения клиренса препарата является само наличие COVID-19.

Заключение. У пациентов со среднетяжелым течением COVID-19 после внутривенного введения олокизумаба наблюдается увеличение клиренса препарата на фоне течения заболевания. Основной вклад в повышенный клиренс вносят особенности популяции пациентов с COVID-19, связанные с риском тяжелого течения заболевания и выраженным воспалением. При внутривенном введении в дозе 128 мг терапевтически значимый уровень олокизумаба сохранялся в течение всей острой фазы заболевания на протяжении 28 дней.

Ключевые слова: COVID-19; олокизумаб; клиренс; фармакокинетическая модель

Список сокращений: ИЛ – интерлейкины; УПТ – упреждающая противовоспалительная терапия; Ig – иммуноглобулины; ФК – фармакокинетика; РА – ревматоидный артрит; RESET – гипервоспаление; СРБ – С-реактивный белок; КТ – компьютерная томография; ЧДД – частота дыхательных движений; АЛТ – аланинаминотрансфераза; АСТ – аспартатаминотрансфераза; ВГН – верхняя граница нормы; ИМТ – индекс массы тела; ИФА – иммуноферментный анализ; $T_{1/2}$ – период полувыведения; AUC_{0-t} – площадь под фармакокинетической кривой «концентрация-время» от нуля до последнего отбора крови; K_{el} – константа элиминации; $AUC_{0-\infty}$ – площадь под фармакокинетической кривой «концентрация-время», начиная с нулевого значения времени, экстраполированная до бесконечности; CL – клиренс; T_{max} – время достижения максимальной концентрации олокизумаба в плазме крови; C_{max} – максимальная концентрация олокизумаба в плазме крови; MRT – среднее резидентное время.

Для цитирования: Е.В. Тавлуева, Е.В. Зернова, М.П. Кутепова, Н.Э. Костина, В.С. Лесина, Д.Р. Моулд, К. Ито, А.В. Зинченко, А.Н. Долгорукова, М.В. Никольская, М.С. Лемак, О.В. Филон, М.Ю. Самсонов. Особенности фармакокинетики олокизумаба у пациентов с новой коронавирусной инфекцией COVID-19. *Фармация и фармакология*. 2022;10(5):460-471. DOI: 10.19163/2307-9266-2022-10-5-460-471

© Е.В. Тавлуева, Е.В. Зернова, М.П. Кутепова, Н.Э. Костина, В.С. Лесина, Д.Р. Моулд, К. Ито, А.В. Зинченко, А.Н. Долгорукова, М.В. Никольская, М.С. Лемак, О.В. Филон, М.Ю. Самсонов, 2022

For citation: E.V. Tavlueva, E.V. Zernova, M.P. Kutepova, N.E. Kostina, V.S. Lesina, D.R. Mould, K. Ito, A.V. Zinchenko, A.N. Dolgorukova, M.V. Nikolskaya, M.C. Lemak, O.V. Filon, M.Yu. Samsonov. Characteristics of olokizumab pharmacokinetics in patients with novel coronavirus infection COVID-19. *Pharmacy & Pharmacology*. 2022;10(5):460-471. DOI: 10.19163/2307-9266-2022-10-5-460-471

CHARACTERISTICS OF OLOKIZUMAB PHARMACOKINETICS IN PATIENTS WITH NOVEL CORONAVIRUS INFECTION COVID-19

E.V. Tavlueva¹, E.V. Zernova¹, M.P. Kutepova¹, N.E. Kostina², V.S. Lesina², D.R. Mould⁴, K. Ito⁴, A.V. Zinchenko³, A.N. Dolgorukova³, M.V. Nikolskaya³, M.C. Lemak³, O.V. Filon³, M.Yu. Samsonov³

¹ Inozemtsev Municipal Clinical Hospital,
1, Fortunatovskaya St., Moscow, Russia, 105187
² Voronezh Regional Clinical Hospital No. 1,
151, Moskovsky Ave., Voronezh, Russia, 394066
³ Joint Stock Company "R-Pharm",
Bld. 1, 19, Berzarin St., Moscow, Russia, 123154
⁴ Projections Research, Inc,
535, Springview Lane, Phoenixville, PA, USA, 19460

E-mail: mv.nikolskaya@rpharm.ru

Received 10 Sep 2022

After peer review 15 Sep 2022

Accepted 06 Okt 2022

The aim of the article is to study pharmacokinetic characteristics of intravenous olokizumab in patients with moderate COVID-19 to relieve a hyperinflammation syndrome.

Materials and methods. The pharmacokinetic study was conducted as a part of a phase III clinical study (RESET, NCT05187793) on the efficacy and safety of a new olokizumab regimen (intravenous, at the doses of 128 mg or 256 mg) in COVID-19 patients. Plasma concentrations of olokizumab were determined by the enzyme immunoassay. The population analysis was performed using a previously developed pharmacokinetic model based on a linear two compartment.

Results. The pharmacokinetic analysis included the data from 8 moderate COVID-19 patients who had been administrated with olokizumab intravenously at the dose of 128 mg. According to the analysis results in this population, there was an increase in the drug clearance, compared with the data obtained in healthy volunteers and the patients with rheumatoid arthritis: 0.435, 0.178 and 0.147 l/day, respectively. The parameters analysis within the framework of a population pharmacokinetic model showed that the main factors for the increased olokizumab clearance are a high body mass index. In addition, the presence of COVID-19 itself is an independent factor in increasing the drug clearance.

Conclusion. After the intravenous olokizumab administration, an increase in the drug clearance is observed in moderate COVID-19 patients against the background of the disease course. The main contribution to the increased clearance is made by the characteristics of the population of COVID-19 patients associated with the risk of a severe disease and inflammation. When administered intravenously at the dose of 128 mg, a therapeutically significant olokizumab level was maintained throughout the acute disease phase for 28 days.

Keywords: COVID-19; olokizumab; clearance; pharmacokinetic model

Abbreviations: IL(s) – interleukins; PAIT – proactive anti-inflammatory therapy; Ig(s) – immunoglobulins; PK – pharmacokinetics; RA – rheumatoid arthritis; RESET – hyperinflammation; CRP – C-reactive protein; CT – computer tomography; RR – respiratory rate; ALT – alanine aminotransferase; AST – aspartate aminotransferase; ULN – upper limit of normal; BMI – body mass index; ELISA – enzyme-linked immunosorbent assay; $T_{1/2}$ – half-life; AUC_{0-t} – area under the concentration-time pharmacokinetic curve from zero to the last blood draw; K_{el} – elimination constant; $AUC_{0-\infty}$ – area under the concentration-time curve from time zero to infinity; CL – clearance; T_{max} – time to reach the maximum concentration of olokizumab in blood plasma; C_{max} – maximum concentration of olokizumab in blood plasma; MRT – Mean Resident Time.

ВВЕДЕНИЕ

В декабре 2019 года в городе Ухань (Китай) произошла крупная вспышка заболевания, вызванного новым коронавирусом (SARS-CoV-2), поражающая нижние дыхательные пути [1].

Большая часть пациентов переносит заболевание в легкой форме (по типу острой респираторной вирусной инфекции), однако инфекция может переходить в форму острого респираторного дистресс-синдрома. При этом происходит быстрая репликация вируса, бурное высвобождение провоспалительных цитокинов на фоне образования воспалительных инфильтратов

в паренхиме легких и эндотелии легочных сосудов, поражение альвеол, микротромбоз сосудов и т.д. Наблюдается картина системного гипервоспаления с повышением уровней цитокинов группы интерлейкинов (ИЛ), таких как ИЛ-1 β , ИЛ-1Ra, ИЛ-6 и рецептора к ИЛ-2. Прогрессирующее развитие системного патологического воспаления в результате приводит к выраженному нарастанию тяжести течения заболевания и развитию полиорганного повреждения [2–4].

Применение упреждающей противовоспалительной терапии (УПТ) в сочетании с активной антикоагулянтной терапией в настоящее время

является стандартом лечения, согласно Временным методическим рекомендациям (ВМР) Минздрава России «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)»¹. В качестве УПТ могут использоваться, в том числе, моноклональные антитела – блокаторы рецепторов ИЛ-6, ИЛ-6, ИЛ-1.

Олокизумаб (Артлегиа®) представляет собой гуманизированное моноклональное антитело изотипа иммуноглобулина (Ig) G4/каппа, способное специфически связываться с молекулой ИЛ-6. Препарат имеет уникальный механизм действия, поскольку связывает непосредственно ИЛ-6 и, таким образом, блокирует патологический каскад воспалительных реакций. Этим он отличается от тоцилизумаба, сарилумаба и левилимаба, которые являются антагонистами рецептора ИЛ-6 [5–7]. Благодаря высокому сродству к ИЛ-6 и способу воздействия (ингибирование взаимодействия между ИЛ-6 и гликопротеином gp130), фармакодинамические эффекты олокизумаба реализуются при его применении в более низких дозах [8, 9].

Олокизумаб исходно был разработан в качестве препарата для лечения ревматоидного артрита (РА) и успешно прошёл полноценную программу клинической разработки, включавшую исследования II фазы [10] с участием 380 пациентов, и исследования III фазы с участием 2443 пациентов (CREDO 1², CREDO 2³, CREDO 3⁴ и CREDO 4⁵), а также постмаркетинговые исследования [11]. Согласно данным проведенных исследований, рекомендованная доза олокизумаба при РА составляет 64 мг один раз в 2 или 4 недели при подкожном введении. В случае патогенетической терапии синдрома высвобождения цитокинов при новой коронавирусной инфекции (COVID-19) – 64 мг подкожно однократно.

¹ Временные методические рекомендации Минздрава России «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19), версия 16 от 18.08.2022. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://static-0.minzdrav.gov.ru>

² Рандомизированное, двойное слепое, плацебо-контролируемое, многоцентровое исследование фазы III, проводимое в параллельных группах, для оценки эффективности и безопасности олокизумаба у пациентов со среднетяжелым или тяжелым ревматоидным артритом, недостаточно контролируемым терапией метотрексатом (CREDO 1). – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://grrbase.ru/clinicaltrials/clintrail/2763>

³ Evaluation of the Efficacy and Safety of Two Dosing Regimens of Olokizumab (OK2), Compared to Placebo and Adalimumab, in Subjects With Rheumatoid Arthritis (RA) Who Are Taking Methotrexate But Have Active Disease (CREDO 2). – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02760407>

⁴ Evaluation of the Efficacy and Safety of Two Dosing Regimens of Olokizumab (OK2), Compared to Placebo, in Subjects With Rheumatoid Arthritis (RA) Who Were Taking an Existing Medication Called a Tumour Necrosis Factor Alpha Inhibitor But Had Active Disease (CREDO 3). – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02760433>

⁵ Efficacy and Safety of Olokizumab in Subjects With Moderately to Severely Active Rheumatoid Arthritis (CREDO 4). – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03120949>

В последующем действии олокизумаба было изучено у пациентов с COVID-19. Применение олокизумаба в составе комплексной терапии COVID-19 выявило ряд особенностей фармакокинетики препарата в данной популяции, по сравнению со здоровыми добровольцами и пациентами с РА. В целом популяция пациентов, в которой олокизумаб назначался в качестве УПТ, характеризуется рядом трендов в отношении как демографических данных, так и лабораторных показателей. В частности, известным влиянием на фармакокинетику лекарственных препаратов обладает индекс массы тела, а точнее избыточная масса тела, которая, в свою очередь, является фактором риска тяжелого течения COVID-19. При COVID-19 наблюдается типичная картина отклонений в биохимическом анализе крови: повышение уровня маркеров воспаления, изменение уровня фракций белка, отражающие течение и выраженность воспалительного процесса, который также влияет на фармакокинетику лекарственных препаратов.

ЦЕЛЬ. Изучение особенностей фармакокинетики олокизумаба при внутривенном введении у пациентов с COVID-19 среднетяжелого течения для купирования синдрома гипервоспаления.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования

В настоящий момент согласно ВМР (версия 16 от 18.08.2022), внутривенное введение олокизумаба входит в рекомендованные стандарты терапии COVID-19. Оценка фармакокинетики препарата при внутривенном введении у пациентов с COVID-19 была проведена в рамках многоцентрового открытого рандомизированного исследования III фазы, целью которого было изучение эффективности и безопасности нового режима применения олокизумаба (в дозах 128 и 256 мг соответственно при внутривенном введении) у пациентов с COVID-19 с признаками гипервоспаления (RESET). Рандомизация пациентов в исследовании была центральной и производилась с помощью электронной системы. Пациенты рандомизировались в 2 группы в соотношении 1:1 в группу терапии олокизумабом (группа 1) и группу сравнения (группа 2). С целью равномерного распределения пациентов по группам терапии осуществлялась стратификация по следующим критериям:

- по необходимости кислородной поддержки на скрининге (есть / нет),
- наличие сопутствующего заболевания, являющегося фактором риска тяжелого течения COVID-19 (нет факторов риска или есть один и более фактор риска).

Таким образом, в результате стратификации пациенты в группах будут равнозначны по наличию

дыхательной недостаточности и факторам риска тяжелого течения COVID-19.

Критерии отбора в исследование

Исследование RESET проводилось с одобрения Совета по этике департамента регулирования обращения лекарственных средств Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол заседания № 273 от 20.04.2021), локальных этических комитетов БУЗ ВО ВОКБ № 1 (протокол № 117 от 22.07.2021) и ГБУЗ «ГКБ им. Ф.И. Иноземцева ДЗМ» (протокол № 11 от 28.05.2021). Результаты исследования фармакокинетики в подгруппе пациентов с COVID-19, в сравнении с данными предыдущих исследований у здоровых добровольцев и пациентов с РА представлены в настоящей работе. В исследование включали госпитализированных пациентов с подтвержденной коронавирусной инфекцией среднетяжелого течения с признаками гипервоспаления, в возрасте старше 18 лет.

Основными критериями включения были среднетяжелое течение COVID-19: пневмония по данным компьютерной томографии (КТ) и температура тела $>38^{\circ}\text{C}$, в сочетании с 1 или более признаками, включающими уровень сатурации (SpO_2) $<95\%$, частоту дыхательных движений (ЧДД) >22 , одышку при физической нагрузке, уровень С-реактивного белка (СРБ) >10 мг/л; наличие одного из факторов риска (сахарного диабета, тяжелой сердечно-сосудистой патологии, хронической почечной недостаточности, онкологической патологии, ожирения или возраст ≥ 65 лет); наличие признаков гипервоспаления (температура тела $\geq 38^{\circ}\text{C}$ в течение 2-х дней и более, в сочетании с 1 или более признаками: уровень СРБ >3 верхней граница нормы (ВГН), число лейкоцитов – $2,0\text{--}3,5 \times 10^9/\text{л}$, абсолютное число лимфоцитов – $1,0\text{--}1,5 \times 10^9/\text{л}$).

Основными критериями невключения были: тяжелое или крайне тяжелое течение COVID-19, наличие выраженных лабораторных отклонений (гемоглобин <80 г/л, абсолютное число нейтрофилов $<0,5 \times 10^9/\text{л}$, число лейкоцитов $<2,0 \times 10^9/\text{л}$, число тромбоцитов $<50 \times 10^9/\text{л}$, аланинаминотрансфераза (АЛТ) $\geq 3,0 \times \text{ВГН}$ и/или аспартатаминотрансфераза (АСТ) $\geq 3,0 \times \text{ВГН}$), клиренс креатинина <30 мл/мин., подтвержденный сепсис патогенами, отличными от COVID-19, высокая вероятность прогрессирования заболевания до смертельного исхода в течение следующих 24 часов.

Критерии отбора в подгруппу фармакокинетики

В подгруппу исследования фармакокинетики (ФК) включали пациентов с индексом массы тела (ИМТ) в диапазоне $18,5\text{--}35,0$ кг/м², которые подписали дополнительную форму добровольного информированного согласия на включение в

исследование ФК. Всего в подгруппу ФК было включено 9 пациентов. Эти пациенты получали препарат Артлегиа® (МНН: олокизумаб), раствор для подкожного введения, 160 мг/мл, в виде внутривенной 60-минутной инфузии, в дозе 128 мг (8 пациентов получили 1 введение препарата в дозе 128 мг), 1 пациент, получивший 2 введения препарата в дозе 256 мг, не был включен в статистический анализ. 1 пациент получил 2 введения препарата, в общей сложности в дозе 256 мг.

Помимо олокизумаба пациенты в качестве стандартной противовоспалительной терапии получали барицитиниб (4 мг/1 раз в сутки, в течение 7 дней) и низкие дозы глюкокортикостероидов (дексаметазон в дозах 4–20 мг/сутки в/в или в/м или метилпреднизолон в дозе 1 мг/кг введение внутривенно каждые 12 ч), а также этиотропную терапию COVID-19 (фавипиравир или ремдесивир), препараты симптоматической и антикоагулянтной терапии.

У пациентов, включенных в подгруппу оценки ФК, отбор биообразцов крови для исследования концентраций олокизумаба осуществлялся по следующей схеме: до начала инфузии, далее через 2, 4, 8, 24, 48 и 72 ч; затем каждый день, начиная с 4 по 10 сут; в завершении на 14 и 28 сут после первого введения препарата (т.е. от момента начала инфузии). После отбора биообразцы плазмы замораживались и хранились при температуре не выше -65°C .

Для анализа биообразцов был разработан биоаналитический метод на основе иммуноферментного анализа (ИФА). В основе метода лежит взаимодействие олокизумаба с ИЛ-6, связанным с иммобилизованными на поверхности планшета козьими антителами к человеческому ИЛ-6. Метод был валидирован в интервале концентраций $2,5\text{--}100$ мкг/мл.

Статистический анализ

В исследовании определены основные фармакокинетические параметры олокизумаба. Для оценки возможного влияния различных факторов на клиренс олокизумаба, полученные результаты были объединены с ранее созданной базой данных клинических исследований олокизумаба 1 и 2 фазы, включающей данные анализа фармакокинетических образцов 30 здоровых добровольцев и 30 пациентов с РА, получивших однократную внутривенную инъекцию олокизумаба в различных концентрациях [12].

Описание фармакокинетики олокизумаба было выполнено с помощью линейной двухкамерной модели с кинетикой абсорбции и элиминации первого порядка. Параметризация модели включала такие фармакокинетические параметры, как клиренс (CL), объем распределения (V), константу скорости

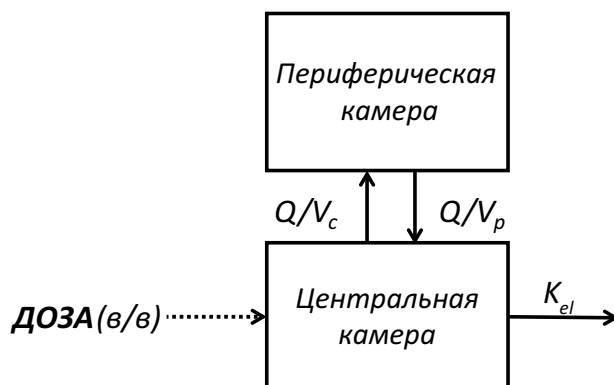


Рисунок 1 – Схема линейной двухкамерной модели для описания фармакокинетики олокизумаба
 Примечание: Q/V_c , Q/V_p – скоростные константы обмена между камерами; K_{el} – константа скорости элиминации.

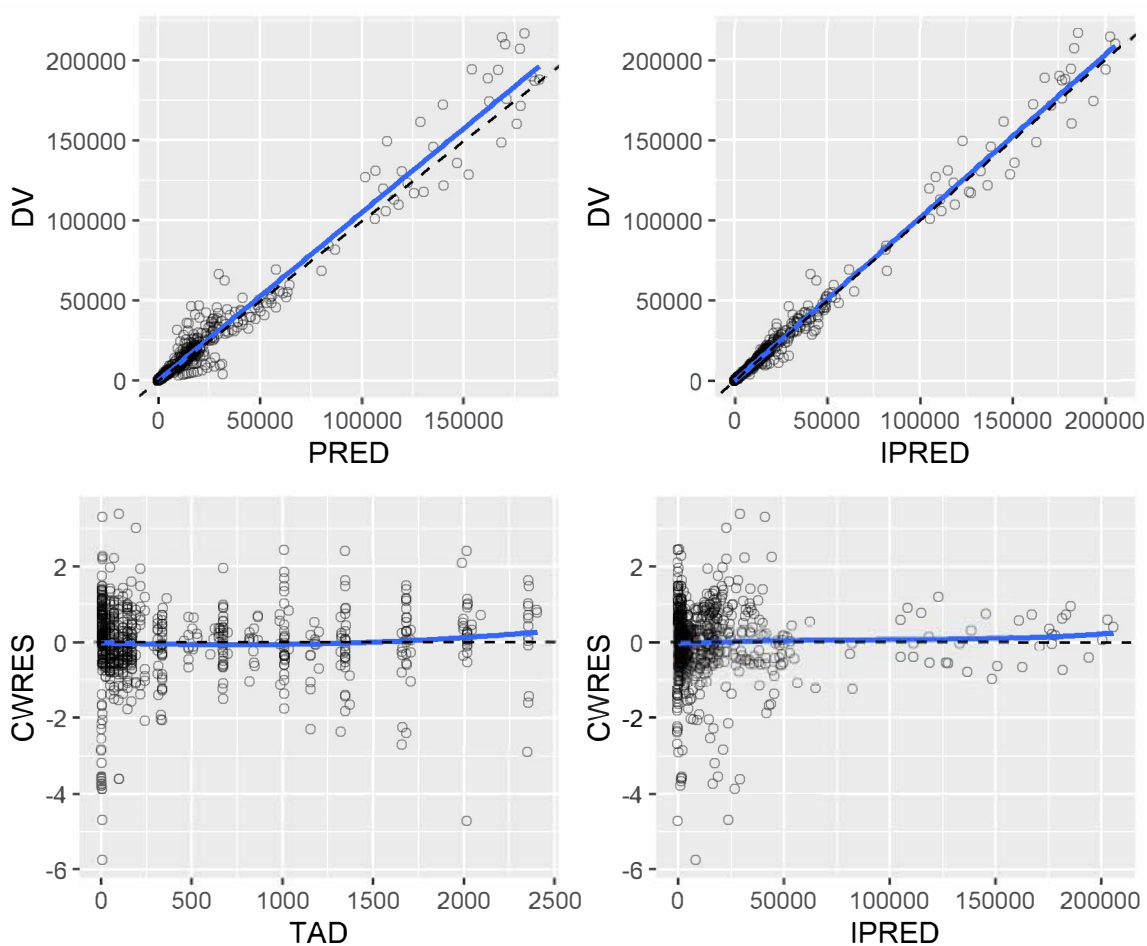


Рисунок 2 – Графический анализ критериев соответствия финальной модели

Примечание: DV – зависимая переменная; PRED – предсказанные значения; IPRED – индивидуальные предсказанные значения; TAD – время после введения последней дозы; CWRES – условные взвешенные остатки, рассчитанные с использованием алгоритма FOCI.

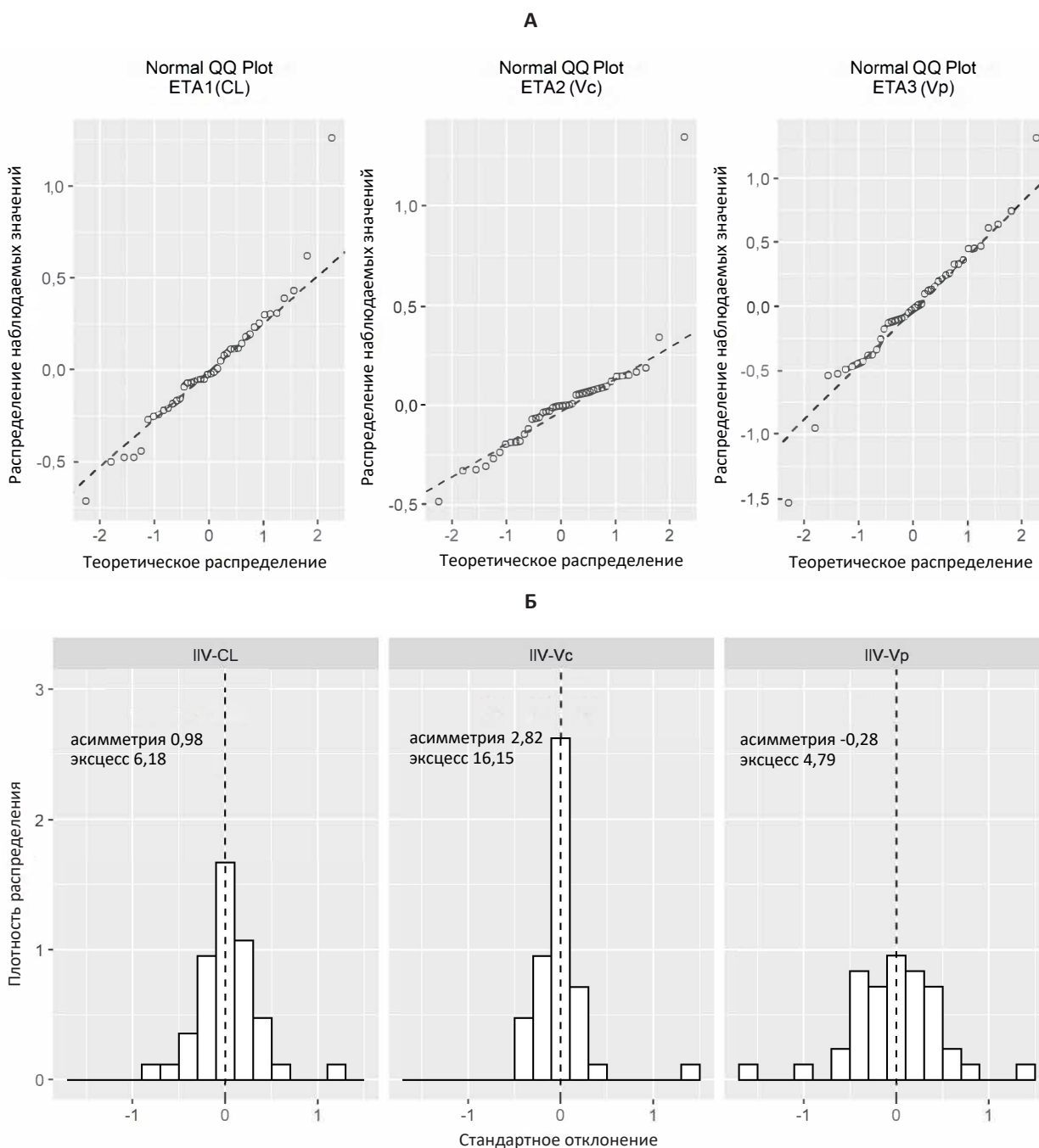


Рисунок 3 – Проверка распределения показателей межличудидуальной вариабельности на соответствие нормальному распределению

Примечание: ETA = η ; IIV – межличудидуальная вариабельность; CL – клиренс; Vc – обьем центральной камеры; Vp – обьем периферической камеры; Normal QQ Plot – график квантиль-квантиль для оценки нормальности распределения.

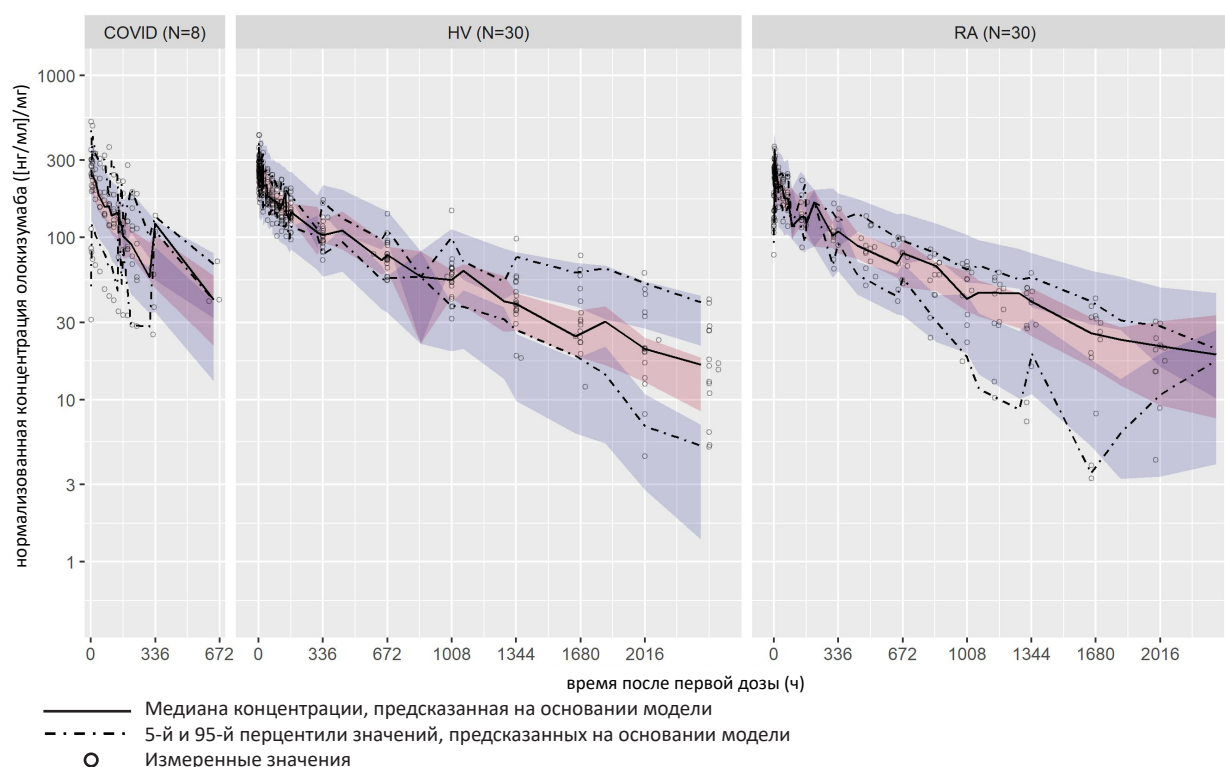


Рисунок 4 – Графическое представление наблюдаемых и предсказанных фармакокинетических профилей олоказумаба для пациентов с COVID-19, здоровых добровольцев и пациентов с РА

Примечание: Область, отмеченная розовым цветом – границы 95% доверительного интервала для оценки медианы; области, отмеченные серым цветом – границы 95% доверительного интервала для оценки 5-го и 95-го перцентилей.

Таблица 1 – Индивидуальные фармакокинетические параметры олоказумаба и средние значения

ФК параметр	Здоровые добровольцы [15] 1 мг/кг (76 мг) в/в, n = 3 ¹	Пациенты с РА [16] 1 мг/кг (75 мг) в/в, n = 7	Пациенты с COVID-19 (RESET) 128 мг, в/в n = 8
C_{max} (мкг/мл)			
Среднее (±CO)	21,4 (±0,842)	22,28 (±3,9)	40,20 (±18,06)
Ср. геометр (КВ%)	–	21,98 (17,53)	35,69 (44,93)
T_{max} (ч)			
Медиана	4,00	2,00	6,00
Н. Кв. В. Кв.	2,03–4,00	2,0–14,0	2,0–18,0
Ср. геометр (КВ%)	–	4,49 (123,26)	7,44 (159,72)
AUC_{0-t} (ч·мкг/мл)			
Среднее (±CO)	9427 (±524)	7001,58 (±1259,89)	7802,19 (±4005,29)
Ср. геометр (КВ%)	–	6911,9 (17,99)	6855,77 (51,34)
AUC_{0-∞} (ч·мкг/мл)			
Среднее (±CO)	10435 (±1266)	13979,67 (±3267,86)	13117,51 (±9777,32)
Ср. геометр (КВ%)	–	13633,52 (23,38%)	10600,21 (74,54)
T_{1/2} (дней)			
Среднее (±CO)	27,9 (±12)	30,66 (±14,2)	13,8 (±10,86)
Ср. геометр (КВ%)	–	28,13 (46,31)	10,35 (78,65)
CL, л/сут			
Среднее (±CO)	0,177 (±0,020)	0,145 (±0,03)	0,349 (±0,214)
Ср. геометр (КВ%)	–	0,143 (20,372)	0,289 (61,275)
Vd, л			
Среднее (±CO)	7,08 (±3,04)	6,29 (±2,97)	5,26 (±4,56)
Ср. геометр (КВ%)	–	5,79 (47,23)	4,33 (86,81)

Примечания: CO – стандартное отклонение; КВ% – коэффициент вариальности; Н. Кв. – нижний квартиль (25%); В. Кв. – верхний квартиль (75%); в/в – внутривенно; макс. – максимум; мин. – минимум; n – количество пациентов; CL – клиренс; Vd – объем распределения; 1 – в таблицу сравнения включены только данные добровольцев, получивших олоказумаб в дозе 1 мг/кг внутривенно. Всего в исследованиях 1 фазы приняли участие 87 добровольцев, 67 в европейской популяции (RA0001), 20 в азиатской (японской) популяции (RA0074).

Таблица 2 – Средние фармакокинетические параметры олокизумаба в общей популяции пациентов с РА и COVID-19

Параметр	Финальная модель			RSD (%)
		Значение	η -сжатие	
CL (л/сут)	θ_1	0,154	–	6,8
Vс (л)	θ_2	4,1	–	5,6
Q (л/сут)	θ_3	0,348	–	16,3
Vp (л)	θ_4	1,67	–	12,2
Остаточная ошибка – частое взятие образцов	θ_7	0,167	5,9	–
IIV CL (CV%)	η_1	34,2	2,2	–
IIV Vc (CV%)	η_2	27,3	2,6	–
IIV Vp (CV%)	η_3	56,7	16,0	–
Корреляция случайных эффектов				
IIV CL – IIV Vc	CORR _{1,2}	0,651	–	–
IIV CL – IIV Vp	CORR _{1,3}	0,110	–	–
IIV Vc – IIV Vp	CORR _{2,3}	0,512	–	–

Примечание: RSD – относительное стандартное отклонение; CL – общий клиренс; Vc, Vp – объем распределения центральный, периферический соответственно; Q/Vc, Q/Vp – скоростные константы обмена между камерами; IIV(CV%) – межиндивидуальная вариабельность (коэффициент вариации); θ – параметр с фиксированной величиной; η – параметр вариабельности, заданный величиной с нормальным распределением; CORR – показатель корреляции между случайными эффектами.

Таблица 3 – Эффекты индивидуальных характеристик пациентов

Ковариаты	Финальная модель		
		Значение	RSD (%)
Влияние массы тела на CL и Q	θ_8	0,654	57,3
Влияние массы тела на Vc и Vp	θ_{14}	0,498	60,0
Влияние заболевания COVID-19 на CL	θ_{16}	0,965	23,4

Примечание: θ – параметр с фиксированной величиной; RSD – относительная стандартная ошибка; Q – межкомпарментный клиренс; CL – общий клиренс; Vc, Vp – объем распределения центральный, периферический соответственно.

элиминации (K_{el}) и скоростные константы обмена между камерами (Q/Vc, Q/Vp) (рис. 1).

В финальную модель был включен параметр межиндивидуальной вариабельности (IIV) для параметров объема распределения центральной (Vc) и периферической камер (Vp). Также оценивалась IIV клиренса олокизумаба. Оценивалось влияние следующих ковариат: возраст, пол, масса тела, уровень альбумина в сыворотке крови, уровень печеночных ферментов, билирубина, клиренс креатинина. Поскольку в исследовании CL04041094 не собирались данные об уровне альбумина у участников, для целей моделирования отсутствующие индивидуальные уровни альбумина были восстановлены по следующей формуле ($ALB = -0,4714 \times CPB + 50,714$) на основании литературных данных [13].

Адекватность модели была проверена с помощью диагностических графиков для оценки соответствия критериям согласия и используемых допущений, были получены удовлетворительные значения сжатия η , выполнен графический анализ соответствия предсказаниям модели (Visual Predictive Check). Также оценивалась стабильность модели, асимметрия и эксцесс распределения η [13, 14].

Популяционные значения фармакокинетических параметров олокизумаба оценивались с помощью алгоритма проверки условия первого порядка

(FOCE) в программном обеспечении NONMEM 7.4. Построение диагностических графиков, поисковый анализ и постобработка выходных данных NONMEM выполнялись с использованием программного обеспечения R version 3.5.3. Анализ проводился в соответствии с методическими рекомендациями по популяционной фармакокинетике FDA⁶ и EMEA⁷.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Средний возраст пациентов составлял 56,4 ($\pm 10,0$) лет [от 45 до 74 лет], большинство были пациенты мужского пола (87,5%), средняя масса тела пациентов составляла 87,0 ($\pm 15,1$) кг, а ИМТ – 26,8 ($\pm 3,4$). Все пациенты были европеоидной расы. У пяти пациентов забор биообразцов был произведен во всех запланированных точках, у 2-х – отбор был закончен в точке 366 часов и у одного в точке 240 часов (выбытие по причине летального исхода).

Значения ФК-параметров, рассчитанные методом некомпартментного анализа, из отчетов о соответствующих клинических исследованиях представлены в таблице 1, в сравнении с результатами предыдущих исследований у здоровых

⁶ U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Center for Biologics Evaluation and Research (CBER) Guidance for Industry: Population Pharmacokinetics., February 2022.

⁷ EMEA report. Guideline on Reporting the Results of Population Pharmacokinetic Analyses, 2007.

добровольцев и пациентов с РА. После введения препарат достаточно быстро распределялся: C_{\max} в исследованной популяции достигалось достаточно быстро и составляло около 36 мкг/мл, медиана T_{\max} составляла 6 часов. Далее концентрация снижалась в течение всего последующего периода наблюдения. Несмотря на более быстрое снижение концентрации по сравнению с внутривенным введением олокизумаба в дозе 1 мг/кг (в среднем 75 мг) пациентам с РА [16], у 7 из 8 пациентов через 7 дней после введения концентрация олокизумаба в плазме превышала 10 мкг/мл, у 5 из 7 пациентов через 14 дней концентрация была выше 5 мкг/мл. Средний $T_{1/2}$ при этом составил около 13,8 дней, что значительно ниже, чем при в/в введении здоровым добровольцам (27,9 дней) и пациентам с РА (30,66 дней).

Анализ влияния индивидуальных характеристик на клиренс олокизумаба

Графический анализ критериев согласия и визуальная оценка соответствия предсказаниям модели продемонстрировали удовлетворительную способность выбранной популяционной фармакокинетической модели для описания плазменных концентраций олокизумаба (Рис. 2–4).

Средние фармакокинетические параметры олокизумаба в общей популяции пациентов с РА и COVID-19, определенные на основании разработанной популяционной фармакокинетической модели, в целом соответствовали полученным ранее индивидуальным фармакокинетическим показателям в популяции РА (клиренс 0,153 л/сут против 0,147 л/сут)⁸.

Анализ ковариат продемонстрировал, что наибольшее влияние на скорость выведения препарата оказывает масса тела (табл. 3). После коррекции по уровню альбумина и массе тела было обнаружено, что заболевание COVID-19 является независимым значимым фактором, повышающим клиренс олокизумаба на 96,5% (θ_{16}).

ОБСУЖДЕНИЕ

Пиковая концентрация при внутривенном введении у пациентов с COVID-19 составила около 36 мкг/мл и соответствовала полученным ранее данным у здоровых добровольцев и пациентов с РА, однако, только у двоих пациентов T_{\max} превысило 8 часов. Таким образом, в целом время достижения пиковой концентрации было сопоставимо во всех исследованных популяциях, наблюдаемые различия могут быть связаны с различиями в скорости и технике выполнения внутривенной инфузии препарата в разных исследованиях. Хотя скорость элиминации и

объем распределения олокизумаба практически не различались у здоровых добровольцев и пациентов с РА, у пациентов со среднетяжелым течением COVID-19 наблюдался значительно более быстрый клиренс препарата. Медиана $T_{1/2}$ у пациентов с COVID-19 составила около 6 дней по сравнению с приблизительно 30 днями у здоровых добровольцев и пациентов с РА. Для более детального анализа ранее разработанная по результатам исследований внутривенного введения олокизумаба у здоровых добровольцев и пациентов с РА популяционная фармакокинетическая модель была адаптирована для оценки влияния индивидуальных характеристик пациентов на клиренс препарата у пациентов с COVID-19. Было показано, что повышение массы тела ассоциировано с увеличением скорости клиренса и объема распределения олокизумаба. Повышенная масса тела является фактором риска тяжелого течения COVID-19 [23, 24], в связи с чем такие пациенты чаще госпитализируются и непропорционально часто представлены в исследуемых популяциях. Медиана массы тела у пациентов в когорте пациентов с COVID-19 была выше по сравнению с пациентами с РА и здоровыми добровольцами (92, 78 и 76 кг соответственно). Таким образом, более быстрый клиренс олокизумаба у пациентов с COVID-19 может частично объясняться более высокой частотой гипоальбуминемии и большей массой тела пациентов. Заболевание COVID-19 также было независимо ассоциировано с повышением клиренса олокизумаба, что может быть обусловлено ускорением метаболизма белков при инфекционных и воспалительных заболеваниях [25], одним из маркеров которого может служить сниженный уровень альбумина. Гипоальбуминемия является характерной чертой заболевания COVID-19: она наблюдается у 30–50% госпитализированных пациентов и играет роль независимого предиктора тяжелого течения заболевания и смерти [17–22], тогда как у здоровых добровольцев и пациентов с РА средние уровни альбумина не различаются.

Сопоставимое по величине повышение клиренса было продемонстрировано ранее для другого ингибитора сигнального пути ИЛ-6, тоцилизумаба, у пациентов с тяжелым течением COVID-19 [21]. В обзоре Leung E. и соавт. (2022), описано 2 пути элиминации моноклональных антител. Первый путь, обеспечивающий линейный клиренс, связан с протеолитическим катаболизмом препаратов после введения. Второй путь включает специфическое связывание лиганд – рецептор (например, рецептор ИЛ-6 и тоцилизумаб) как с растворимыми, так и с мембраносвязанными мишенями с последующей интернализацией и внутриклеточной деградацией. Этот процесс обеспечивает нелинейный клиренс и зависит от относительной экспрессии мишени. Следовательно, на этот механизм могут влиять

⁸ Инструкция по применению препарата Артлегиа®. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://artlegia.com/#close>

специфические для пациента факторы, такие как тип и тяжесть заболевания. При этом линейная часть клиренса тоцилизумаба, по-видимому, в некоторой степени зависит от массы тела.

Как было показано в исследовании Moes D.J.A.R. и соавт. (2021), у пациентов с тяжелым течением COVID-19 оценка клиренса (CL) составляла 0,725 л/сут и была выше, чем оценка у взрослых пациентов с РА (0,2–0,3 л/сут), детей с системным ювенильным идиопатическим артритом (0,17 л/сут), детей и взрослых с CAR T-индуцированным синдромом высвобождения цитокинов (0,5 л/сут) [26]. Сходные тенденции демонстрирует и соотношение клиренса олокизумаба у пациентов со среднетяжелым течением COVID-19 (0,349 л/сут) и пациентов с РА (0,145 л/сут). Однако необходимо принять во внимание, что в исследовании не показана целесообразность расчета дозы тоцилизумаба по массе тела пациентов, использование фиксированных доз является предпочтительным. С учетом этих данных необходимо с осторожностью подходить к трактовке результатов настоящего исследования популяционной фармакокинетики олокизумаба. Так до получения дополнительных данных о фармакокинетики у пациентов с

COVID-19, пересмотр режима дозирования олокизумаба в данной популяции представляется необоснованным.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У пациентов со среднетяжелым течением COVID-19 после внутривенного введения олокизумаба было продемонстрировано увеличение клиренса на фоне течения заболевания по сравнению с ранее изучавшимися популяциями здоровых добровольцев и пациентов с РА. Основной вклад в повышенный клиренс олокизумаба вносят особенности популяции пациентов с COVID-19, связанные с риском тяжелого течения заболевания (избыточный вес) и влияние ускоренного метаболизма белков вследствие выраженного воспаления, характеризующееся гипоальбуминемией. При этом также наблюдался вклад не выявленных факторов повышенного клиренса, ассоциированных с заболеванием COVID-19, и, вероятно, обусловленных взаимодействием механизма действия олокизумаба и патогенеза COVID-19. Тем не менее, при внутривенном введении в дозе 128 мг терапевтически значимый уровень олокизумаба сохранялся в течение всей острой фазы (28 дней) заболевания.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнялась при финансировании группы компаний АО «Р-Фарм».

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Клиническое исследование было организовано спонсором АО «Р-Фарм». АО «Р-Фарм» является производителем и владельцем регистрационного удостоверения препарата Артлегиа® (олокизумаб) от 21.05.2020. Авторы статьи А.В. Зинченко, А.Н. Долгорукова, М.В. Никольская, М.С. Лемак, О.В. Филон, М.Ю. Самсонов являются сотрудниками компании АО «Р-Фарм». Авторы статьи Е.В. Тавлуева, Е.В. Зернова, М.П. Кутепова, Н.Э. Костина, В.С. Лесина являются врачами исследователями научных центров БУЗ ВО ВОКБ №1 (центр № 03) и ГБУЗ «ГКБ им. Ф.И. Иноземцева ДЗМ» (центр № 04) по протоколу «Многоцентровое открытое рандомизированное исследование эффективности и безопасности нового режима применения препарата Артлегиа® (МНН: олокизумаб) у пациентов с коронавирусной инфекцией (COVID-19) с признаками гипервоспаления», спонсируемому АО «Р-Фарм».

ВКЛАД АВТОРОВ

Е.В. Тавлуева, Е.В. Зернова, М.П. Кутепова, Н.Э. Костина, В.С. Лесина – выполнение экспериментальной части исследования; Д.Р. Моулд, К. Ито – разработка популяционной фармакокинетической модели; А.В. Зинченко – аналитическая обработка полученных результатов; А.Н. Долгорукова – статистическая обработка результатов исследования; М.В. Никольская – написание и редактирование текста; М.С. Лемак – планирование и описание фармакокинетической модели, написание и редактирование текста; О.В. Филон – разработка дизайна исследования, написание и редактирование текста; М.Ю. Самсонов – постановка цели, разработка дизайна исследования.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Zhou P., Yang X.L., Wang X.G., Hu B., Zhang L., Zhang W., Si H.R., Zhu Y., Li B., Huang C.L., Chen H.D., Chen J., Luo Y., Guo H., Jiang R.D., Liu M.Q., Chen Y., Shen X.R., Wang X., Zheng X.S., Zhao K., Chen Q.J., Deng F., Liu L.L., Yan B., Zhan F.X., Wang Y.Y., Xiao G.F., Shi Z.L. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin // *Nature*. – 2020. – Vol. 579, No. 7798. – P. 270–273. DOI: 10.1038/s41586-020-2012-7
2. Zhou J., He W., Liang J., Wang L., Yu X., Bao M., Liu H. Association of Interleukin-6 Levels with Morbidity and Mortality in Patients with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) // *Jpn J. Infect. Dis.* – 2021. – Vol. 74, No. 4. – P. 293–298. DOI: 10.7883/yoken.JJID.2020.463
3. Luo K., Chen Y., Yang J., Tao Q., Luo M. Liver Injury and Elevated Levels of Interleukins, Interleukin-2 Receptor, and Interleukin-6 Predict the Severity in Patients With COVID-19 // *Front. Public.*

- Health. – 2021. – Vol. 9. – Art. ID: 778340. DOI: 10.3389/fpubh.2021.778340
4. Kim J.S., Lee J.Y., Yang J.W., Lee K.H., Effenberger M., Szpirt W., Kronbichler A., Shin J.I. Immunopathogenesis and treatment of cytokine storm in COVID-19 // *Theranostics*. – 2021. – Vol. 11, No. 1. – P. 316–329. DOI: 10.7150/thno.49713
 5. Yu S.Y., Koh D.H., Choi M., Ryoo S., Huh K., Yeom J.S., Yoon Y.K. Clinical efficacy and safety of interleukin-6 receptor antagonists (tocilizumab and sarilumab) in patients with COVID-19: a systematic review and meta-analysis // *Emerg. Microbes. Infect.* – 2022. – Vol. 11, No. 1. – P. 1154–1165. DOI: 10.1080/22221751.2022.2059405
 6. Raimondo M.G., Biggoggero M., Crotti C., Becciolini A., Favalli E.G. Profile of sarilumab and its potential in the treatment of rheumatoid arthritis // *Drug. Des. Devel. Ther.* – 2017. – Vol. 11. – P. 1593–1603. DOI: 10.2147/DDDT.S100302
 7. Sebba A. Tocilizumab: the first interleukin-6-receptor inhibitor // *Am. J. Health. Syst. Pharm.* – 2008. – Vol. 65, No. 15. – P. 1413–1418. DOI: 10.2146/ajhp070449
 8. Shaw S., Bourne T., Meier C., Carrington B., Gelinis R., Henry A., Popplewell A., Adams R., Baker T., Rapecki S., Marshall D., Moore A., Neale H., Lawson A. Discovery and characterization of olokizumab: a humanized antibody targeting interleukin-6 and neutralizing gp130-signaling // *MAbs*. – 2014. – Vol. 6, No. 3. – P. 774–782. DOI: 10.4161/mabs.28612
 9. Nasonov E., Fatenejad S., Feist E., Ivanova M., Korneva E., Krechikova D.G., Maslyanskiy A.L., Samsonov M., Stoilov R., Zonova E.V., Genovese M. Olokizumab, a monoclonal antibody against interleukin 6, in combination with methotrexate in patients with rheumatoid arthritis inadequately controlled by methotrexate: efficacy and safety results of a randomised controlled phase III study // *Ann. Rheum. Dis.* – 2022. – Vol. 81, Issue 4. – P. 469–479. DOI: 10.1136/annrheumdis-2021-219876
 10. Genovese M.C., Fleischmann R., Furst D., Janssen N., Carter J., Dasgupta B., Bryson J., Duncan B., Zhu W., Pitzalis C., Durez P., Kretsos K. Efficacy and safety of olokizumab in patients with rheumatoid arthritis with an inadequate response to TNF inhibitor therapy: outcomes of a randomised Phase IIb study // *Ann. Rheum. Dis.* – 2014. – Vol. 73, No. 9. – P. 1607–1615. DOI: 10.1136/annrheumdis-2013-204760
 11. Mikhaylenko D.S., Kuznetsova E.B., Musatova V.V., Bure I.V., Deryagina T.A., Alekseeva E.A., Tarasov V.V., Zamyatnin A.A. Jr., Nemtsova M.V. Genetic and Clinical Factors Associated with Olokizumab Treatment in Russian Patients with Rheumatoid Arthritis // *J. Pers. Med.* – 2022. – Vol. 12, No. 4. – Art. ID: 641. DOI: 10.3390/jpm12040641
 12. Sheiner L.B., Beal S.L. Some suggestions for measuring predictive performance // *J. Pharmacokinet. Biopharm.* – 1981. – Vol. 9, No. 4. – P. 503–512.
 13. Karlsson M.O., Savic R.M. Diagnosing model diagnostics // *Clin. Pharmacol. Ther.* – 2007. – Vol. 82, No. 1. – P. 17–20. DOI: 10.1038/sj.cpt.6100241
 14. Post T.M., Freijer J.I., Ploeger B.A., Danhof M. Extensions to the Visual Predictive Check to facilitate model performance evaluation // *J. Pharmacokinet. Pharmacodyn.* – 2008. – Vol. 35, No. 2. – P. 185–202. DOI: 10.1007/s10928-007-9081-1
 15. Kretsos K., Golor G., Jullion A., Hickling M., McCabe S., Shaw S., Jose J., Oliver R. Safety and pharmacokinetics of olokizumab, an anti-IL-6 monoclonal antibody, administered to healthy male volunteers: A randomized phase I study // *Clin. Pharmacol. Drug. Dev.* – 2014. – Vol. 3, No. 5. – P. 388–395. DOI: 10.1002/cpdd.121
 16. Fleischmann R., Kivitz A.J., Wagner F., Feinstein J.A., Fuhr U., Rech J., Sidhu J., Hill P.L., Oliver R., Kretsos K. A Pilot Study Investigating the Tolerability and Pharmacodynamic Effect of Single Intravenous/Subcutaneous Doses of Olokizumab, an Anti-Interleukin-6 Monoclonal Antibody, in Patients with Rheumatoid Arthritis // *Arthritis and Rheumatism*. – 2012. – Vol. 64, No. 10. – P. 576–577.
 17. Chowdhury A.I., Alam M.R., Rabbi M.F., Rahman T., Reza S. Does higher body mass index increase COVID-19 severity? A systematic review and meta-analysis // *Obesity medicine*. – 2021. – Vol. 23. – Art. ID: 100340. DOI: 10.1016/j.obmed.2021.100340
 18. Ryman J.T., Meibohm B. Pharmacokinetics of monoclonal antibodies // *CPT Pharmacometrics. Syst. Pharmacol.* – 2017. – Vol. 6. – P. 576–588. DOI: 10.1002/psp4.12224
 19. Moes D.J.A.R., van Westerloo D.J., Arend S.M., Swen J.J., de Vries A., Guchelaar H.J., Joosten S.A., de Boer M.G.J., van Gelder T., van Paassen J. Towards Fixed Dosing of Tocilizumab in ICU-Admitted COVID-19 Patients: Results of an Observational Population Pharmacokinetic and Descriptive Pharmacodynamic Study // *Clin. Pharmacokinet.* – 2022. – Vol. 61. – P. 231–247. DOI: 10.1007/s40262-021-01074-2
 20. Huang J., Cheng A., Kumar R., Fang Y., Chen G., Zhu Y., Lin S. Hypoalbuminemia predicts the outcome of COVID-19 independent of age and comorbidity // *J. Med. Virol.* – 2020. – Vol. 92. – P. 2152–2158. DOI: 10.1002/jmv.26003
 21. Zekri-Nechar K., Zamorano-León J.J., Segura-Fragoso A., Alcaide J.R., Reche C., Andrés-Castillo A., Martínez-Martínez C.H., Giner M., Jiménez-García R., López-de-Andrés A., Navarro-Cuellar C., García-Fernández M.A., López-Farré A. Albumin Binds COVID-19 Spike 1 Subunit and Predicts In-Hospital Survival of Infected Patients – Possible Alteration by Glucose // *J. Clin. Med.* – 2022. – Vol. 11, No. 3. – Art. ID: 587. DOI: 10.3390/jcm11030587
 22. Turcato G., Zabolli A., Kostic I., Melchiorretto B., Ciccariello L., Zaccaria E., Olivato A., Maccagnani A., Pfeifer N., Bonora A. Severity of SARS-CoV-2 infection and albumin levels recorded at the first emergency department evaluation: a multicentre retrospective observational study // *Emerg. Med. J.* – 2022. – Vol. 39. – P. 63–69. DOI: 10.1136/emered-2020-210081
 23. Xu Y., Yang H., Wang J., Li X., Xue C., Niu C., Liao P. Serum Albumin Levels are a Predictor of COVID-19 Patient Prognosis: Evidence from a Single Cohort in Chongqing, China // *Int. J. Gen. Med.* – 2021. – Vol. 14. – P. 2785–2797. DOI: 10.2147/IJGM.S312521
 24. Viana-Llamas M.C., Arroyo-Espliguero R., Silva-Obregón J.A., Uribe-Heredia G., Núñez-Gil I., García-Magallón B., Torán-Martínez C.G., Castillo-Sandoval A., Díaz-Caraballo E., Rodríguez-Guinea I., Domínguez-López J. Hypoalbuminemia on admission in COVID-19 infection: An early predictor of mortality and adverse events. A retrospective observational study // *Medicina Clínica*. – 2021. – Vol. 156, Issue 9. – P. 428–436. DOI: 10.1016/j.medcli.2020.12.018
 25. Pietri L., Giorgic R., Bégub A., Ljouub M., Koubid M., Cauchoisad R., Grangeotb R., Duboisb N., Kaplanskid G., Valéroab R., Béliardab S. Excess body weight is an independent risk factor for severe forms of COVID-19 // *Metabolism*. – 2021. – Vol. 117. – Art. ID: 154703. DOI: 10.1016/j.metabol.2021.154703
 26. Leung E., Crass R.L., Jorgensen S.C.J., Raybardhan S., Langford B.J., Moore W.J., Rhodes N.J. Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Considerations of Alternate Dosing Strategies of Tocilizumab in COVID-19. *Clin. Pharmacokinet.* – 2022. – Vol. 61. – P. 155–165. DOI: 10.1007/s40262-021-01092-0

АВТОРЫ

Тавлуева Евгения Валерьевна – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник отдела патогенетических аспектов старения ФГБУ «НМИЦ ТМП» Минздрава России; руководитель регионального сосудистого центра ГБУЗ «Городская клиническая больница им. Ф.И. Иноземцева ДЗМ». ORCID ID: 0000-0002-6796-212X. E-mail: tavlev1@mail.ru

Зернова Евгения Викторовна – заместитель главного врача по терапевтической помощи, ГБУЗ «ГКБ им Ф.И. Иноземцева». ORCID ID: 0000-0003-4565-6743. E-mail: evgenya.gor@mail.ru

Кутепова Марина Павловна – врач-терапевт ГБУЗ «ГКБ им Ф. И. Иноземцева». ORCID ID: 0000-0002-9283-9721. E-mail: kutepovam@mail.ru

Костина Наталья Эдуардовна – заведующая отделением пульмонологии, БУЗ ВО Воронежская областная клиническая больница №1. ORCID ID: 0000-0002-5128-5005. E-mail: nata166k@yahoo.com

Лесина Виктория Сергеевна – врач-пульмонолог, БУЗ ВО Воронежская областная клиническая больница №1. ORCID ID: 0000-0001-8231-6591. E-mail: vita252007@yandex.ru

Моулд Диана Р. – Ph.D., президент Projections

Research, Inc. ORCID ID: 0000-0002-8908-0136. E-mail: drmould@pri-home.net

Ито Каори – Ph.D.-MBA, научный консультант в Projections Research, Inc. E-mail: kaori.ito@appliedpmx.com

Зинченко Аркадий Владимирович – руководитель направления исследования биоаналогов, АО «Р-Фарм». ORCID ID: 0000-0001-8148-5086. E-mail: a.zinchenko@rpharm.ru

Долгорукова Антонина Николаевна – биостатистик, АО «Р-Фарм». ORCID ID: 0000-0003-4189-7910. E-mail: an.dolgorukova@gmail.com

Никольская Мария Викторовна – руководитель отдела медицинской документации, АО «Р-Фарм». ORCID ID: 0000-0001-6716-0357. E-mail: mv.nikolskaya@rpharm.ru

Лемак Мария Степановна – научный советник АО «Р-Фарм». ORCID ID: 0000-0003-4793-7477. E-mail: lemak@rpharm.ru

Филон Ольга Владимировна – директор департамента АО «Р-Фарм». ORCID ID: 0000-0002-8735-7429. E-mail: ov.filon@rpharm.ru

Самсонов Михаил Юрьевич – кандидат медицинских наук, доцент, медицинский директор, АО «Р-Фарм». ORCID ID: 0000-0003-2685-1623. E-mail: samsonov@rpharm.ru

УДК 001.891.53:577.112.85



ГЕМОСТИМУЛИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА КОНЪЮГАТОВ ГРАНУЛОЦИТАРНО-МАКРОФАГАЛЬНОГО КОЛОНИЕСТИМУЛИРУЮЩЕГО ФАКТОРА С АЛЕНДРОНОВОЙ КИСЛОТОЙ

Г.Г. Шими́на, А.В. Батенева, Е.С. Цыпленкова, С.Г. Гамалей,
Т.И. Есина, Е.А. Волосникова, Е.Д. Даниленко

Институт медицинской биотехнологии федерального бюджетного учреждения науки
«Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека,
633004, Россия, г. Бердск, ул. Химзаводская, д. 9

E-mail: shimina_gg@vector.nsc.ru

Получена 04.08.2022

После рецензирования 20.10.2022

Принята к печати 30.10.2022

Цель. Оценка гемостимулирующей активности конъюгатов рекомбинантного гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора человека (рчГМ-КСФ) с алендроновой кислотой (АЛН) на модели цитостатической миелосупрессии и динамики накопления рчГМ-КСФ в составе конъюгата в костной ткани и костном мозге мышей.

Материалы и методы. В работе использовали конъюгаты, полученные методом твердофазного синтеза с помощью 1-этил-3-[3-диметиламинопропил]карбодиимида или реакции периодатного окисления. Гемостимулирующую активность оценивали на модели цитостатической миелосупрессии, вызванной введением мышам SW620/Calas циклофосфана. Препараты рчГМ-КСФ вводили подкожно в течение 4–5 дней в дозе 90 мкг/кг. По окончании курса инъекций в образцах крови подсчитывали общее количество лейкоцитов, сегментоядерных нейтрофилов, в образцах костного мозга – общее число кариоцитов. Оценку распределения препаратов рчГМ-КСФ по тканям проводили на аутобредных мышах CD-1 после однократного внутривенного введения в эффективной дозе. Содержание рчГМ-КСФ в крови, ткани бедренной кости и костном мозге определяли иммуноферментным методом.

Результаты. Показано, что конъюгаты рчГМ-КСФ с АЛН сохраняли присущую исходному белку способность повышать число лейкоцитов, сегментоядерных нейтрофилов крови и кариоцитов костного мозга. Стимуляция продукции нейтрофилов под действием конъюгатов наблюдалась в более ранние сроки, чем в случае рчГМ-КСФ. Увеличение общего числа клеток костного мозга после введения всех трех конъюгатов было более выраженным по сравнению с исходным белком (на 34%). Повышенный гемостимулирующий эффект конъюгата АЕГ сопровождался более интенсивным накоплением рчГМ-КСФ в костной ткани и костном мозге мышей. Введенный в состав конъюгата рчГМ-КСФ обнаруживался в костной ткани в течение 24 ч и более длительно циркулировал в кровеносном русле по сравнению с исходным белком.

Заключение. Полученные данные позволяют сделать вывод о перспективности дальнейших работ по созданию эффективных гемостимулирующих препаратов на основе конъюгатов рчГМ-КСФ с АЛН.

Ключевые слова: рекомбинантный гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор человека; алендроновая кислота; конъюгат; гемостимулирующая активность; накопление в костной ткани и костном мозге

Список сокращений: АЛН – алендроновая кислота; ГМ-КСФ – гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор; рчГМ-КСФ – рекомбинантный гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор человека; ГАП – гидроксилпатит; EDC – 1-этил-3-[3-диметиламинопропил] карбодиимид; ЦФ – циклофосфан; ИФА – иммуноферментный анализ; ОКК – общее количество кариоцитов.

Для цитирования: Г.Г. Шими́на, А.В. Батенева, Е.С. Цыпленкова, С.Г. Гамалей, Т.И. Есина, Е.А. Волосникова, Е.Д. Даниленко. Гемостимулирующие свойства конъюгатов гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора с алендроновой кислотой. *Фармация и фармакология*. 2022;10(5):472-482. DOI: 10.19163/2307-9266-2022-10-5-472-482

© Г.Г. Шими́на, А.В. Батенева, Е.С. Цыпленкова, С.Г. Гамалей, Т.И. Есина, Е.А. Волосникова, Е.Д. Даниленко, 2022

For citation: G.G. Shimina, A.V. Bateneva, E.S. Tsyplenkova, S.G. Gamaley, T.I. Esina, E.A. Volosnikova, E.D. Danilenko. Hemostimulating properties of the conjugates of granulocyte-macrophage colony stimulating factor with alendronic acid. *Pharmacy & Pharmacology*. 2022;10(5): 472-482. DOI: 10.19163/2307-9266-2022-10-5-472-482

HEMOSTIMULATING PROPERTIES OF THE CONJUGATES OF GRANULOCYTE-MACROPHAGE COLONY STIMULATING FACTOR WITH ALENDRONIC ACID

G.G. Shimina, A.V. Bateneva, E.S. Tsyplenkova, S.G. Gamaley,
T.I. Esina, E.A. Volosnikova, E.D. Danilenko

Institute of Medical Biotechnology of State Research Center of Virology and Biotechnology "VECTOR",
Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-being,
9, Khimzavodskaya St., Berdsk, Russia, 633004

E-mail: shimina_gg@vector.nsc.ru

Received 04 Aug 2022

After peer review 20 Oct 2022

Accepted 30 Oct 2022

The aim of the work is to evaluate the hemostimulating activity of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (rhGM-CSF) conjugates with alendronic acid (ALN) in the model of cytostatic myelosuppression and the dynamics of rhGM-CSF accumulation as a part of the conjugate in the bone tissue and bone marrow of mice.

Materials and methods. The conjugates obtained by a solid-phase synthesis using 1-ethyl-3-[3-dimethylaminopropyl] carbodiimide or periodate oxidation, were used. A hemostimulating activity was evaluated in a model of a cytostatic myelosuppression induced by the administration of cyclophosphamide to CBA/Calac mice. RhGM-CSF preparations were injected subcutaneously for 4-5 days at the dose of 90 µg/kg. After the injections cycle had been completed, the total leukocyte and segmented neutrophil counts were carried out in the blood samples, and the total karyocyte count was carried out in the bone marrow samples.

The tissue distribution of rhGM-CSF preparations was assessed in outbred CD-1 mice after a single intravenous administration at the effective dose. The content of rhGM-CSF in blood, femoral tissue and bone marrow was determined by enzyme immunoassay.

Results. RhGM-CSF conjugates with ALN have been shown to retain the ability of the original protein to increase the number of leukocytes, segmented blood neutrophils, and bone marrow karyocytes under the action of conjugates. The stimulation of the neutrophil production used to be observed at earlier times than in the case of rhGM-CSF. The increase in the total number of bone marrow cells after the introduction of all three conjugates was more pronounced compared to the original protein (by 34%). The increased hemostimulatory effect of the AEG conjugate was accompanied by a more intense accumulation of rhGM-CSF in the bone tissue and bone marrow of mice. The rhGM-CSF introduced into the conjugate was detected in the bone tissue for 24 h and it circulated in the bloodstream for a longer time compared to the original protein.

Conclusion. The data obtained make it possible to conclude that further work on the development of effective hemostimulating drugs based on rhGM-CSF conjugates with ALN, is promising.

Keywords: recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor; alendronic acid; conjugate; hemostimulating activity; accumulation in bone tissue and bone marrow.

Abbreviations: ALN – alendronic acid; GM-CSF – granulocyte-macrophage colony-stimulating factor; rhGM-CSF – recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor; HAP – hydroxylapatite; EDC – 1-ethyl-3-[3-dimethylaminopropyl] carbodiimide; CP – cyclophosphan; ELISA – electronic intelligence search and analysis; TKC – total karyocyte count.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность поиска новых средств и способов лечения нейтропений различной этиологии, возникающих, в частности, в результате химио- и радиотерапии онкологических больных, чрезвычайно высока. Индуцированные химиотерапией нарушения гемопоэза и прежде всего, подавление продукции лейкоцитов, в ряде случаев становятся основными показателями для прерывания лечения, несмотря на отчетливый онколитический эффект терапии [1].

Природный белок-цитокин – гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ), который регулирует пролиферацию и дифференцировку стволовых клеток с образованием колоний нейтрофильных, эозинофильных лейкоцитов и макрофагов [2–4]. Способность ГМ-

КСФ усиливать гемопоэз послужила основанием для разработки и введения в клиническую практику лекарственных препаратов на его основе, Leukine и Leucostax (США), для снижения побочных эффектов противоопухолевой терапии, усиления устойчивости к инфекциям, при трансплантации костного мозга. Однако, несмотря на высокий уровень безопасности препаратов ГМ-КСФ, их применение приводит к развитию побочных реакций, таких как лихорадка, озноб, летаргия, миалгия, костные боли, повышение температуры, колебания массы тела, генерализованный кожный зуд, покраснение и эритематозная реакция вокруг места подкожной инъекции [5–8]. В связи с этим, несомненный интерес представляет усовершенствование препаратов ГМ-КСФ в части повышения их тропности к тканям-

мишеням, снижения терапевтической дозы и, как следствие, побочных эффектов лечения.

В литературных источниках описаны примеры использования различных векторных молекул для адресной доставки иммунорегуляторных лигандов, в частности, цитокинов [9–11]. В качестве средств доставки биологически активных веществ в костную ткань и костный мозг используют бисфосфонаты, отличающиеся высоким сродством к ионам кальция и способностью к быстрому накоплению в кости [12–17]. Одним из методических приемов при получении таргетных лекарственных средств на основе бисфосфонатов является их конъюгирование с лекарственными веществами [12, 13].

Принимая во внимание все вышесказанное, нами были получены конъюгаты человеческого фактора некроза опухоли альфа с аминокислотой аллендроновой кислотой (АЛН), которые продемонстрировали способность накапливаться в очагах костного метастазирования опухоли, проявляя тем самым противоопухолевую активность [18, 19]. Эти данные стали основанием для использования АЛН в качестве векторной молекулы для доставки к клеткам костного мозга рекомбинантного гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора человека (рЧГМ-КСФ).

В ИМБТ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора разработана технология получения рЧГМ-КСФ в прокариотической системе экспрессии (рекомбинантный штамм *E. coli* SG20050/p280_2GM) [20], а также способы конъюгирования рЧГМ-КСФ с АЛН с использованием разных типов сшивающих агентов [21]. Показано, что полученные конъюгаты обладают повышенным, по сравнению с рЧГМ-КСФ, сродством к гидроксилатапиту – аналогу минерального матрикса костной ткани. Оценка специфической активности конъюгатов *in vitro* подтвердила сохранность биологической активности рЧГМ-КСФ в их составе [21].

ЦЕЛЬ. Оценка гемостимулирующей активности конъюгатов рЧГМ-КСФ с аллендроновой кислотой на модели цитостатической миелосупрессии, а также изучение динамики накопления рЧГМ-КСФ в составе конъюгата в костной ткани и костном мозге мышей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследуемые препараты

Экспериментальные препараты представляли собой конъюгаты рЧГМ-КСФ с АЛН, полученные описанными способами [21]. Ключевым моментом в процессе синтеза был выбор условий, позволяющих минимизировать конформационные изменения молекул белка с целью сохранения его биологической активности. Для этого использовались эквимольные количества белка рЧГМ-КСФ и

АЛН. В качестве сшивающего агента был выбран 1-этил-3-[3-диметиламинопропил]карбодиимид (EDC); декстран с молекулярной массой 40000 Да, активированный периодатом, применяли в качестве линкера. Конъюгацию с помощью EDC осуществляли двумя способами: методом прямой (рЧГМ-КСФ → EDC → АЛН) и обратной (АЛН → EDC → рЧГМ-КСФ) последовательности нанесения компонентов на твердую фазу (сорбент гидроксилатапит, ГАП). При конъюгировании методом прямой последовательности хроматографическую колонку с ГАП уравнивали 2 мМ калий-фосфатным буфером, pH 7,0. На уравниваемую колонку наносили раствор белка рЧГМ-КСФ, после сорбции которого также на колонку подавали раствор EDC. Выход раствора из колонки перекрывали на 2 ч для связывания компонентов, затем колонку промывали 2 мМ калий-фосфатным буфером (pH 7,0) и наносили раствор АЛН. Для освобождения от несвязавшихся компонентов колонку повторно промывали фосфатным буфером. Элюцию полученного конъюгата с колонки проводили 0,2 М калий-фосфатным буфером, pH 7,0. Синтезированный конъюгат переводили в физиологический раствор диализом.

При использовании декстрана в качестве линкера при конъюгировании его вносили в раствор, содержащий периодат натрия, с целью образования реакционноспособных альдегидных групп в соотношении 1:40 (моль/моль), перемешивали и инкубировали при 20°C в течение часа. Активированный декстран отделяли гелефильтрацией на колонке с сефадексом G-25. В раствор декстрана вносили растворы белка и АЛН в эквимольных соотношениях: на 1 моль декстрана 1 моль белка и 1 моль АЛН. Полученную смесь инкубировали 3 ч при 20°C. Для удаления непрореагировавших компонентов проводили гелефильтрацию на колонке с сефадексом G-25. Синтезированный конъюгат переводили в физиологический раствор диализом.

Были получены конъюгаты трех типов:

1 – GEA – конъюгат рЧГМ-КСФ с АЛН, полученный с помощью синтеза на твердой фазе через карбоксильную группу белка с использованием EDC методом прямой (белок → EDC → АЛН) последовательности нанесения компонентов на сорбент, с концентрацией белка 1,09 мг/мл (рис. 1, дорожка 1);

2 – AEG – конъюгат рЧГМ-КСФ с АЛН, полученный с помощью синтеза на твердой фазе через карбоксильную группу белка с использованием EDC методом обратной (АЛН → EDC → белок) последовательности нанесения компонентов на сорбент, с концентрацией белка 1,45 мг/мл (рис. 1, дорожка 2);

3 – DGA – конъюгат рЧГМ-КСФ с АЛН, полученный

синтезом через аминокислотную группу белка с использованием в качестве линкера молекулы декстрана с помощью реакции Малапрада [22], с концентрацией белка 0,86 мг/мл (рис. 2, дорожка 1).

Препарат сравнения

Белок рГМ-КСФ, полученный в ИМБТ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора по описанному методу [23], использовали в качестве препарата сравнения и для получения конъюгатов с АЛН. Субстанция белка была охарактеризована по показателям качества в соответствии с требованиями нормативной документации¹. Концентрация белка в используемой субстанции составляла 1,5 мг/мл, гомогенность препарата 99,2%.

Экспериментальные животные

Исследование проведено на 66 здоровых самцах мышей линии CBA/Calac с массой тела 19–23 г, полученных из питомника НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ, и 45 самках белых беспородных мышей CD-1 (ICR) массой 22–25 г из питомника ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора (р.п. Кольцово, Новосибирской обл.). Возраст животных составлял 2,0–2,5 месяца. Перед началом исследования животные прошли период адаптационного карантина. Мыши содержались в стандартных условиях вивария при постоянной температуре и влажности, корм и питье были доступны в любое время суток. Содержание животных и экспериментальные исследования проводили в соответствии с требованиями Международной конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и научных целей (Страсбург, 1986 год), а также с соблюдением директивы 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях. Исследования были одобрены Биоэтической комиссией ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора (протокол № 5 от 01.10.2020 г.).

Метод оценки гемостимулирующей активности конъюгатов

Гемостимулирующую активность препаратов исследовали на модели цитостатической миелосупрессии, вызванной введением мышам CBA/Calac циклофосфана (ЦФ, «Sigma-Aldrich», США) [24].

Животные были разделены на 5 экспериментальных групп (4 опытные и 1 контрольная) по 12 самцов мышей в каждой. Всем экспериментальным животным однократно внутрибрюшинно вводили раствор ЦФ в максимально

переносимой дозе (250 мг/кг) в объеме 0,25 мл на 20 г массы тела.

Через 24 ч после инъекции ЦФ мышам опытных групп в течение 4–5 сут вводили подкожно один из следующих препаратов: 1) рГМ-КСФ; 2) конъюгат GEA; 3) конъюгат AEG; 4) конъюгат DGA. Доза введения, определенная ранее как эффективная гемостимулирующая с использованием препарата рГМ-КСФ [25], составляла 90 мкг/кг, объем введения 0,2 мл на 20 г массы тела животного. Мыши контрольной группы получали подкожно физиологический раствор в эквивалентном объеме по аналогичной схеме. В качестве дополнительной контрольной группы использовали шесть интактных животных (без введения препаратов рГМ-КСФ и ЦФ). Все манипуляции с животными проводились в одно и то же время (в утренние часы).

Через сутки после окончания курса введения препаратов (на 5 сут после введения ЦФ) у половины животных из каждой группы забирали на анализ образцы крови из кончика хвоста, а после цервикальной дислокации шейных позвонков – образцы костного мозга. Вторая половина животных в этот день получала еще одну инъекцию препаратов, биоматериал на анализ забирали через 24 ч после введения.

В образцах крови методом световой микроскопии определяли общее количество лейкоцитов (кровь разводили в 20 раз 3%-ным раствором уксусной кислоты, подсчет проводили в камере Горяева), относительное и абсолютное содержание нейтрофилов и других морфологических форм лейкоцитов. В образцах костного мозга подсчитывали общее количество кариоцитов (ОКК) и рассчитывали количество клеток на бедро. Для получения костного мозга выделяли бедренную кость мыши, очищали ее от мягких тканей бедра и тщательно промывали костномозговой канал 3%-ным раствором уксусной кислоты в объеме 1 мл. Подсчет ОКК осуществляли с помощью камеры Горяева.

Метод изучения динамики накопления рГМ-КСФ

Для изучения динамики накопления рГМ-КСФ в костной ткани и костном мозге самок мышей CD-1 разделили на 3 группы: контрольную (5 особей) и две опытные (по 20 особей). Накануне эксперимента в конце рабочего дня мышам пересаживали в чистые клетки без корма. Корм животным давали через 2 часа после введения препаратов, воду – без ограничений.

Животные первой опытной группы получали внутривенную инъекцию рГМ-КСФ, мышам второй опытной группы вводили конъюгат AEG. Препараты вводили в дозе 90 мкг/кг массы тела, по 0,2 мл на 20 г веса животного. Контрольными животными (третья группа) служили интактные мыши.

¹ ОФС.1.7.1.0007.15 «Лекарственные средства, получаемые методами рекомбинантной ДНК» // Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издание. – Москва, 2018. – Т. 2. – С. 2575–2595. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://docs.ruclm.ru/feml/pharma/v14/vol2/763/>

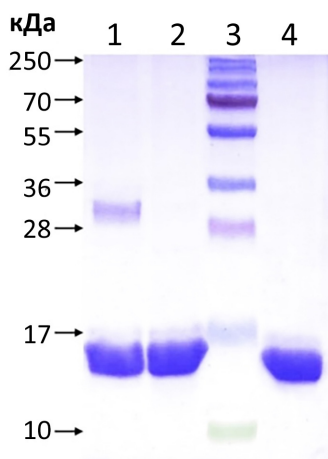


Рисунок 1 – Электрофореграмма конъюгатов, полученных в результате прямой последовательности нанесения GEA (1) и обратной последовательности AEG (2)

Примечание: Электрофорез в 15 % полиакриламидном геле в восстанавливающих условиях, окрашивание Кумасси R-250. Дорожки: 3 – белковый маркер 10–250 кДа; 4 – белок рГМ-КСФ, 20 мкг.

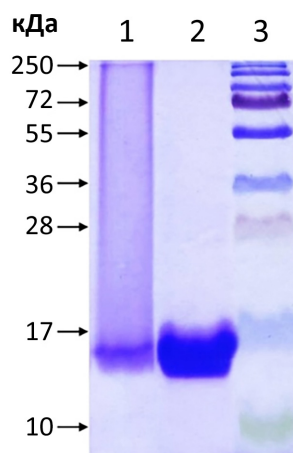


Рисунок 2 – Электрофореграмма конъюгата, полученного с помощью декстрана (1)

Примечание: Электрофорез в 15% полиакриламидном геле в восстанавливающих условиях, окрашивание Кумасси R-250. Дорожки: 2 – белок рГМ-КСФ, 20 мкг; 3 – белковый маркер 10–250 кДа.

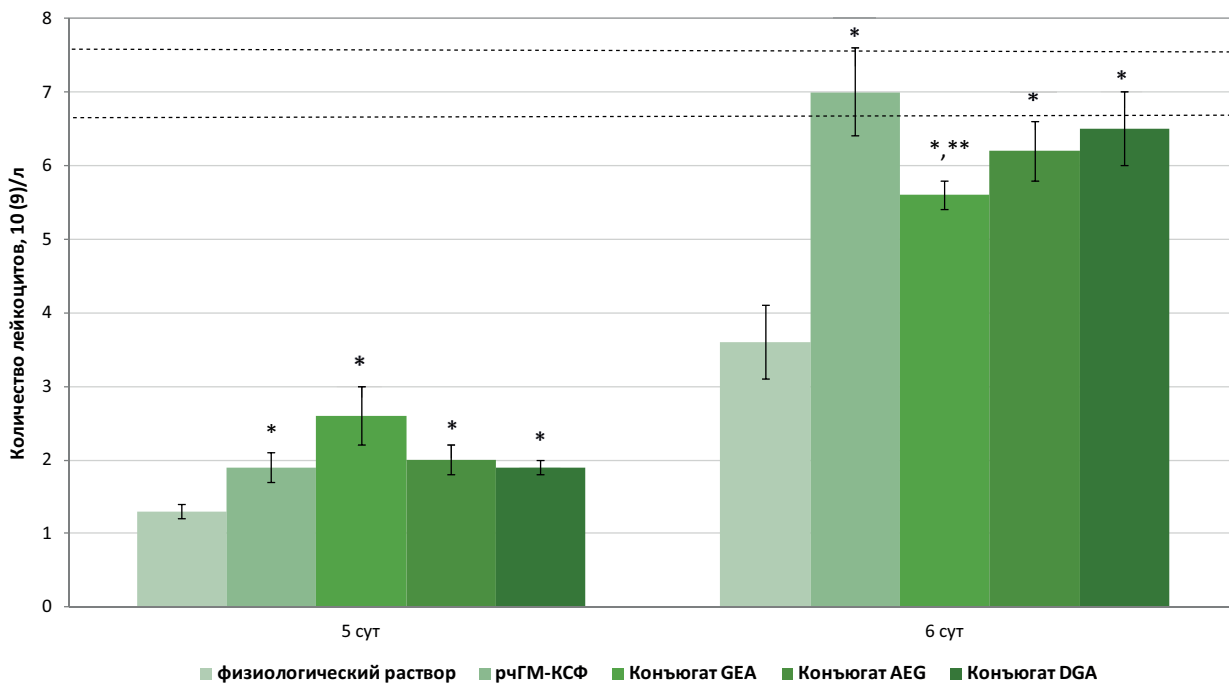


Рисунок 3 – Количество лейкоцитов в периферической крови мышей линии СВА на фоне введения ЦФ, препарата рГМ-КСФ и его конъюгатов с АЛН

Примечание: по оси абсцисс – сроки исследования (сутки). * – статистически значимое отличие по отношению к контролю (физиологическому раствору); ** – статистически значимое отличие по отношению к рГМ-КСФ при $p \leq 0,05$. Область между пунктирными прямыми – доверительный интервал показателя у интактных мышей.

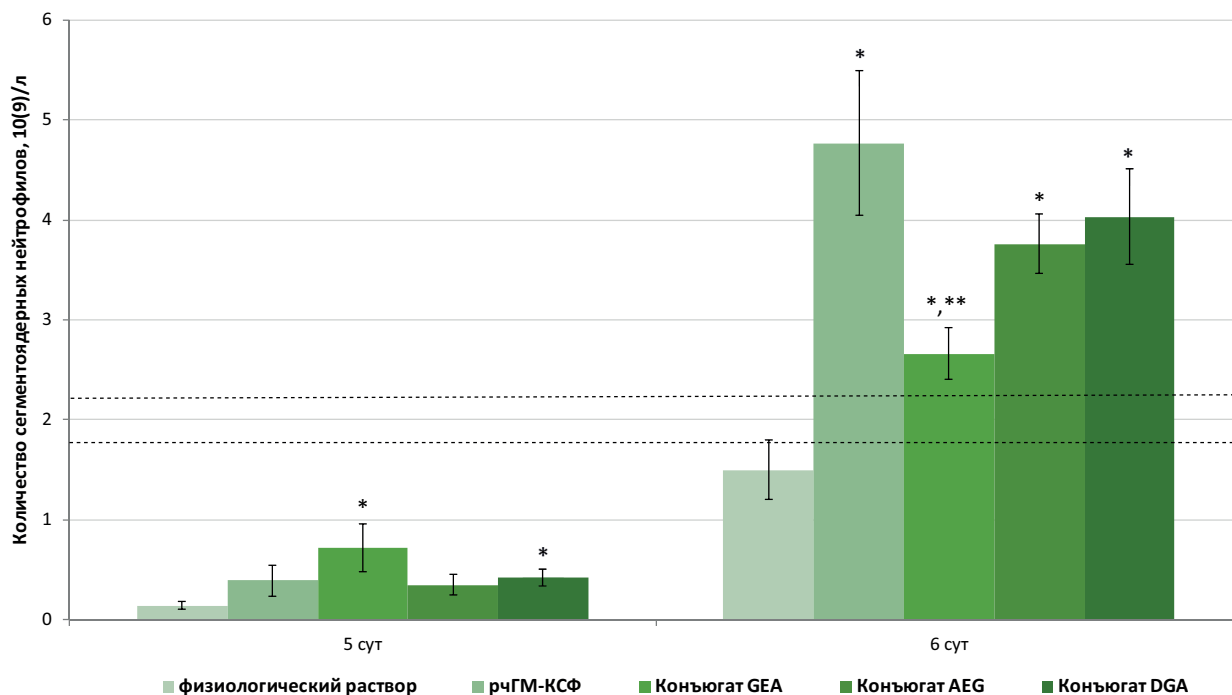


Рисунок 4 – Количество сегментоядерных нейтрофилов в периферической крови мышей линии СВА на фоне введения ЦФ, препарата рГМ-КСФ и его конъюгатов с АЛН

Примечание: по оси абсцисс – сроки исследования (сутки). * – статистически значимое отличие по отношению к контролю (физиологическому раствору); ** – статистически значимое отличие по отношению к рГМ-КСФ при $p \leq 0,05$. Область между пунктирными прямыми – доверительный интервал показателя у интактных мышей.

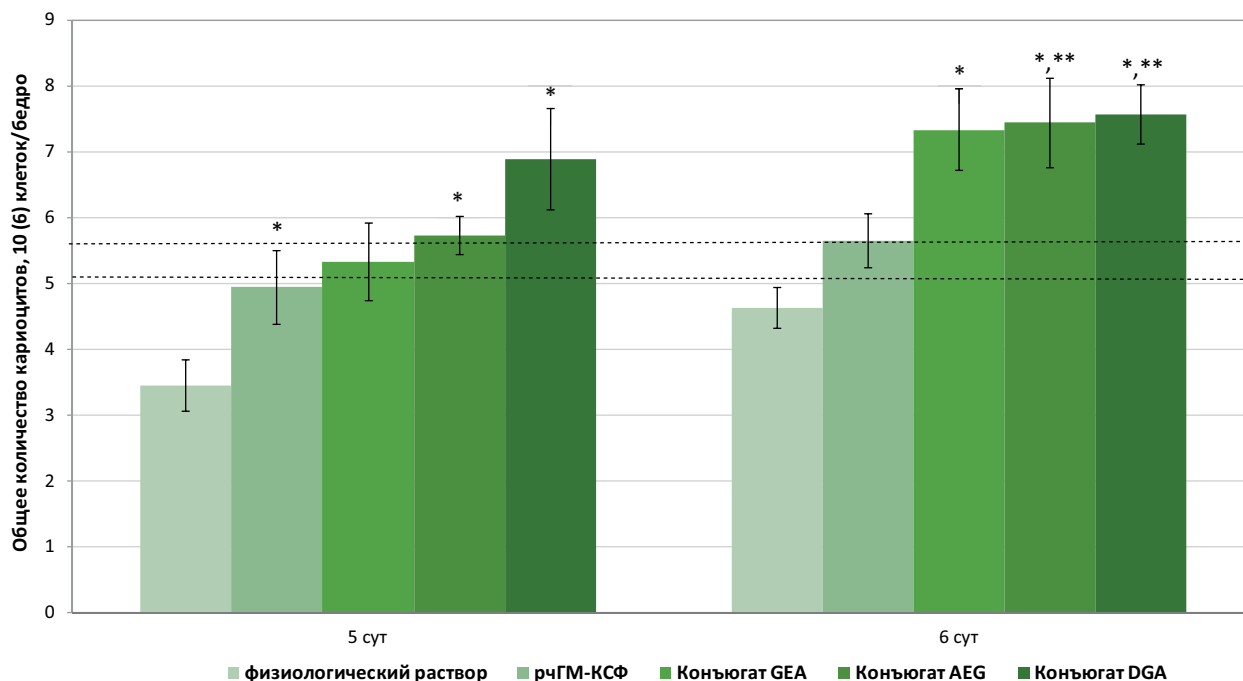


Рисунок 5 – Количество кариоцитов в костном мозге мышей линии СВА на фоне введения ЦФ, препарата рГМ-КСФ и его конъюгатов с АЛН

Примечание: по оси абсцисс – сроки исследования (сутки). * – статистически значимое отличие по отношению к контролю (физиологическому раствору); ** – статистически значимое отличие по отношению к рГМ-КСФ при $p \leq 0,05$. Область между пунктирными прямыми – доверительный интервал показателя у интактных мышей.

Таблица 1 – Динамика изменения уровня рГМ-КСФ в крови, костной ткани и костном мозге мышей после однократного внутривенного введения препаратов

Препарат	Концентрация рГМ-КСФ в образцах			
	Сыворотка крови, пг/мл			
	3 мин	1 ч	4 ч	24 ч
рГМ-КСФ	151715±32571	3138±214	24,5±2,3	0,174±0,148
Конъюгат АЕГ	406468±54586**	8500±2539**	48,8±9,0**	0,676±0,676
	Бедренная кость, пг/г			
Контроль	184±139			
рГМ-КСФ	3869±458*	322±151	436±52	137±105
Конъюгат АЕГ	11154±1613*,**	1108±387	1706±374*,**	1652±449
	Костный мозг бедренной кости, пг/бедро			
Контроль	3,52±2,03			
рГМ-КСФ	237±36*	9,84±7,47	0±0	1,20±1,20
Конъюгат АЕГ	567±127*	20,3±12,8	5,64±5,64	15,7±9,7

Примечание: экспериментальные данные представлены в виде средней арифметической величины и стандартной ошибки ($M \pm m$); * – отличия статистически значимы, по сравнению с контролем; ** – отличия статистически значимы, по сравнению с показателем мышей, которым вводили рГМ-КСФ ($p < 0,05$ для крови; $p < 0,017$ для тканей).

Спустя 3 мин, 1, 4 и 24 ч после введения препаратов у 5 животных из каждой опытной группы после эвтаназии забирали кровь и одну бедренную кость. У мышей контрольной группы брали аналогичный материал в первый день эксперимента. Из крови получали сыворотку, из бедренной кости извлекали костный мозг путем промывания костномозгового канала 0,9%-ным раствором хлорида натрия в объеме 1 мл. Клетки костного мозга ресуспендировали дозатором до гомогенной суспензии. Бедренную кость после удаления костного мозга взвешивали и готовили 10%-ный гомогенат в 0,1 М калий-фосфатном буфере (рН 7,2), на гомогенизаторе «GlasCol» (США). Полученный биоматериал хранили при температуре не выше -20°C . В день проведения анализа гомогенаты костного мозга и бедренных костей размораживали, центрифугировали (центрифуга 5810R, Eppendorf, Германия) при 5000 g и температуре $2-8^{\circ}\text{C}$ в течение 5 мин, отбирали супернатанты.

В сыворотке крови и супернатантах гомогенатов определяли содержание рГМ-КСФ иммуноферментным анализом (ИФА) с применением наборов реагентов для определения ГМ-КСФ человека в сыворотке, плазме крови, супернатантах культур клеток и гомогенатов органов «Human Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor (ГМ-КСФ) ELISA Kit», «CUSABIO», КНР. Диапазон определяемых концентраций стандартного образца, входящего в состав набора, составлял 15,6–1000 пг/мл, чувствительность – менее 3,9 пг/мл.

Статистическая обработка полученных результатов

Полученные результаты обрабатывали с помощью пакета программ «Statgraphics, Versin 5.0» «Statistical Graphics Corp.», США. В связи с малыми объемами

выборок для оценки значимости межгрупповых различий применяли непараметрические критерии – двухвыборочный U-критерий Манна-Уитни и N-критерий множественных сравнений Краскала-Уоллиса с критическим уровнем статистической значимости (p), равным 0,05. При обнаружении статистически значимых различий в N-тесте проводили апостериорные сравнения с помощью U-критерия, при этом скорректированный критический уровень значимости (p) для трех попарных сравнений принимали равным 0,0170 [26, 27]. Экспериментальные данные представлены в виде средней арифметической величины и стандартной ошибки ($M \pm m$). Рисунки построены с использованием программы Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование показало, что однократное введение мышам ЦФ в дозе 250 мг/кг приводило к закономерному развитию миелосупрессии. Общее количество кариоцитов костного мозга у мышей контрольной группы на 5-е сут после введения ЦФ снизилось в 1,5 раза, лейкоцитов крови в 5,5 раза, количество сегментоядерных нейтрофилов – в 13,9 раз.

Изменение числа лейкоцитов, сегментоядерных нейтрофилов и клеток костного мозга мышей после введения препаратов оценивали по сравнению с показателями контрольной группы (физиологический раствор), значения которых принимали за 100 %. Введение животным как препарата рГМ-КСФ, так и его конъюгатов с АЛН, приводило к более быстрому статистически значимому ($p \leq 0,05$) увеличению числа лейкоцитов крови по сравнению с контрольными показателями (рис. 3). На 5-е сут после введения ЦФ число лейкоцитов крови мышей, получавших препараты рГМ-КСФ, превышало

контрольный показатель на 46–100%, на 6-е сут – на 56–94%. Существенных отличий в уровне стимуляции лейкопоза в группах, которым вводили конъюгаты разного типа, либо рчГМ-КСФ, не наблюдалось.

В группах мышей, которым вводили конъюгаты GEA и DGA, на 5-е сут после введения ЦФ отмечено статистически значимое увеличение числа сегментоядерных нейтрофилов по сравнению с контролем (на 414 и 200%, соответственно, $p \leq 0,05$), на 6-е сут повышенные (на 77 и 169%) значения показателя зарегистрированы во обеих группах с введением конъюгатов. Достоверный стимулирующий эффект исходного рчГМ-КСФ был отмечен лишь на 6-е сут, число сегментоядерных нейтрофилов крови в этот период повышалось на 218% по сравнению с показателем животных, получавших физиологический раствор (рис. 4).

Из данных, представленных на рисунке 5, видно, что введение рчГМ-КСФ приводило к статистически значимому увеличению общего числа кариоцитов через 5 сут на 43% после введения ЦФ по сравнению с контрольными значениями. Аналогичные, но более выраженные, изменения были отмечены в группах мышей, которым вводили конъюгаты. При этом максимальным был эффект DGA (повышение показателя на 100% по сравнению с контролем). Через 6 сут после введения цитостатика число кариоцитов в костном мозге мышей, которым вводили конъюгаты, на 58–63% превышало уровень контроля и на 30–34% уровень показателя, зарегистрированного после введения рчГМ-КСФ.

Таким образом, конъюгирование рчГМ-КСФ с АЛН не приводило к снижению гемостимулирующей активности белка. Не обнаружено значимых различий в уровне лейкоцитостимулирующей активности исследованных препаратов. Конъюгаты GEA и DGA ускоряли восстановление числа нейтрофилов крови мышей. Конъюгаты AEG и DGA оказывали более выраженное по сравнению с ГМ-КСФ стимулирующее действие на продукцию клеток костного мозга, что проявлялось в более интенсивном и более раннем увеличении общей клеточности костного мозга после воздействия цитостатика.

Усиление стимулирующего эффекта рчГМ-КСФ в составе конъюгата на продукцию кариоцитов, очевидно, может быть связано с повышенной тропностью белка к клеткам костной ткани.

Для подтверждения адресной доставки рчГМ-КСФ в составе конъюгата с АЛН в костную ткань было проведено сравнительное изучение накопления препарата в костной ткани и костном мозге после внутривенного введения препарата рчГМ-КСФ и его конъюгата AEG.

Динамика изменения концентрации белка в крови, костной ткани и костном мозге мышей после однократного внутривенного введения препарата рчГМ-КСФ и его конъюгата в эффективной

гемостимулирующей дозе (90 мкг/кг) представлена в таблице 1.

Полученные данные свидетельствуют о том, что наибольшие значения рчГМ-КСФ в крови мышей были зарегистрированы через 3 мин после введения препаратов и составляли 19,2% от введенной дозы у мышей, получавших конъюгат AEG, и 7,2% у мышей после введения рчГМ-КСФ (табл. 1). Белок сохранялся в сыворотке крови мышей обеих экспериментальных групп в течение 4 ч наблюдения. Через 1 час после введения препаратов значения показателя уменьшались по сравнению с точкой «3 мин» в 48 раз и в последующие сроки отмечено их дальнейшее снижение до уровня фона. Концентрация рчГМ-КСФ в крови мышей, получавших инъекцию конъюгата, превышала соответствующий показатель после введения рчГМ-КСФ в 2,7 раза через 3 мин и 1 ч, в 2 раза – через 4 ч после введения (различия статистически значимы, $p \leq 0,05$). Через 24 ч после введения рчГМ-КСФ в незначительных количествах был обнаружен в крови двух животных из пяти после введения препарата рчГМ-КСФ и у одной мыши из пяти, получавших инъекцию конъюгата AEG. В сыворотке крови контрольных животных значения показателя ни в один из сроков наблюдения не отличались от нуля.

Наибольший уровень рчГМ-КСФ в гомогенатах бедренных костей мышей был обнаружен через 3 мин после введения препаратов. При этом содержание белка в костной ткани мышей, получавших конъюгат, в этой точке в 60 раз превышало показатель животных с введением рчГМ-КСФ. В последующие сроки концентрация белка во всех бедренных костях мышей, которым вводили рчГМ-КСФ, снижалась до уровня контроля (1 ч после введения, табл. 1). В образцах костной ткани мышей, получавших инъекцию конъюгата AEG, концентрация рчГМ-КСФ через 1 ч после введения превышала контрольный уровень в 6 раз (отличия статистически недостоверны, $p \leq 0,017$), в последующие сроки (4 и 24 ч) – в 9 раз (статистические отличия наблюдались в 4-часовой точке). Через 24 ч после введения только у двух из пяти мышей, получивших инъекции рчГМ-КСФ, в костной ткани было обнаружено повышенное содержание рчГМ-КСФ (541 и 146 пг/г ткани), тогда как более высокий, чем в контроле, уровень рчГМ-КСФ (от 1408 до 2460 пг/г) после введения конъюгата AEG наблюдался у четырех из пяти животных.

Максимальную концентрацию рчГМ-КСФ в костном мозге мышей обеих опытных групп, также как в крови и гомогенатах бедренных костей, регистрировали в первой точке, через 3 минуты после введения (табл. 1). Значения показателя у мышей, которым вводили конъюгат AEG, в 161 раз превышали контрольные значения и в 2,4 раза – показатель мышей, которым вводили рчГМ-КСФ. В последующие сроки содержание белка в обеих опытных группах снижалось. Однако следует отметить, что через 4 и

24 ч после введения рЧГМ-КСФ у всех пяти мышей белок в костном мозге не определялся, в то время как в группе, получившей конъюгат АЕГ, у 2 мышей были зарегистрированы следовые количества рЧГМ-КСФ (от 28,2 до 42,2 пг/бедро).

Таким образом, введение в состав рЧГМ-КСФ алендроновой кислоты способствовало повышению накопления и распределения рЧГМ-КСФ в костной ткани и костном мозге мышей, что согласуется с имеющимися литературными данными о накоплении препаратов алендроновой кислоты в костной ткани, прочном связывании и удержании их костным матриксом [28–34]. Концентрация конъюгированного белка в крови в первые часы после введения была выше, чем свободного рЧГМ-КСФ, что, возможно, связано с повышением в результате модификации устойчивости белка к протеолитическим ферментам

и, как следствие, появлением у него способности дольше циркулировать в кровеносном русле.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что конъюгаты рЧГМ-КСФ с АЛН обладают гемостимулирующей активностью, сравнимой с активностью исходного белка. Эффект рЧГМ-КСФ в составе конъюгатов на клетки костного мозга был более выраженным и продолжительным, что, по-видимому, связано с более длительным присутствием белка в составе конъюгата в крови и повышенным накоплением его в костной ткани и костном мозге. Полученные данные позволяют сделать вывод о перспективности дальнейших работ по созданию гемостимулирующих препаратов на основе конъюгатов рЧГМ-КСФ с алендроновой кислотой.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Исследование проведено в рамках работ по выполнению государственного задания ГНЦ ВБ “Вектор” Роспотребнадзора, тема ГЗ-39/21.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Г.Г. Шими́на – проведение экспериментальных исследований, статистическая обработка данных, построение диаграмм, написание текста статьи; А.В. Батенева – литературный поиск, проведение экспериментальных исследований, статистическая обработка данных, написание текста статьи; Е.С. Цыпленкова – проведение экспериментальных исследований; С.Г. Гамалей – проведение литературного поиска, формирование цели и задач исследования, разработка дизайна исследования, доработка текста статьи; Т.И. Есина – получение препаратов для исследования; Волосникова Е.А. – получение препаратов для исследования; Е.Д. Даниленко – утверждение плана экспериментального исследования, редактирование и пересмотр содержания текста статьи, утверждение окончательной версии статьи.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Dygai A.M., Zhdanov V.V., Miroshnichenko L.A., Zyuz'kov G.N., Udut E.V., Simanina E.V., Stavrova L.A., Khrichkova T.Y., Agafonov V.I. Comparison of Specific Activity of Granulocytopoiesis Stimulators after Treatment with Cytostatics with Different Mechanisms of Action // *Bull. Exp. Biol. Med.* – 2013. – Vol. 55. – P. 631–635. DOI: 10.1007/s10517-013-2212-3
2. Hamilton J.A., Anderson G.P. GM-CSF Biology // *Growth Factors.* – 2004. – Vol. 22. No. 4. – P. 225–231. DOI: 10.1080/08977190412331279881
3. Bhattacharya P., Budnick I., Singh M., Thirupathi M., Alharshawi K., Elshabrawy H., Holterman M.J., Prabhakar B.S. Dual Role of GM-CSF as a Pro-Inflammatory and a Regulatory Cytokine: Implications for Immune Therapy // *J. Interferon Cytokine Res.* – 2015. – Vol. 35, No. 8. – P. 585–599. DOI: 10.1089/jir.2014.0149
4. van de Laar L., Coffey P.J., Woltman A.M. Regulation of dendritic cell development by GM-CSF: molecular control and implications for immune homeostasis and therapy // *Blood.* – 2012. – Vol. 119, No. 15. – P. 3383–3393. DOI: 10.1182/blood-2011-11-370130
5. Hübel K., Dale D.C., Liles W.C. Therapeutic Use of Cytokines to Modulate Phagocyte Function for the Treatment of Infectious Diseases: Current Status of Granulocyte Colony-Stimulating Factor, Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor, Macrophage Colony-Stimulating Factor, and Interferon-gamma // *J. Infect. Dis.* – 2002. – Vol. 185, No. 10. – P. 1490–1501 DOI: 10.1086/340221
6. Steward W.P., Scarffe J.H., Austin R., Bonnem E., Thatcher N., Morgenstern G., Crowther D. Recombinant human granulocyte macrophage colony stimulating factor (rhGM-CSF) given as daily short infusions—a phase I dose-toxicity study // *Br. J. Cancer.* – 1989. – Vol. 59, No. 1. – P. 142–145. DOI: 10.1038/bjc.1989.28
7. Morita M., Lamkhioed B., Soussi Gounni A., Aldebert D., Delaporte E., Capron A., Capron M. Induction by interferons of human eosinophil apoptosis and regulation by interleukin-3, granulocyte/macrophage colony stimulating factor and interleukin-5 // *Eur. Cytokine. Netw.* – 1996. – Vol. 7, No. 4. – P.725–732.
8. Lieschke G.J., Burgess A.W. Granulocyte colony-stimulating factor and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor // *N. Engl. J. Med.* – 1992. – Vol. 327, No. 2. – P. 99–106. DOI: 10.1056/nejm199207093270207
9. Lee J.H., Nan A. Combination drug delivery approaches in metastatic breast cancer // *J. Drug. Deliv. USA.* – 2012. – Vol. 2012. – Art. ID: 915375. DOI: 10.1155/2012/915375
10. Mu C.F., Shen J., Liang J., Zheng H.S., Xiong Y., Wei Y.H.,

- Li F. Targeted drug delivery for tumor therapy inside the bone marrow // *Biomaterials*. – 2018. – Vol. 155. – P. 191–202. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2017.11.029
11. Kamada H., Tsutsumi Y., Yamamoto Y., Kihira T., Kaneda Y., Mu Y., Kodaira H., Tsunoda S., Nakagawa S., Mayumi T. Antitumor activity of tumor necrosis factor- α conjugated with polyvinylpyrrolidone on solid tumors in mice // *Cancer Res*. – 2000. – Vol. 60, No. 22. – P. 6416–6420.
 12. Даниленко Е.Д., Белкина А.О. Использование бисфосфонатов в качестве средств доставки лекарственных препаратов // *Биофармацевтический журнал*. – 2014. – Т. 6, № 6. – С. 44–53.
 13. Farrell K.B., Karpeisky A., Thamm D.H., Zinnen S. Bisphosphonate conjugation for bone specific drug targeting // *Bone Reports*. – 2018. – Vol. 9. – P. 47–60. DOI: 10.1016/j.bonr.2018.06.007
 14. Sedghizadeh P., Sun S., Junka A., Richard E., Sadrerafi K., Mahabady S., Bakhshalian N., Tjokro N., Bartoszewicz M., Oleksy M., Szymczyk P., Lundy M., Neighbors J., Russell R.G., McKenna C., Ebetino F. Design, synthesis, and antimicrobial evaluation of a novel bone-targeting bisphosphonate-ciprofloxacin conjugate for the treatment of osteomyelitis biofilms // *J. Med. Chem.* – 2017. – Vol. 60, No. 6. – P. 2326–2343. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.6b01615
 15. Kamble S., Varamini P., Müllner M., Pelras T., Rohanizadeh R. Bisphosphonate-functionalized micelles for targeted delivery of curcumin to metastatic bone cancer // *Pharm. Dev. Technol.* – 2020. – Vol. 25, No. 9. – P. 1118–1126. DOI: 10.1080/10837450.2020.1798458
 16. Yamashita S., Katsumi H., Sakane T., Yamamoto A. Bone-targeting dendrimer for the delivery of methotrexate and treatment of bone metastasis // *J. Drug Target.* – 2018. – Vol. 26, No. 9. – P. 818–828. DOI: 10.1080/1061186x.2018.1434659
 17. Xie Z., Liu G., Tang P., Sun X., Chen S., Qin A., Zhu P., Zhang J., Fan S. Bone-targeted methotrexate-alendronate conjugate inhibits osteoclastogenesis in vitro and prevents bone loss and inflammation of collagen-induced arthritis in vivo // *Drug. Deliv.* – 2018. – Vol. 25, No. 1. – P. 187–197. DOI: 10.1080/10717544.2017.1422295
 18. Волосникова Е.А., Демин И.Ф., Левагина Г.М., Лебедев Л.Р., Закабунин А.И., Даниленко Е.Д. Синтез конъюгатов фактора некроза опухоли альфа с алендроновой кислотой // *Биоорганическая химия*. – 2016. – Т. 42. №6. – С. 704–711. DOI: 10.7868/S0132342316060154
 19. Патент РФ № 2609871/06.02.2017. Противоопухолевое средство // Патент № 2015133400. 2016. Бюл. № 4. Закабунин А.И., Даниленко Е.Д., Волосникова Е.А., Левагина Г.М., Демин И.Ф.
 20. Патент РФ № 2708556/09.12.2019. Рекомбинантная плазмидная ДНК p280_2GM, кодирующая полипептид со свойствами гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора человека, штамм E.COLI SG 20050/p280_2GM — продуцент полипептида со свойствами гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора человека и способ его получения // Патент № 2018140842. 2016. Бюл. № 34. Гилева И.П., Есина Т.И., Волосникова Е.А., Гогина Я.С., Лебедев Л.Р., Даниленко Е.Д.
 21. Есина Т.И., Волосникова Е.А., Лебедев Л.Р., Кочнева Г.В., Гражданцева А.А. Синтез конъюгатов гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора с алендроновой кислотой и их свойства // *Биоорганическая химия*. – 2020. – Т. 46, № 3. – С. 1–8. DOI: 10.31857/S0132342320030112
 22. Мамаева С.А., Крупна И.С., Дятлов В.А., Кутергина И.Ю., Рустамов И.Р., Гумникова В.И. Влияние периодатного окисления на молекулярно-массовые характеристики и фракционную неоднородность полисахаридов // *Успехи в химии и химической технологии*. – 2014. – Т. 28, №3. – С. 45–48.
 23. Есина Т.И., Лебедев Л.Р., Волосникова Е.А., Гилева И.П., Гогина Я.С., Терещенко Т.А., Кочнева Г.В., Гражданцева А.А., Даниленко Е.Д. Способ получения рекомбинантного гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора человека // *Биотехнология*. – 2019. – Т. 35, № 3. – С. 68–73. DOI: 10.21519/0234-2758-2019-35-3-68-73
 24. Патент РФ № 2332667/27.08.2008. Способ оценки гранулоцитопозстимулирующей активности фармакологических веществ // Патент № 2006139437/15. 2006. Бюл. № 24. Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Зюзьков Г.Н., Жданов В.В., Симанина Е.В., Гурьянцева Л.А., Хричкова Т.Ю., Удут Е.В., Ставрова Л.А., Сотникова Н.В.
 25. Шиминова Г.Г., Батенева А.В., Гамалей С.Г., Есина Т.И., Терещенко Т.Г., Даниленко Е.Д. Исследование гемостимулирующих свойств рекомбинантного гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора человека. // *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. – 2020. – Т. 20, №4. – С. 268–276. DOI: 10.30895/2221-996X-2020-20-4-268-276
 26. Гржибовский А.М. Анализ количественных данных для двух независимых групп // *Экология человека*. – 2008. № 2. – С. 54–61.
 27. Гржибовский А.М. Анализ трех и более групп количественных данных // *Экология человека*. – 2008. – № 3. – С. 50–58.
 28. Nguyen T.D., Pitchaimani A., Aryal S. Engineered nanomedicine with alendronic acid corona improves targeting to osteosarcoma // *Sci. Rep.* – 2016. – Vol. 6. – Art. ID: 36707. DOI: 10.1038/srep36707
 29. Pan H., Sima M., Kopecková P., Wu K., Gao S., Liu J., Wang D., Miller S.C., Kopecek J. Biodistribution and pharmacokinetic studies of bone-targeting N-(2-hydroxypropyl) methacrylamide copolymer-alendronate conjugates // *Mol. Pharm.* – 2008. – Vol. 5, No. 4. – P. 548–558. DOI: 10.1021/mp800003u
 30. Miller K., Eldar-Boock A., Polyak D., Segal E., Benayoun L., Shaked Y., Satchi-Fainaro R. Antiangiogenic antitumor activity of HPMA copolymer-paclitaxel-alendronate conjugate on breast cancer bone metastasis mouse model // *Mol. Pharm.* – 2011. – Vol. 8, No. 4. – P. 1052–1062. DOI: 10.1021/mp200083n
 31. Chen H., Li G., Chi H., Wang D., Tu C., Pan L., Zhu L, Qiu F., Guo F., Zhu X. Alendronate-Conjugated Amphiphilic Hyperbranched Polymer Based on Boltorn H40 and Poly (ethylene glycol) for Bone-Targeted Drug Delivery // *Bioconjug. Chem.* – 2012, – Vol. 23, No. 9. – P. 1915–1924. DOI: 10.1021/bc3003088
 32. Akyol U., Sipal S., Demirci E., Gungormus M. The influence of low-level laser therapy with alendronate irrigation on healing of bone defects in rats // *Lasers Med. Sci.* – 2015. – Vol. 30, No. 3. – P. 1141–1146. DOI: 10.1007/s10103-015-1720-y
 33. Lin J.H., Duggan D.E., Chen I.W., Ellsworth R.L. Physiological disposition of alendronate, a potent anti-osteolytic bisphosphonate, in laboratory animals // *Drug Metab. Dispos.* – 1991. – Vol. 19, No. 5. – P. 926–932.
 34. Lin J.H., Chen I.W., Duggan D.E. Effects of dose, sex, and age on the disposition of alendronate, a potent antiosteolytic bisphosphonate, in rats // *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals*. – 1992. – Vol. 20, No. 4. – P. 473–478.

АВТОРЫ

Шими́на Галина Григорьевна – научный сотрудник отдела биологических исследований ИМБТ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. ORCID ID: 0000-0002-1078-7033. E-mail: shimina_gg@vector.nsc.ru

Батенева Алена Владимировна – научный сотрудник отдела биологических исследований ИМБТ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. ORCID ID: 0000-0002-3761-7798. E-mail: bateneva_av@vector.nsc.ru

Цыпленкова Елена Сергеевна – младший научный сотрудник отдела биологических исследований ИМБТ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. ORCID ID: 0000-0002-1277-6258. E-mail: tsyplenkova_es@vector.nsc.ru

Гамалей Светлана Георгиевна – заведующий отделом биологических исследований ИМБТ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. ORCID ID: 0000-0002-7441-333X. E-mail: gamaley_sg@vector.nsc.ru

Есина Татьяна Игоревна – младший научный сотрудник отдела разработки технологий и пилотного производства биопрепаратов ИМБТ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. ORCID ID: 0000-0001-9006-8313. E-mail: esina_ti@vector.nsc.ru

Волосникова Екатерина Александровна – кандидат биологических наук, заведующий лабораторией получения и анализа биосубстанций отдела разработки технологий и пилотного производства биопрепаратов ИМБТ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. ORCID ID: 0000-0001-5028-5647. E-mail: volosnikova_ea@vector.nsc.ru

Даниленко Елена Дмитриевна – кандидат биологических наук, директор ИМБТ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. ORCID ID: 0000-0001-5026-1602. E-mail: danilenko_ed@vector.nsc.ru

УДК 611.73



МЫШИ B6.A-DYSF^{PRMD}/GENEJ КАК ГЕНЕТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ДИСФЕРЛИНОПАТИИ

М.В. Корокин¹, Е.В. Кузубова¹, А.И. Радченко¹, Р.В. Деев^{3,6}, И.А. Яковлев², А.В. Дейкин¹,
Н.С. Жунусов¹, А.М. Краюшкина¹, В.М. Покровский¹, О.А. Пученкова¹, К.Д. Чапров^{1,4},
Н.В. Екимова¹, С.Н. Бардаков⁵, О.Н. Чернова³, А.М. Емелин^{1,3}, И.С. Лимаев³

¹ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», 308015, Россия, г. Белгород, ул. Победы, д. 85

² Общество с ограниченной ответственностью «Генотаргет», 121205, Россия, г. Москва, Инновационный центр «Сколково», ул. Нобеля, д. 7, пом. 48

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 191015, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д. 41

⁴ Институт физиологически активных веществ федерального государственного бюджетного учреждения науки федерального исследовательского центра проблем химической физики и медицинской химии Российской академии наук (ИФВ РАН), 142432, Россия, г. Черноголовка, Северный проезд, д. 1

⁵ Федеральное государственное бюджетное военного образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, 194044, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6

⁶ Публичное акционерное общество «Институт стволовых клеток человека», 117292, Россия, г. Москва, пр-т 60-Летия Октября, д. 10а

E-mail: mkorokin@mail.ru

Получена 05.07.2022

После рецензирования 10.09.2022

Принята к печати 18.10.2022

Цель. Поведенческое и патоморфологическое фенотипирование мышей, нокаутных по гену *DYSF*, играющему важнейшую роль в развитии и прогрессировании дисферлинопатии.

Материалы и методы. В работе использована сублиния мышей B6.A-Dysf^{prmd}/GeneJ (Bla/J). В ходе исследования определяли мышечную активность при помощи следующих тестов: «Перевернутая сетка», «Сила хватки», «Удержание на проволоке», «Вынужденное плавание с грузом», «Удержание животного на скользком вертикальном стержне». Типично гистологическое и иммунофлуоресцентное исследование скелетной мускулатуры (*m. gastrocnemius*, *m. tibialis*). Оценено наличие и распределение белка дисферлина, описаны общие гистологические изменения скелетной мышцы, характерные для мышей в возрасте 12 и 24 недель. Также выполнен морфометрический анализ с определением следующих параметров: доля некротизированных мышечных волокон; доля волокон с центрально расположенными ядрами; средний диаметр мышечного волокна.

Результаты. Тест «Сила хватки» и «Принудительное плавание с грузом» выявили снижение силы передних конечностей и выносливости у исследуемых мышей сублинии Bla/J по сравнению с контрольной линией. Сохранность физической работоспособности проверена при помощи тестов «Проволочный тест» и «Удержание животного на скользком вертикальном стержне», которые показали статистически значимое различие между исследуемыми мышами и контролем. Координация движений и мышечная сила конечностей, исследованных в тесте «Перевернутая сетка», в данных возрастных метках не изменена. Уменьшение силы хватки передних конечностей, снижение физической выносливости с возрастом отражает прогрессирование основного мышечного заболевания. Гистологическими методами в скелетной мускулатуре выявлены признаки миопатического паттерна повреждения: некротизированные мышечные

Для цитирования: М.В. Корокин, Е.В. Кузубова, А.И. Радченко, Р.В. Деев, И.А. Яковлев, А.В. Дейкин, Н.С. Жунусов, А.М. Краюшкина, В.М. Покровский, О.А. Пученкова, К.Д. Чапров, Н.В. Екимова, С.Н. Бардаков, О.Н. Чернова, А.М. Емелин, И.С. Лимаев. Мыши B6.A-DYSF^{PRMD}/GENEJ как генетическая модель дисферлинопатии. *Фармация и фармакология*. 2022;10(5):483-496. DOI: 10.19163/2307-9266-2022-10-5-483-496

© М.В. Корокин, Е.В. Кузубова, А.И. Радченко, Р.В. Деев, И.А. Яковлев, А.В. Дейкин, Н.С. Жунусов, А.М. Краюшкина, В.М. Покровский, О.А. Пученкова, К.Д. Чапров, Н.В. Екимова, С.Н. Бардаков, О.Н. Чернова, А.М. Емелин, И.С. Лимаев, 2022

For citation: M.V. Korokin, E.V. Kuzubova, A.I. Radchenko, R.V. Deev, I.A. Yakovlev, Deikin A.V., N.S. Zhunusov, A.M. Krayushkina, V.M. Pokrovsky, O.A. Puchenkova, K.D. Chaprov, N.V. Ekimova, S.N. Bardakov, O.N. Chernova, A.M. Emelin, I.S. Limaev. B6.A-DYSF^{PRMD}/GENEJ mice as a genetic model of dysferlinopathy. *Pharmacy & Pharmacology*. 2022;10(5):483-496. DOI: 10.19163/2307-9266-2022-10-5-483-496

волокна, умеренная лимфо-макрофагальная инфильтрация, увеличение по сравнению с контролем доли волокон с центрально расположенными ядрами, среднего диаметра волокна. Белок дисферлин в тканях мышц не обнаружен. **Заключение.** С учетом результатов проведенных тестов показано, что отсутствие экспрессии гена *Dysf*^{-/-} у мышей сублинии Bla/J приводило к мышечной дистрофии с началом развития фенотипических проявлений болезни в 12 недель жизни и их пиком к 24 неделе. Патогистологические фенотипические проявления болезни в целом неспецифичны и соответствовали данным прижизненного патологоанатомического исследования у пациентов с диферлинопатией. Мыши исследуемой сублинии Bla/J являются репрезентативной моделью дисферлинопатии и могут быть использованы для оценки новых терапевтических средств для лечения данного заболевания.

Ключевые слова: дисферлинопатия; ген *Dysf*; миопатия Миоши; мышечная дистрофия; фенотипирование; нокаут; генотипирование; животные; мышиная модель; B6.A-Dysf^{prmd}/GeneJ

Список сокращений: Bla/J – B6.A-Dysf^{prmd}/GeneJ; КК – креатинкиназа; ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота; ПЦР – полимеразная цепная реакция; п.о. – пар оснований, WT – мыши дикого типа; ЭДТА – этилендиаминтетрауксусная кислота; Gas M – *M. gastrocnemius medialis*; Gas L – *M. gastrocnemius lateralis*; tib – *M. tibialis*.

B6.A-DYSF^{PRMD}/GENEJ MICE AS A GENETIC MODEL OF DYSFERLINOPATHY

M.V. Korokin¹, E.V. Kuzubova¹, A.I. Radchenko¹, R.V. Deev^{3,6}, I.A. Yakovlev², Deikin A.V.¹, N.S. Zhunusov¹, A.M. Krayushkina¹, V.M. Pokrovsky¹, O.A. Puchenkova¹, K.D. Chaprov^{1,4}, N.V. Ekimova¹, S.N. Bardakov⁵, O.N. Chernova³, A.M. Emelin^{1,3}, I.S. Limaev³

¹ Belgorod State National Research University, 85, Pobedy Str., Belgorod, Russia, 308015

² LLC "Genotarget",

48/7, Nobel Str., Skolkovo Innovation Center, Moscow, Russia, 121205

³ North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, 41, Kirochnaya Str., St. Petersburg, Russia, 191015

⁴ Institute of Physiologically Active Compounds at Federal Research Center of Problems of Chemical Physics and Medicinal Chemistry, Russian Academy of Sciences (IPAC RAS), 1, Severny Driveway, Chernogolovka, Russia, 142432

⁵ S. M. Kirov Military Medical Academy, 6, Academician Lebedev Str., St. Petersburg, Russia, 194044

⁶ PJSC "Human Stem Cells Institute", Bld. A, 10, 60-Letiya Oktyabrya Ave., Moscow, Russia, 117292

E-mail: mkorokin@mail.ru

Received 05 July 2022

After peer review 10 Sep 2022

Accepted 18 Oct 2022

The aim of the work was behavioral and pathomorphological phenotyping of the mice knockout for the DYSF gene, which plays an important role in the development and progression of dysferlinopathy.

Materials and methods. A B6.A-Dysf^{prmd}/GeneJ (Bla/J) mice subline was used in the work. During the study, a muscle activity was determined basing on the following tests: "Inverted grid", "Grip strength", "Wire Hanging", "Weight-loaded swimming", "Vertical Pole". Histological and immunofluorescent examinations of skeletal muscles (*m. gastrocnemius*, *m. tibialis*) were performed. The presence and distribution of the dysferlin protein was assessed, and general histological changes in the skeletal muscle characteristics of mice at the age of 12 and 24 weeks, were described. A morphometric analysis with the determination of the following parameters was performed: the proportion of necrotic muscle fibers; the proportion of fibers with centrally located nuclei; the mean muscle fiber diameter.

Results. The "Grip strength" test and the "Weight-loaded swimming" test revealed a decrease in the strength of the forelimbs and endurance in the studied mice of the Bla/J subline compared to the control line. The safety of physical performance was checked using the "Wire Hanging" test and the "Vertical Pole" test, which showed a statistically significant difference between the studied mice and control. The coordination of movements and muscle strength of the limbs examined in the "Inverted Grid" test did not change in these age marks. Decreased grip strength of the forelimbs, decreased physical endurance with age, reflects the progression of the underlying muscular disease. Histological methods in the skeletal muscles revealed signs of a myopathic damage pattern: necrotic muscle fibers, moderate lympho-macrophage infiltration, an increase in the proportion of fibers with centrally located nuclei, and an increase in the average fiber diameter compared to the control. The dysferlin protein was not found out in the muscle tissues.

Conclusion. Taking into account the results of the tests performed, it was shown that the absence of *Dysf*^{-/-} gene expression in Bla/J subline mice led to muscular dystrophy with the onset of the development of phenotypic disease manifestations at

the age of 12 weeks and their peak at 24 weeks. Histopathological phenotypic manifestations of the disease are generally nonspecific and corresponded to the data of intravital pathoanatomical examination in dysferlinopathy patients. The mice of the studied subline Bla/J are a representative model of dysferlinopathy and can be used to evaluate new therapeutic agents for the treatment of this disease.

Keywords: dysferlinopathy; DYSF gene; Myoshi's myopathy; muscular dystrophy; phenotyping; knockout; genotyping; animals; mouse model; B6.A-Dysf^{prmd}/GeneJ

Abbreviations: Bla/J – B6.A-Dysf^{prmd}/GeneJ; CK – creatine kinase; DNA – deoxyribonucleic acid; PCR – polymerase chain reaction; bp – base pairs; WT – wild-type mice; EDTA – ethylenediaminetetraacetic acid; Gas M – *M. gastrocnemius medialis*; Gas L – *M. gastrocnemius lateralis*; tib – *M. tibialis*.

ВВЕДЕНИЕ

Дисферлинопатия – это фенотипически гетерогенная прогрессирующая мышечная дистрофия, вызванная мутациями в гене DYSF (2p13), который кодирует трансмембранный белок дисферлин (230 кДа), участвующий в восстановлении сарколеммы. [1]. Дисферлинопатия включает в себя пресимптоматический этап бессимптомного повышения уровня креатинкиназы (КК) в крови и манифестный этап, характеризующийся прогрессирующим поражением проксимальных и/или дистальных мышц конечностей [2]. Различают пять основных фенотипов дисферлинопатии: дистальная миопатия Миоши (OMIM # 254130), поясно-конечностная мышечная дистрофия R2 (LGMD R2, OMIM # 253601); дистальная миопатия переднего ложа голени (дистальная, с началом в передней большеберцовой мышце (DMAT, OMIM # 606768); проксимально-дистальная форма (переходная форма) и врожденный фенотип [3]. Дисферлин состоит из семи доменов C2 и является трансмембранным белком скелетных мышц, также экспрессируемый кардиомиоцитами и моноцитами [4]. Основная роль дисферлина – Ca²⁺ зависимая репарация участков повреждения сарколеммы [5]. Дисферлинопатия манифестирует в диапазоне от позднего подросткового возраста, раннего взрослого возраста, с последующим неуклонным повышением проявлений признаков заболевания [6].

Манифестация заболевания приходится на поздний подростковый возраст – ранний взрослый возраст с последующим неуклонным прогрессированием мышечной слабости и утратой амбулаторного статуса в 35–45 лет [7].

Надлежащее проведение клинического испытания требует понимания особенностей прогрессирования заболевания и реагирования на различные показатели результатов с течением времени [8]. Сложность выбора показателей для клинических исследований дисферлинопатии определяется вариабельностью возраста манифестации, фенотипом, выраженностью мышечно-дистрофического процесса, переменной скоростью прогрессирования, модифицирующими факторами, которые в полной мере не выявлены [9]. Ранее показано, что оценка двигательной функции при дисферлинопатии, является надежными

методом объективизации, однако изменчивость скорости прогрессирования заболевания затрудняет демонстрацию реакции в небольших когортах [10, 11]. Установлено, что, несмотря на отсутствие экспрессии белка дисферлина в скелетных мышцах, наблюдается варьирование возраста манифестации, клинических проявлений и тяжести заболевания. Аналогичным образом, дисферлинопатия может прогрессировать с различной скоростью, даже при наличии одной и той же мутации [12, 13]. Описан ряд факторов, модифицирующих фенотип и скорость прогрессирования дисферлинопатии: степень и продолжительность физической активности и тип мутации (гомозиготность по нонсенс-мутациям), при отсутствии устойчивых клинико-генетических корреляций [14, 15].

ЦЕЛЬ. Поведенческое и патоморфологическое фенотипирование мышей, нокаутных по гену DYSF, играющему важнейшую роль в развитии и прогрессировании дисферлинопатии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Лабораторные животные

В работе использована сублиния мышей B6.A-Dysf^{prmd}/GeneJ (Bla/J), полученная из испытательного центра «Виварно-экспериментальный комплекс ООО «НИИ Митоинженерии МГУ». Когорты животных получены в результате скрещивания мышей линии A/J (#:000646), у которых была случайно обнаружена спонтанная инсерция в интроне 4, с мышами дикого типа C57BL/6J. Поддержание и размножение колонии проводили путем скрещивания мутантных животных между собой из одного помета.

Экспериментальные и контрольные (Bla/J, n=20; C57BL/6J, n=10 и 13) животные содержались в условиях беспатогенного вивария Белгородского государственного национального исследовательского университета (НИУ БелГУ) в условиях искусственно регулируемого светового дня (12 ч темного и 12 ч светлого времени) при температурном режиме от +22 до +26°C и имели свободный доступ к корму и воде. В работе руководствовались этическими принципами обращения с лабораторными животными в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (ETS

№ 170). Все болезненные манипуляции с животными проводились в соответствии с регламентирующими стандартами: Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях. Экспериментальные исследования были одобрены Биоэтической комиссией Белгородского государственного национального исследовательского университета (протокол № 15/10 от 29.10.2021). Вивисекция проводилась в соответствии с этическими принципами обращения с лабораторными животными, изложенными в Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях (CETS No. 123).

Поведенческие тесты проводились преимущественно в утренние часы при фиксированном «домашнем» освещении (для минимизации стрессового фактора). Были сформированы репрезентативные группы экспериментальных животных (гомозиготные нокауты – Vla/J , $n=20$), тестирование групп проводили на двух возрастных точках 12 и 24 недель и контрольных животных без модификации генома (WT, $n=10$ и 13 соответственно).

Тест «Перевернутая сетка»

Перевернутая сетка представляет собой проволочную сетку 45×45 см с размером ячеек 12×12 мм с диаметром проволоки 1 мм, окруженную перегородкой размером 4 см, предотвращающей попытку мыши перелезть на другую сторону. Тест используется для оценки координации движений и мышечной силы обеих пар конечностей. Мышей помещали в центр проволочной сетки, которую переворачивали и устанавливали на высоте 50 см над мягкой поверхностью. Регистрировалось время падения животного или животное снималось с сетки, если время достигало 180 сек. Оценка теста проводилась в баллах: чем больше времени животному удалось удержаться, тем выше был его балл [16–18].

Тест «Сила хватки»

Установка представляет собой сетку из нержавеющей стали, подключенной к датчику для измерения силы хватки (в граммах) передних конечностей мыши. Животному давали ухватиться за горизонтальную сетку передними лапами, а затем мышь оттягивали назад за хвост, пока ее хватка не ослабевала, при этом задние лапы мыши не должны касаться сетки. Датчик измерения силы сохранял пиковое значение силы тяги. Тест используется для изучения функции нейромышечной системы. Для анализа использовались среднее значения из 5 успешных измерений силы передних конечностей [19, 20].

Тест «Удержание на проволоке»

Тест основан на инстинкте мышей избегать падения. Мышь помещается на горизонтально натянутую проволоку с захватом всеми четырьмя конечностями (диаметр 3 мм, высота над поверхностью 60 см). Способность удерживаться на проволоке измеряется путем оценки времени удержания мыши до момента падения при помощи секундомера. В качестве итогового значения был взят наилучший результат двух попыток, пауза между которыми была 20 мин [21, 22].

Тест «Вынужденное плавание с грузом»

Физическую работоспособность животных в данном тесте оценивали по длительности плавания с грузом, который составляет 5% от массы тела (масса груза была найдена экспериментальным путем), прикрепленным к корню хвоста животного при помощи резиновой повязки. Массу животных определяли с точностью до 0,1 г, груз подбирали с точностью 0,01 г. Длительность тестирования (плавания) регистрировали при помощи секундомера с точностью до 1 сек. Окончанием эксперимента считался момент утомления животного, признаком которого являлась неспособность животного всплыть в течение 5 сек на поверхность воды или отказ от плавания (погружение на дно более, чем на 5 сек). Признаком утомления животного являлось нарушение моторно-координационной функции (вращением вокруг своей оси и заваливание на бок в толще воды).

Плавание проводили в сосудах из органического стекла с внутренним диаметром 30 см и высоты 60 см. Высота столба воды составляла 30 см, температура воды $23\pm 1^\circ\text{C}$ [23, 24].

Тест «Удержание животного на скользком вертикальном стержне»

В исследованиях на лабораторных животных для скрининга и оценки сохранности физической работоспособности использовалась в основном данная методика. Установка представляет из себя штатив с диаметром стержня 7 мм, высотой 60 см с установленным на верхушке пластиковым ограждением. Для проведения эксперимента животное помещали на одинаковом расстоянии от верхушки стержня строго вверх головой, не менее 1 м над полом. Фиксировали время падения животного со стержня при помощи секундомера. О сохранности физической работоспособности судили путем сравнения с контрольной группой [25].

Генотипирование трансгенных животных

Геномную ДНК для анализа получали с помощью биопсии уха (около 30 мг ткани). Биопсионный

материал помещали в лизирующий раствор, содержащий 100 мМ хлорида натрия, 50 мМ Трис-HCl (pH 8.0), 2 мМ этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА) и 2 мг/мл протеиназы К и инкубировали при 55°C в течение 12–16 ч, после чего прогревали реакционную смесь при 85°C в течение 40 мин. Центрифугировали лизат с помощью лабораторной центрифуги Thermo SL16R (Thermo Scientific, США) в течение 1 мин при 10 000 g и использовали 1 мкл супернатанта в качестве матрицы в реакции ПЦР.

Использовали последовательности праймеров из протокола JAX (Protocol 26095), амплифицирующие одновременно участок ретротранспозона (в случае его присутствия) и участок геномной ДНК животного. В реакции использовали смесь из 3-х праймеров:

1) обратный праймер DYSF-R (5': CTT CAC TGG GAA GTA TGT CG), гомологичный последовательности смысловой цепи интрона 4 гена DYSF, является общим;

2) прямой праймер DYSF-F (5': TTC CTC TCT TGT CGG TCT AG), гомологичный последовательности антисмысловой цепи интрона 4 гена Dysf, является общим;

3) специфичный прямой праймер ETn-oR (5': GCC TTG ATC AGA GTA ACT GTC), гомологичный последовательности длинных концевых повторов

(3' LTR) в составе встраиваемого в 4 интрон ретротранспозона.

Реакционная смесь содержала 1x Taq Turbo буфер (Евроген, Россия), 0,2 мМ каждого dNTP (Евроген, Россия), 0,5 мкМ каждого прямого праймера и 1 мкМ общего обратного праймера, 2 единицы HS Taq ДНК-полимеразы (Евроген, Россия). Программа амплификации состояла из следующих этапов:

1. Активация HS Taq ДНК-полимеразы при 95°C в течение 3 мин;
2. Денатурация при 95°C в течение 20 сек;
3. Отжиг при 60°C в течение 20 сек;
4. Элонгация при 72°C в течение 20 сек;
5. Циклическое повторение этапов 2–4 30 раз;
6. Конечная элонгация при 72°C в течение 2 мин.

Продукты амплификации разделяли электрофорезом в 3% агарозном геле в 1x TAE буфере (40 мМ Трис-HCl, 20 мМ уксусной кислоты, 1 мМ ЭДТА, 0,5 мкг/мл бромистого этидия) при 90 V в течение 60 мин.

Патогистологическое исследование

Материал включал тканевые фрагменты скелетных мышц *M. gastrocnemius medialis* (Gas M), *M. gastrocnemius lateralis* (Gas L), *M. tibialis* (tib), полученных от мышей линии Bla/J и мышей дикого типа (WT) с функциональным геном DYSF.

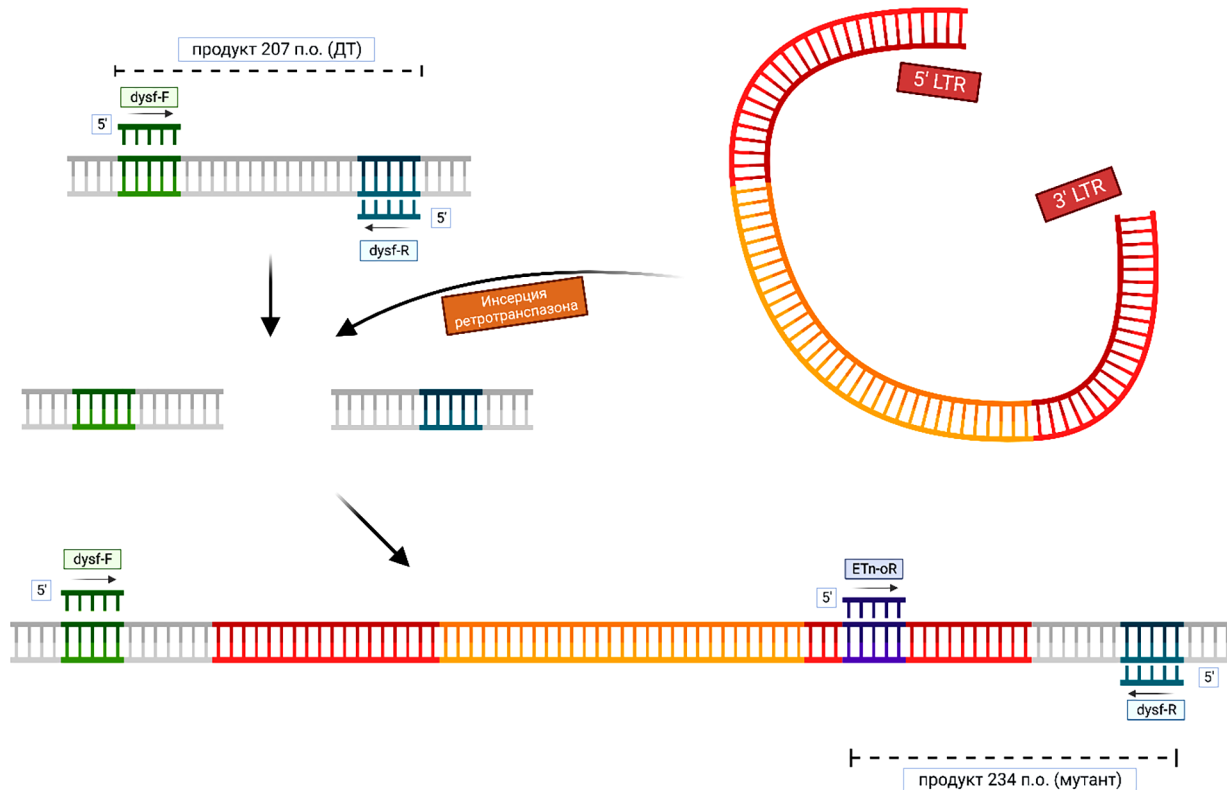


Рисунок 1 – Схема положения праймеров для амплификации геномного участка (дикий тип) и участка 3' LTR ретротранспозона (мутант)

Примечание: ДТ – дикий тип; DYSF-F – общий прямой праймер; DYSF-R – общий обратный праймер; ETn-OR – прямой праймер, гомологичный участку 3' LTR ретротранспозона; 5'LTR – 5'-длинные концевые повторы; 3'LTR – 3'-длинные концевые повторы.

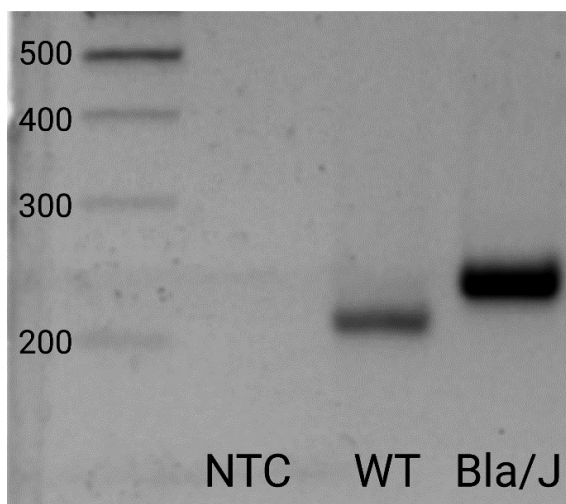


Рисунок 2 – Детектирование наличия ретротранспозона у Bla/J мышей методом ПЦР

Примечание: размер продукта WT (дикий тип) 204 п.о.; размер продукта Bla/J 237 п.о.; NTC – отрицательный контроль без матрицы.

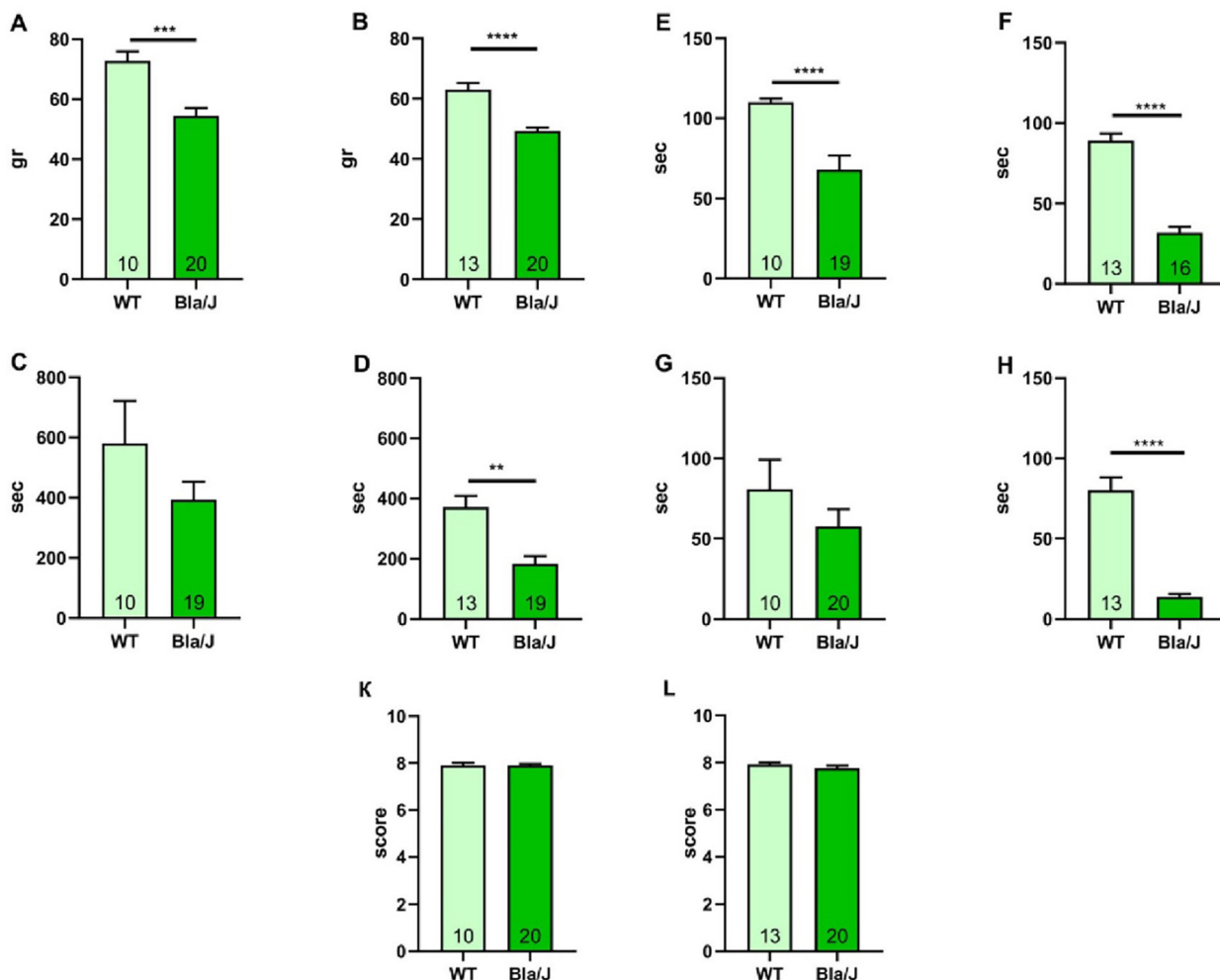


Рисунок 3 – Физиологические параметры мышей линии Bla/J

Примечание: анализ оценки силы хватки передних конечностей в тесте «Сила хватки» (A и B), выносливость в тесте «Принудительное плавание с грузом» (C и D), физическую работоспособность в тестах «Проволочный тест» (E и F) и «Удержание животного на скользком вертикальном стержне» (G и H), координации движений и мышечной силы конечностей в тесте «Перевернутая сетка» (K и L).

Экспериментальные Bla/J и контрольные мыши без модификации генома (WT) были протестированы в возрасте 12 (A, C, E, G, K) и 24 недель (B, D, F, H, L). Представлены медианы и стандартная ошибка среднего, количество животных указано в нижней части соответствующего столбца. Выборки проверены на нормальность, а статистическая достоверность оценивалась с помощью U-критерия Манна-Уитни (** p < 0,01; *** p < 0,0004, **** p < 0,0001).

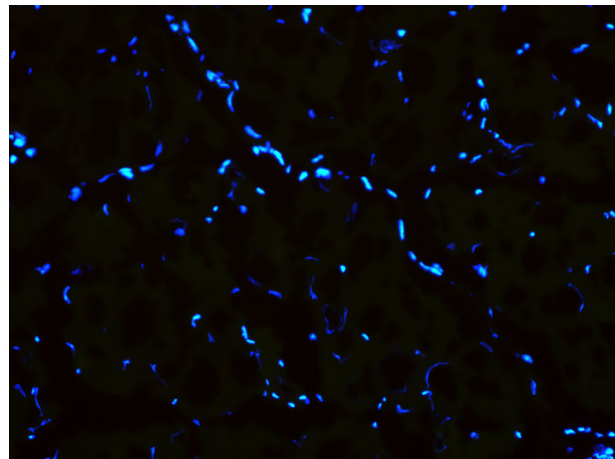
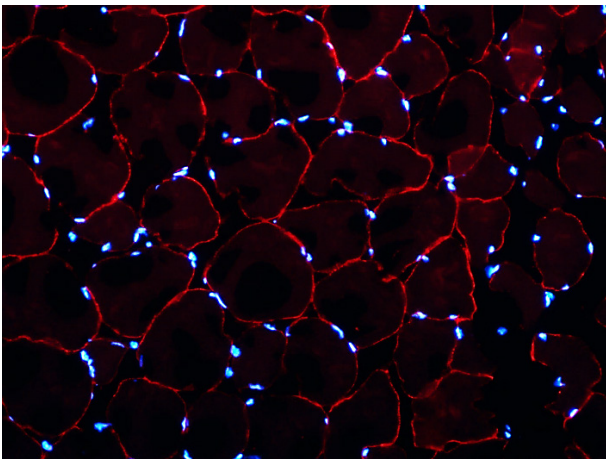


Рисунок 4 – Иммунофлуоресцентная реакция с антителами к дисферлину

Примечание: А – мышь C57Bl; Б – мышь линии Bla/J. Красный цвет – детектируемый дисферлин саркоплазматической локализации, синий цвет – ядра. Докраска: DAPI. Ув. ×200

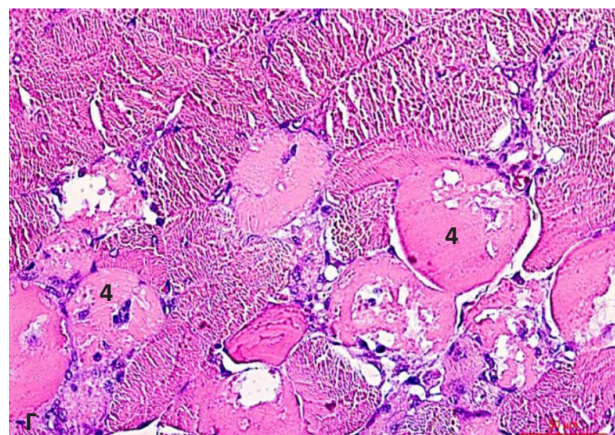
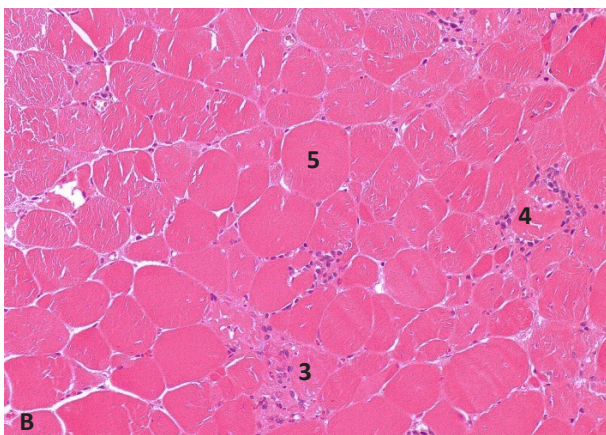
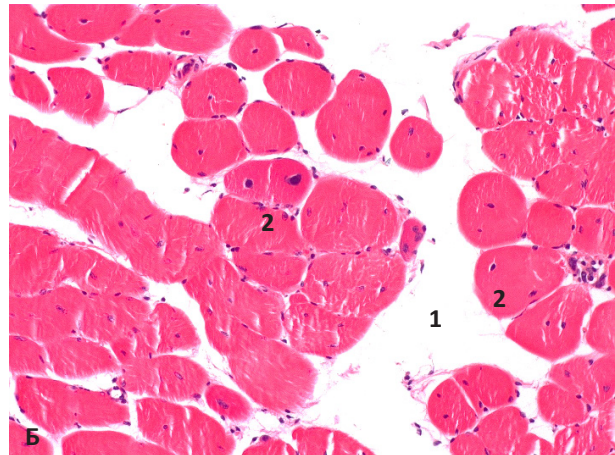
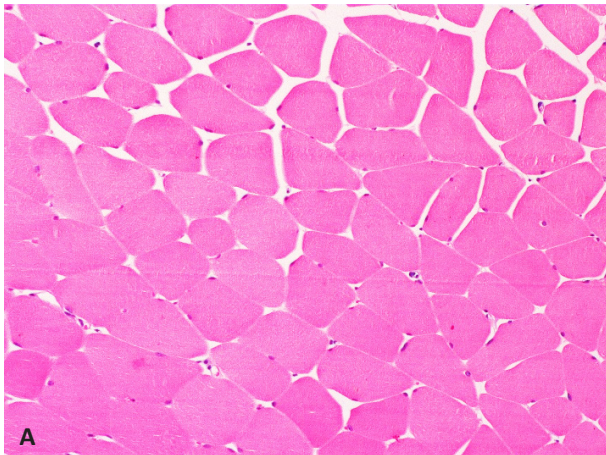


Рисунок 5 – Поперечно-полосатая скелетная мышечная ткань изученных животных

Примечание: А – контроль, C57Bl; Б–Г – Bla/J. 1 – эндомизиальный и перимизиальный отек; 2 – волокна с центрально расположенными ядрами; 3 – лимфо-макрофагальная инфильтрация вокруг некротизированных мышечных волокон; 4 – некротизированные мышечные волокна, в т.ч. с макрофагальной инвазией; 5 – округлые мышечные волокна. Окраска: эозин. Ув.: А–В ×200, Г ×400

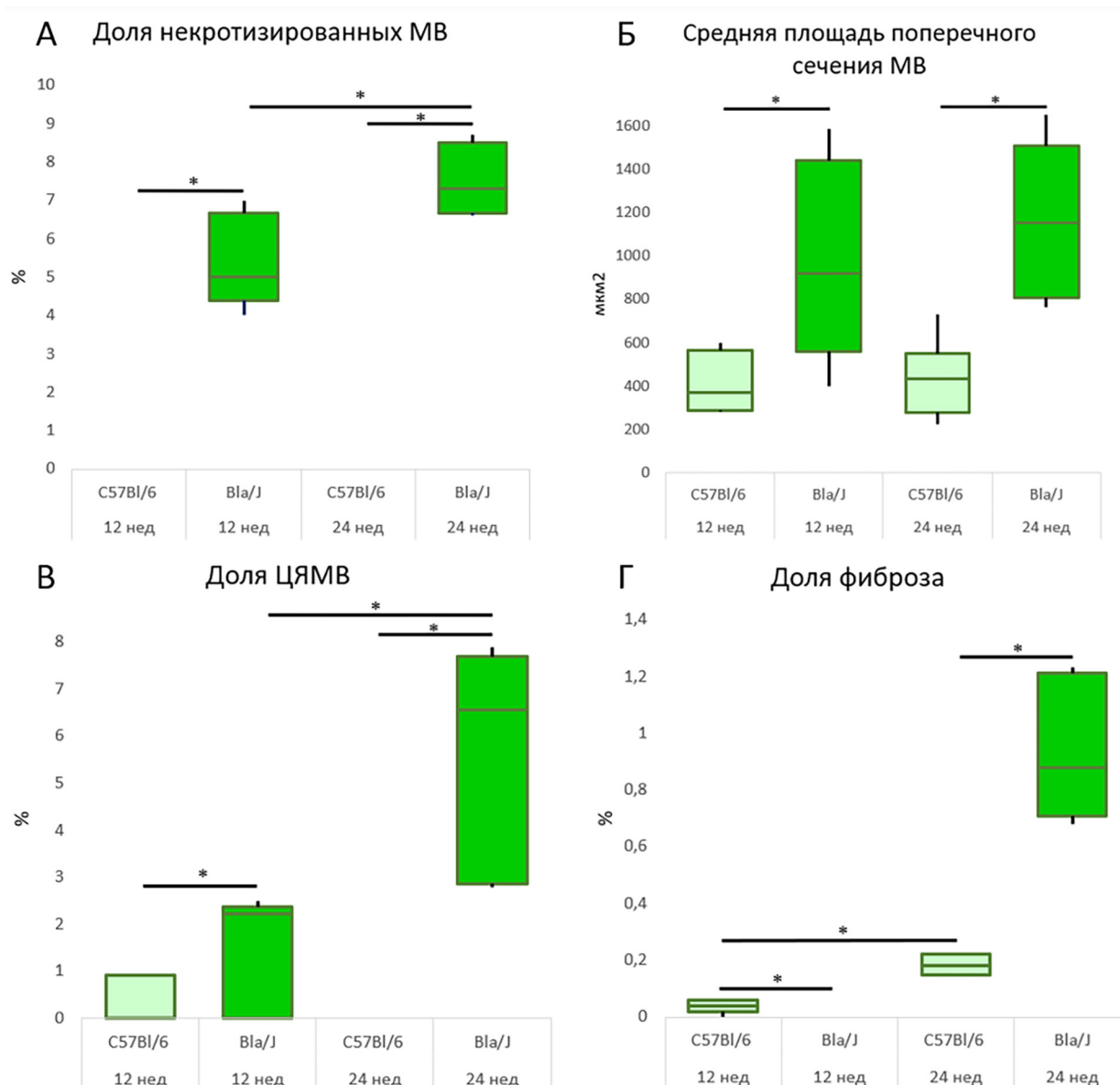


Рисунок 6 – Морфометрические параметры поперечно-полосатой скелетной мышечной ткани мышей линии Bla/J на сроках 12 и 24 недель жизни

Примечание: А – доля некротизированных мышечных волокон; Б – Средняя площадь поперечного сечения мышечного волокна; В – доля centrally ядерных мышечных волокон (ЦЯМВ); Г – доля соединительной ткани в скелетной мышце (* $p < 0,05$)

Криоконсервированный материал переносили в камеру криостата Thermo Fisher Scientific HM525 NX (США), где ориентировали на замораживающей платформе в монтирующем геле NEG-50 (Richard-Allan Scientific, TS, США). Получали срезы толщиной 3–7 мкм. Предметные стекла с криосрезами на 10 мин фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине (Биовитрум, Россия). Далее 3 раза по 5 мин промывали в буферном растворе Трис-HCL pH 7,4 (Невареактив, Россия); наносили раствор Background Block (Cell Marque, США), перемещали криосрезы во влажную камеру, где инкубировали в течение 1 ч. Протеиновый блок удаляли смыванием, затем на криосрезы наносили первичные рекомбинантные

моноклональные кроличьи антителами к дисферлину (клон: JAI-1-49-3; ab124684; Abcam, Великобритания), разведённые в соотношении 1:200 с раствором Diamond: Antibody Diluent (Cell Marque, 938B-05, США), в которых выдерживали криосрезы 2 ч при комнатной температуре во влажной камере. По прошествии времени срезы трехкратно промывали в буферном растворе Трис-HCL, после чего проводили 1-часовую инкубацию при комнатной температуре во влажной камере с вторичными козлиными анти-кролик антителами IgG H&L (Alexa Fluor 555, abcam, ab150078, Великобритания), разведёнными в соотношении 1:500 с раствором Diamond: Antibody Diluent. По прошествии часа, срезы промывали 4

раза в буферном растворе Трис-HCL, и инкубировали в рабочем растворе DAPI (Thermo FS, D1306, США) на протяжении 10 мин. Заключение осуществляли в монтирующую среду глицерогеля по Кайзеру.

Для изготовления парафиновых срезов, тканевый материал после фиксации подвергали стандартной гистологической проводке, заливке в парафин и микротомированию. После депарафинирования срезы окрашивали гематоксилином и эозином по общепринятой методике. Фотодокументацию осуществляли с помощью компьютерного видеокомплекса (IBM PC + микроскоп Leica DM 1000, Германия) и пакета программ ImageScore-M (Россия).

В качестве оцениваемых параметров, для морфометрии на основании ранее проведенных исследований [26, 27], были выбраны: площадь поперечного сечения мышечного волокна, а также число волокон с интернализированным ядром и число некрозов по отношению к общему числу волокон в поле зрения.

Статистическая обработка

Статистическую обработку проводили с помощью программы GraphPad Prism Software 8.0 ("GraphPad Software Inc", США). В зависимости от типа распределения признаков и равенства дисперсий значимость полученных результатов оценивали с применением параметрического (ANOVA) или непараметрического (критерий Краскела-Уоллиса) однофакторного дисперсионного анализа, а в качестве *post-hoc* анализа для выявления различий при межгрупповых сравнениях использовали непарный *t*-критерий Стьюдента или критерий Манна-Уитни, соответственно, с поправкой Бенджамини-Хохберга на множественную проверку гипотез. Результаты считали достоверными при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Для формирования репрезентативных групп экспериментальных и контрольных животных, синхронизированных по возрасту, сначала получали соответствующее задачам эксперимента количество родственных производителей. Скрещивание гомозиготных мышей с мутацией производили с мышами такого же генотипа на том же генетическом фоне, полученными в предыдущих скрещиваниях. Потомство генотипировали методом конвенционной ПЦР с использованием трёх праймеров, один из которых специфичен к мутации.

Схематическое изображение положения праймеров для амплификации встроенного ретротранспозона представлено на рисунке 1.

У мутантных мышей ретротранспозон размером более 6 тыс. пар оснований (п.о.) встроен в последовательность четвёртого интрона гена *DYSF*, что позволяло использовать систему из трёх праймеров для идентификации локализованной

мутации в аллеле. *DYSF-F* гомологичен участку геномной последовательности интрона, находящегося перед встраиваемой последовательностью ретротранспозона. Благодаря этому в случае отжига праймера на мутантном аллеле синтезируемая цепь не успеет амплифицироваться до участка, гомологичного обратному праймеру – ампликон размером более 6 тыс. п.о. не будет формироваться и накапливаться в большом количестве в ходе ПЦР. *ETn-oR* гомологичен участку ретротранспозона в составе длинных концевых повторов (со стороны 3' LTR), что в сочетании с обратным праймером *DYSF-F*, гомологичным участку геномной последовательности интрона, позволяет фланкировать 193 нуклеотидные пары. Такая схема расположения праймеров приводила к успешному разделению мутантных и дикотипных животных в результате проведения конвенционной ПЦР (Рис. 2) [28, 29].

Но М. и соавт. было показано встраивание ретротранспозона в определённый участок интрона 4 (495 пар оснований от экзона 4 и около 4400 пар оснований до экзона 5) с замещением 6 п.о. [30]. Результаты проведённого нами генотипирования подтверждали наличие мутации в гомозиготной форме исследуемых животных.

В результате амплификации образцов животных дикого типа образовывался фрагмент размером 204 п.о. У животных *Bla/J*, гомозиготных по мутантной аллели, после амплификации последовательности гена *DYSF* формировался фрагмент длиной 237 п.о. (маркер 100+bp DNA Ladder).

Для исследования двигательной функции были сформированы репрезентативные группы экспериментальных животных (гомозиготные нокауты – *Bla/J*) ($n=20$), тестирование групп проводили на двух возрастных точках 12 и 24 недели и контрольных животных без модификации генома (*WT*) ($n=10$ и 13 соответственно).

Сила передних конечностей в тесте «Сила хватки» была значительно снижена у контрольных мышей по сравнению с мышами линии *Bla/J* в обеих возрастных точках (Рис. 3 А и В). При проведении теста «Принудительное плавание с грузом» (Рис. 3 С и D) было выявлено различие между контрольной группой мышей и экспериментальной в возрасте 24 недели и в возрасте 12 недель соответственно. Это свидетельствовало о снижении выносливости мышей в возрасте 24 недели при развивающейся патологии.

Были проведены тесты на сохранность физической работоспособности: «Удержание на проволоке» (Рис. 3 Е и F) и «Удержание животного на скользком вертикальном стержне» (Рис. 3 G и H). В результате проведенных тестов было выявлено, что в 24 недели наблюдалось снижение физической работоспособности у мышей линии *Bla/J* по сравнению с линией *C57BL/6J*.

Координация движений и мышечная сила конечностей в тесте «Перевернутая сетка» у животных обеих групп (Рис. 3 К и L) статистически значимо не различались. Таким образом, в данных возрастных отметках исследуемые показатели не изменялись.

При постановке иммунофлюоресцентных реакций с антителами к белку дисферлину в образцах мутантных животных указанный протеин не был обнаружен; в контрольных тканях выявлена сарколеммальная локализация дисферлина, что соответствует каноническим описаниям для скелетной мышечной ткани (Рис. 4).

Патогистологически изученная мышечная ткань при исследовании поперечных срезов характеризовалась возрастным нарастанием миопатического паттерна и нарушением архитектуры ткани. В отличие от поперечных срезов мышечной ткани мышей WT, волокна оцениваемых животных характеризовались полиморфностью поперечных сечений и разноразмерностью. Кроме этого, по сравнению с мышами WT, поперечное сечение у Bla/J было большего диаметра: в значительном количестве присутствовали так называемые круглые мышечные волокна. Для мышечной ткани исследуемых животных были характерны некрозы единичных мышечных волокон, чье число увеличивалось к возрасту 24 недели. Вокруг фокальных некрозов может быть отмечено скопление лейкоцитов, а также инвазия макрофагов под базальную мембрану волокна и фагоцитоз наркотизированной части саркоплазмы. Важным диагностическим критерием являлось выраженное число волокон с центрально расположенными ядрами (центральное ядерные мышечные волокна), что в научной литературе трактуется как деструкция цитоскелета мышечных волокон и/или активная регенерационного процесса с появлением мышечных трубочек.

Обращает на себя внимание отек эндомизия и перимизия, а также маловыраженная лимфомакрофагальная инфильтрация (Рис. 5). С увеличением продолжительности жизни мутантных животных отмечалась гиперплазия эндомизия и перимизия, что выражалось в увеличении доли соединительной ткани в составе мышечного органа (Рис. 6).

При морфометрической оценке и статистической обработке основных параметров ткани установлены значимые отличия у мышей WT по числу некротизированных мышечных волокон – как при сравнении показателя на сроках 12 и 24 недели, так и между линиями животных. Установлены внутри- и межгрупповые значимые различия по показателям: доля центральное ядерных мышечных волокон, средняя площадь поперечного сечения мышечных волокон и доля соединительной ткани (Рис. 6). Как показали ранее проведенные исследования,

увеличение поперечного сечения мышечных волокон следует рассматривать как компенсаторную рабочую гипертрофию в связи с гибелью части структурных единиц мышцы. При более длительном сроке наблюдения за животными установлен срыв этого процесса и постепенная атрофия мышцы, что в дальнейшем сопровождалось снижением этого показателя.

ОБСУЖДЕНИЕ

Идентификация репрезентативной *in vivo* модели дисферлинопатии имеет важное значение для поиска новых терапевтических мишеней и изучения фармакологической активности новых лекарственных средств, направленных на лечение эданной патологии. Основные линии мышечных моделей дисферлинопатии с полным отсутствием экспрессии дисферлина включают линии животных A/J^{dysf^{-/-}} (A/J), SJL/J^{dysf^{-/-}} (SJL/J) и Bla/J^{dysf^{-/-}} (Bla/J; B6.A-Dysf^{prmd}/GeneJ), которые имеют сходные, с незначительными изменениями, фенотипические проявления заболевания [31] и выраженную гистопатологию [32].

Результаты исследований, изучающих мышечную функцию у мышей с отсутствием экспрессии дисферлина (Dysf^{-/-}), показали противоречивые результаты. Отсутствие достаточной повторяемости и воспроизводимости результатов доклинических исследований, характеризующих линии мышечных дисферлинопатией, могут быть частично обусловлены разницей в тяжести заболевания и фенотипическими проявлениями у конкретных линий Dysf^{-/-} мышечных различного происхождения и/или отсутствием подходящих контрольных колоний мышечных дикого типа для их сравнения [33].

В ходе настоящего исследования нами были сформированы репрезентативные группы экспериментальных (гомозиготные нокауты Dysf^{-/-}– Bla/J) и контрольных животных (C57Bl/6), синхронизированных по возрасту, которые в дальнейшем были прогенотипированы методом конвенционной ПЦР. Авторы использовали последовательности праймеров из протокола JAX (Protocol 26095), амплифицирующие одновременно участок ретротранспозона (в случае его присутствия) и участок геномной ДНК животного. Отсутствие экспрессии гена DYSF у мышечных линий Bla/J приводило к мышечной дистрофии, вследствие чего заболевание начинало развиваться с 12 недели жизни животного, а пик фенотипических проявлений можно было наблюдать на 24 неделе.

При проведении поведенческого тестирования авторами было показано, что физическая активность и выносливость исследуемых животных понижается с возрастом в сравнении с контрольной группой. Что подтверждает тест «Сила хватки», в котором показатели снижались в сравнении с контролем на

22,2% в 12 недель, на 25,1% в 24 недели и на 9,5% между опытными группами в двух возрастных точках (54,47±2,659 и 49,27±1,157 соответственно). При проведении теста «Принудительное плавание с грузом» было выявлена разница в сравнении с контролем на 32,3% в 12 недель, на 50,5% в 24 недели и на 53,3% между опытными группами в двух возрастных точках (393,6±59,26 и 183,8±24,94). Сохранность физической работоспособности проверяли при помощи следующих тестов: «Проволочный тест» (68,00±8,809; 31,81±3,637) и «Удержание животного на скользком вертикальном стержне» (13,67±1,875), которые показали снижение результатов у исследуемых животных в 24 недели по сравнению с контролем на 64,4% и 82,9% соответственно. Данные по критериям координации движений и мышечной силы конечностей, исследуемые в тесте «Перевернутая сетка», в данных возрастах не изменялись.

Результаты, полученные в ходе проведения поведенческого тестирования, а именно уменьшение силы хватки передних конечностей и снижение физической выносливости с возрастом отражает прогрессирование основного мышечного заболевания у исследуемых животных. На основании этого можно сделать вывод о том, что изученная экспериментальная модель описывает клиническую картину дисферлинопатии у пациентов с данным заболеванием.

Также проведенное гистологическое исследование показало, что с увеличением продолжительности жизни мутантных животных отмечалась гиперплазия эндомизия и перимизия, что выражалось в увеличении доли соединительной ткани в составе мышечного органа. Установлены

внутри- и межгрупповые значимые различия по показателям: доля центральоядерных мышечных волокон; средняя площадь поперечного сечения мышечных волокон; доля соединительной ткани. Как показали ранее проведенные исследования, увеличение поперечного сечения мышечных волокон следует рассматривать как компенсаторную рабочую гипертрофию в связи с гибелью части структурных единиц мышцы. При более длительном сроке наблюдения за животными был установлен срыв этого процесса и постепенная атрофия мышцы, что в дальнейшем сопровождалось снижением этого показателя.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

С использованием таких тестов, как: «Перевернутая сетка», «Сила хватки», «Удержание на проволоке», «Вынужденное плавание с грузом», «Удержание животного на скользком вертикальном стержне» было установлено, что отсутствие экспрессии гена *Dysf^{frmd}* у мышей сублинии *Bla/J B6.A-Dysf^{frmd}/GeneJ (Bla/J)* может приводить к мышечной дистрофии. Данная патология проявляла себя с начала развития фенотипических проявлений болезни с 12 недели жизни и пиком фенотипических проявлений к 24 неделе жизни животных. Патогистологические фенотипические проявления болезни в целом неспецифичны и соответствовали данным прижизненного патологоанатомического исследования у пациентов с диферлинопатией.

Мыши сублинии *B6.A-Dysf^{frmd}/GeneJ (Bla/J)* являются репрезентативной моделью дисферлинопатии и могут быть использованы для оценки новых терапевтических средств для лечения данного заболевания.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Исследование выполнено при финансовой поддержке Минобрнауки Российской Федерации, Соглашение №075-15-2021-1346.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

М.В. Корокин – написание статьи, разработка дизайна исследования; Е.В. Кузубова – оценка и проведение поведенческих тестов, интерпретация результатов; А.И. Радченко – оценка и проведение поведенческих тестов, написание статьи; К.Д. Чапров – написание статьи, интерпретация результатов; А.В. Дейкин – анализ литературы; Н.С. Жунусов – подготовка когорт животных, генотипирование; А.М. Краюшкина – подготовка когорт животных, генотипирование; Н.В. Екимова – формализация списка литературы, наблюдение и уход за животными, хендлинг животных; О.А. Пученкова – забор образцов для гистологического исследования; Р.В. Деев – консультация по вопросам планирования, методологии и реализации эксперимента; С.Н. Бардаков – анализ литературы; О.Н. Чернова – пробоподготовка образцов для гистологического исследования, морфологическое описание срезов мышечной ткани; В.М. Покровский – планирование исследования, этапов экспериментальных работ; И.А. Яковлев – разработка дизайна и написание программы исследования; А.М. Емелин – пробоподготовка образцов для гистологического исследования, морфологическое описание срезов мышечной ткани; И.С. Лимаев – пробоподготовка гистологических срезов, работа с графическим материалом.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Reash N.F., James M.K., Alfano L.N., Mayhew A.G., Jacobs M., Iammarino M.A., Holsten S., Sakamoto C., Tateishi T., Yajima H., Duong T., de Wolf B., Gee R., Bharucha-Goebel D.X., Bravver E., Mori-Yoshimura M., Bushby K., Rufibach L.E., Straub V., Lowes L.P.; Jain COS Consortium. Comparison of strength testing modalities in dysferlinopathy // *Muscle Nerve*. – 2022. – Vol. 66, No. 2. – P. 159–166. DOI: 10.1002/mus.27570
2. Contreras-Cubas C., Barajas-Olmos F., Frayre-Martínez M.I., Siordia-Reyes G., Guízar-Sánchez C.C., García-Ortiz H., Orozco L., Baca V. Dysferlinopathy misdiagnosed with juvenile polymyositis in the pre-symptomatic stage of hyperCKemia: a case report and literature review // *BMC Med. Genomics*. – 2022. – Vol. 15, No. 1. – Art. No. 139. DOI: 10.1186/s12920-022-01284-y
3. Bardakov S.N., Tsargush V.A., Carlier P.G., Nikitin S.S., Kurbatov S.A., Titova A.A., Umakhanova Z.R., Akhmedova P.G., Magomedova R.M., Zheleznyak I.S., Emelyantsev A.A., Berezhnaya E.N., Yakovlev I., Isaev A.A., Deev R.V. Magnetic resonance imaging pattern variability in dysferlinopathy // *Acta Myol.* – 2021. – Vol. 40, No. 4. – P. 158–171. DOI: 10.36185/2532-1900-059
4. Seo K., Kim E.K., Choi J., Kim D.S., Shin J.H. Functional recovery of a novel knockin mouse model of dysferlinopathy by readthrough of nonsense mutation // *Mol. Ther. Methods Clin. Dev.* – 2021. – Vol. 1, No. 21. – P. 702–709. DOI: 10.1016/j.omtm.2021.04.015
5. Kokubu Y., Nagino T., Sasa K., Oikawa T., Miyake K., Kume A., Fukuda M., Fuse H., Tozawa R., Sakurai H. Phenotypic Drug Screening for Dysferlinopathy Using Patient-Derived Induced Pluripotent Stem Cells // *Stem Cells Transl. Med.* – 2019. – Vol. 8, No. 10. – P. 1017–1029. DOI: 10.1002/sctm.18-0280
6. Корокин М.В., Солдатов В.О., Гудырев О.С., Коклин И.С., Таран Э.И., Мишенин М.О., Корокина Л.В., Кочкаров А.А., Покровский М.В., Варакин М.В., Чупахин О.Н. Роль метаболизма кортизола в реализации патогенетического звена развития остеопороза – обоснование поиска новых фармакотерапевтических мишеней (обзор) // *Научные результаты биомедицинских исследований*. – 2022. – Т. 8, № 4. – С. 457–473. DOI: 10.18413/2658-6533-2022-8-4-0-5
7. Fanin M., Angelini C. Progress and challenges in diagnosis of dysferlinopathy // *Muscle Nerve*. – 2016. – Vol. 54, No. 5. – P. 821–835. DOI: 10.1002/mus.25367
8. Кузубова Е.В., Радченко А.И., Покровский В.М., Патраханов Е.А., Новикова А.А., Степенко Ю.В., Дейкин А.В. Патологические состояния, ассоциированные с белком тау: механизмы развития и возможные биологические мишени для фармакологической коррекции тау-протеинопатии (обзор) // *Научные результаты биомедицинских исследований*. – 2022. – Т. 8, № 4. – С. 474–479. DOI: 10.18413/2658-6533-2022-8-4-0-6
9. Moore U., Jacobs M., James M.K., Mayhew A.G., Fernandez-Torron R., Feng J., Snaan A., Eagle M., Bettinson K., Rufibach L.E., Lofra R.M., Blamire A.M., Carlier P.G., Mittal P., Lowes L.P., Alfano L., Rose K., Duong T., Berry K.M., Montiel-Morillo E., Pedrosa-Hernández I., Holsten S., Sanjak M., Ashida A., Sakamoto C., Tateishi T., Yajima H., Canal A., Ollivier G., Decostre V., Mendez J.B., Sánchez-Aguilera Praxedes N., Thiele S., Siener C., Shierbecker J., Florence J.M., Vandeveld B., DeWolf B., Hutchence M., Gee R., Prügel J., Maron E., Hilsden H., Lochmüller H., Grieben U., Spuler S., Tesi Rocha C., Day J.W., Jones K.J., Bharucha-Goebel D.X., Salort-Campana E., Harms M., Pestronk A., Krause S., Schreiber-Katz O., Walter M.C., Paradas C., Hogrel J.Y., Stojkovic T., Takeda S., Mori-Yoshimura M., Bravver E., Sparks S., Díaz-Manera J., Bello L., Semplicini C., Pegoraro E., Mendell J.R., Bushby K., Straub V.; Jain COS Consortium. Assessment of disease progression in dysferlinopathy: A 1-year cohort study // *Neurology*. – 2019. – Vol. 92, No. 5. – P. 461–474. DOI: 10.1212/WNL.0000000000006858
10. Harris E., Bladen C.L., Mayhew A., James M., Bettinson K., Moore U., Smith F.E., Rufibach L., Cnaan A., Bharucha-Goebel D.X., Blamire A.M., Bravver E., Carlier P.G., Day J.W., Díaz-Manera J., Eagle M., Grieben U., Harms M., Jones K.J., Lochmüller H., Mendell J.R., Mori-Yoshimura M., Paradas C., Pegoraro E., Pestronk A., Salort-Campana E., Schreiber-Katz O., Semplicini C., Spuler S., Stojkovic T., Straub V., Takeda S., Rocha C.T., Walter M.C., Bushby K.; Jain COS Consortium. The Clinical Outcome Study for dysferlinopathy: An international multicenter study // *Neurol. Genet.* – 2016. – Vol. 2, No. 4. – Art. ID: e89. DOI: 10.1212/NXG.000000000000089
11. Jacobs M.B., James M.K., Lowes L.P., Alfano L.N., Eagle M., Muni L.R., Moore U., Feng J., Rufibach L.E., Rose K., Duong T., Bello L., Pedrosa-Hernández I., Holsten S., Sakamoto C., Canal A., Sanchez-Aguilera Praxedes N., Thiele S., Siener C., Vandeveld B., DeWolf B., Maron E., Guglieri M., Hogrel J.Y., Blamire A.M., Carlier P.G., Spuler S., Day J.W., Jones K.J., Bharucha-Goebel D.X., Salort-Campana E., Pestronk A., Walter M.C., Paradas C., Stojkovic T., Mori-Yoshimura M., Bravver E., Díaz-Manera J., Pegoraro E., Mendell J.R.; Jain COS Consortium, Mayhew A.G., Straub V. Assessing Dysferlinopathy Patients Over Three Years With a New Motor Scale // *Ann. Neurol.* – 2021. – Vol. 6, No. 1. – P. 967–978. DOI: 10.1002/ana.26044
12. Mercuri E., Muntoni F. Muscular dystrophies // *Lancet*. – 2013. – Vol. 9, No. 381. – P. 845–860. DOI: 10.1016/S0140-6736(12)61897-2
13. Crudele J.M., Chamberlain J.S. AAV-based gene therapies for the muscular dystrophies // *Hum. Mol. Genet.* – 2019. – Vol. 28, No. 1. – P. 102–107. DOI: 10.1093/hmg/ddz128
14. Niewiadomski W., Palasz E., Skupinska M., Zylinski M., Steczkowska M., Gasiorowska A., Niewiadomska G., Riedel G. TracMouse: A computer aided movement analysis script for the mouse inverted horizontal grid test // *Sci. Rep.* – 2016. – Vol. 16, No. 6. – Art. ID: 39331. DOI: 10.1038/srep39331
15. Лысикова Е.А., Чапров К.Д. Нокаут генов α -, β -, и γ -синуклеинов у мышей приводит к изменению содержания ряда липидов в печени и плазме крови // *Научные результаты биомедицинских исследований*. – 2022. – Т. 8, № 4. – С. 448–456. DOI: 10.18413/2658-6533-2022-8-4-0-4
16. Чапров К.Д., Тетерина Е.В., Роман А.Ю., Иванова Т.А., Голоборщев В.В., Кучеряну В.Г., Морозов С.Г., Лысикова Е.А., Лыткина О.А., Королева И.В., Попова Н.Я., Антохин А.И., Овчинников Р.К., Кухарский М.С. Сравнительный анализ нейротоксического эффекта МФТП на двух линиях мышей с конститутивным нокаутом гена альфа-синуклеина // *Молекулярная*

- биология. – 2021. Т. 55. – №1. – С. 152–163. DOI: 10.31857/S0026898421010031
17. Spurney C.F., Gordish-Dressman H., Guerron A.D., Sali A., Pandey G.S., Rawat R., Van Der Meulen J.H., Cha H.J., Pistilli E.E., Partridge T.A., Hoffman E.P., Nagaraju K. Preclinical drug trials in the mdx mouse: assessment of reliable and sensitive outcome measures // *Muscle Nerve*. – 2009. – Vol. 39, No. 5. – P. 591–602. DOI: 10.1002/mus.21211
 18. Reeves S.L., Fleming K.E., Zhang L., Scimemi A. M-Track: A New Software for Automated Detection of Grooming Trajectories in Mice // *PLoS Comput. Biol.* – 2016. – Vol. 12, No. 9. – Art. ID: No. e1005115. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1005115
 19. Nagaraju K., Raben N., Loeffler L., Parker T., Rochon P.J., Lee E., Danning C., Wada R., Thompson C., Bahtiyar G., Craft J., Hooft Van Huijsdijnen, R., Plotz P. Conditional up-regulation of MHC class I in skeletal muscle leads to self-sustaining autoimmune myositis and myositis-specific autoantibodies // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2000. – Vol. 97, No. 16. – P. 9209–9214. DOI: 10.1073/pnas.97.16.9209
 20. García-Campos P., Báez-Matus X., Jara-Gutiérrez C., Paz-Araos M., Astorga C., Cea L.A., Rodríguez V., Bevilacqua J.A., Caviedes P., Cárdenas A.M. N-Acetylcysteine Reduces Skeletal Muscles Oxidative Stress and Improves Grip Strength in Dysferlin-Deficient Bla/J Mice. *Int. J. Mol. Sci.* – 2020. – Vol. 21, No. 12. – Art. No. 4293. DOI: 10.3390/ijms21124293
 21. Veniaminova E., Oplatchikova M., Bettendorff L., Kotenkova E., Lysko A., Vasilevskaya E., Kalueff A.V., Fedulova L., Umriukhin A., Lesch K.P., Anthony D.C., Strekalova T. Prefrontal cortex inflammation and liver pathologies accompany cognitive and motor deficits following Western diet consumption in non-obese female mice // *Life Sci.* – 2020. – Vol. 241. – Art. No. 117163. DOI: 10.1016/j.lfs.2019.117163
 22. Спасов А.А., Жуковская О.Н., Мальцев Д.В., Мирошников М.В., Скрипка М.О., Султанова К.Т., Морковник А.С. Анксиолитическая активность производных 11 Н-2,3,4,5-тетрагидро[1,3] диазепино[1,2-а]бензимидазола и 2-меркаптобензимидазола // *Биоорганическая химия*. – 2021. – Т. 46, № 1. – P. 92–100. DOI: 10.31857/S0132342320010145
 23. Полякова Л.В., Жукова Е.С., Иркаева А.М., Чугунова В.В., Щербатюк Т.Г., Позднякова М.А., Умнягина И.А. Концепция применения теста «вынужденное плавание с грузом» для экспериментального моделирования трудового процесса на лабораторных животных. Тезисы Девятой конференции специалистов по лабораторным животным Rus-LASA // *Лабораторные животные для научных исследований*. – 2021. – №4. DOI: 10.29296/2618723X-RusLASA2021-06
 24. Зайцева М.С., Иванов Д.Г., Александровская Н.В. Работоспособность крыс в тесте «Вынужденное плавание с грузом» и причины её вариабельности // *Биомедицина*. – 2015. – No. 4. – P. 30–42.
 25. Шустов Е.Б., Новиков В.С., Берзин И.А., Ким А.Е., Болотова В.Ц. Функциональное спортивное питание для единоборцев: разработка и критерии эффективности // *Биомедицина*. – 2017. – №1. – С. 10–23.
 26. Chernova O.N., Chekmareva I.A., Mavlikeev M.O., Yakovlev I.A., Kiyasov A.P., Deev R.V. Structural and ultrastructural changes in the skeletal muscles of dysferlin-deficient mice during postnatal ontogenesis // *Ultrastruct. Pathol.* – 2022. – Vol. 46, No. 4. – P. 359–367. DOI: 10.1080/01913123.2022.2105464
 27. Chernova O.N., Mavlikeev M.O., Kiyasov A.P., Bozo I.Y., Deev R.V. Reactive Changes in Elements of Stromal-Vascular Differons of Dysferlin-Deficient Skeletal Muscles after Procaine Injection // *Bull. Exp. Biol. Med.* – 2021. – Vol. 170, No. 5. – P. 677–681. DOI: 10.1007/s10517-021-05131-5
 28. Chakravorty S., Nallamilli B.R.R., Khadilkar S.V., Singla M.B., Bhutada A., Dastur R., Gaitonde P.S., Rufibach L.E., Gloster L., Hegde M. Clinical and Genomic Evaluation of 207 Genetic Myopathies in the Indian Subcontinent // *Front. Neurol.* – 2020. – No. 11. – Art. No. 559327. DOI: 10.3389/fneur.2020.559327
 29. Хухарева Д.Д., Гусева К.Д., Суханова Ю.А., Себенцова Е.А., Левицкая Н.Г. Физиологические эффекты острой неонатальной нормобарической гипоксии у мышей линии C57BL/6 // *Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова*. – 2020. – Т. 70, № 4. – С. 515–527. DOI: 10.31857/S0044467720040048
 30. Ho M., Post C.M., Donahue L.R., Lidov H.G., Bronson R.T., Goolsby H., Watkins S.C., Cox G.A., Brown R.H. Disruption of muscle membrane and phenotype divergence in two novel mouse models of dysferlin deficiency // *Hum. Mol. Gen.* – 2004. – Vol. 13, No. 18. – P. 1999–2010. DOI: 10.1093/hmg/ddh212
 31. Hornsey M.A., Laval S.H., Barresi R., Lochmüller H., Bushby K. Muscular dystrophy in dysferlin-deficient mouse models // *Neuromuscul. Disord.* – 2013. – Vol. 23, No. 5. – P. 377–387. DOI: 10.1016/j.nmd.2013.02.004
 32. Grounds M.D., Terrill J.R., Radley-Crabb H.G., Robertson T., Papadimitriou J., Spuler S., Shavlakadze T. Lipid accumulation in dysferlin-deficient muscles // *Am. J. Pathol.* – 2014. – Vol. 184, No. 6. – P. 1668–1676. DOI: 10.1016/j.ajpath.2014.02.005
 33. Lloyd E.M., Xu H., Murphy R.M., Grounds M.D., Pinniger G.J. Dysferlin-deficiency has greater impact on function of slow muscles, compared with fast, in aged BLA/J mice // *PLoS One*. – 2019. – Vol. 14, No. 4. – Art. ID: No. e0214908. DOI: 10.1371/journal.pone.0214908

АВТОРЫ

Корокин Михаил Викторович – доктор медицинских наук, доцент кафедры фармакологии и клинической фармакологии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». ORCID ID: 0000-0001-5402-0697. E-mail: korokin@bsu.edu.ru

Кузубова Елена Валерьевна – младший научный

сотрудник лаборатории генетических технологий и геномного редактирования для биомедицины и ветеринарии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». ORCID ID: 0000-0003-2425-5027. E-mail: 1015artek1015@mail.ru

Радченко Александра Игоревна – младший

научный сотрудник лаборатории генетических технологий и геномного редактирования для биомедицины и ветеринарии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». ORCID ID: 0000-0002-4554-2116. E-mail: sandrinkaradchenko@gmail.com

Деев Роман Вадимович – кандидат медицинских наук, доцент, и.о. заведующего кафедрой патологической анатомии ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России; директор по науке ПАО «ИСКЧ». ORCID ID: 0000-0001-8389-3841. E-mail: romdey@gmail.com

Яковлев Иван Антонович – генеральный директор ООО «Генотаргет». ORCID ID: 0000-0001-8127-4078. E-mail: ivan@ivan-ya.ru

Дейкин Алексей Васильевич – кандидат биологических наук, доцент кафедры фармакологии и клинической фармакологии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». ORCID ID: 0000-0001-9960-0863. E-mail: alexei@deikin.ru

Жунусов Никита Сергеевич – ассистент кафедры фармакологии и клинической фармакологии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». ORCID ID: 0000-0002-1969-3615. E-mail: nzhunu@mail.ru

Краюшкина Анастасия Михайловна – ассистент кафедры фармакологии и клинической фармакологии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». ORCID ID: 0000-0002-6830-3820. E-mail: krayushkina_2016@mail.ru

Покровский Владимир Михайлович – ассистент кафедры фармакологии и клинической фармакологии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». ORCID ID: 0000-0002-1493-3376. E-mail: pokrovskiy@bsu.edu.ru

Пученкова Олеся Андреевна – ординатор медицинского института ФГАОУ ВО «Белгородский

государственный национальный исследовательский университет». ORCID ID: 0000-0002-7657-0937. E-mail: lesya759@yandex.ru

Чапров Кирилл Дмитриевич – младший научный сотрудник Лаборатория моделирования и геномной терапии заболеваний человека института физиологически активных веществ ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»; младший научный сотрудник ИФАВ РАН. ORCID ID: 0000-0002-0258-1879. E-mail: chapkir@gmail.com

Екимова Наталья Викторовна – ассистент кафедры фармакологии и клинической фармакологии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». ORCID ID: 0000-0002-3629-048X. E-mail: ekimova@bsu.edu.ru

Бардаков Сергей Николаевич – врач-невролог, преподаватель кафедры нервных болезней ФГБОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации. ORCID ID: 0000-0002-3804-6245. E-mail: epistaxis@mail.ru

Чернова Ольга Николаевна – ассистент кафедры морфологии человека ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-6310-9319. E-mail: olgachernova92@yandex.ru

Емелин Алексей Михайлович – ассистент кафедры патологической анатомии ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России; аспирант кафедры патологической анатомии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». ORCID ID: 0000-0003-4109-0105. E-mail: eamar40rn@gmail.com

Лимаев Игорь Сергеевич – старший лаборант кафедры патологической анатомии ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-0994-9787. E-mail: ig.limaev@gmail.com