

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СИНТЕТИЧЕСКОГО ПЕПТИДА АКТИВНОГО ЦЕНТРА ГРАНУЛОЦИТАРНО-МАКРОФАГАЛЬНОГО КОЛОНИЕСТИМУЛИРУЮЩЕГО ФАКТОРА (ГМ-КСФ) В КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ ИНФЕКЦИИ, ВЫЗВАННОЙ ВИРУСОМ ЭПШТЕЙНА-БАРР

© 2018 г. В. А. Зурочка^{1,2*}, А. В. Зурочка^{1,2}, О. И. Забков¹,
Н. А. Забокрицкий¹

*E-mail: v_zurochka@mail.ru

¹ФГБУН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Россия;

²ФГАОУ ВО Южно-Уральский государственный университет (национальный исследовательский университет), Челябинск, Россия

Изучали влияние синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2 (химическая формула: THRNLENLEALASERHISTYRLYSGLNHISCYSPRO) в составе комбинированной терапии инфекции, вызванной вирусом Эпштейна-Барр на состояние иммунной системы, репликацию вируса в слюне и крови, клиническое состояние пациентов. Выявлено, что при местном применении синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2 в составе комбинированной терапии восстанавливались нарушенные звенья иммунитета (фагоцитарная активность нейтрофилов, уровень NK-, CD8- и TNK-лимфоцитов). Клиническим проявлением эффективности терапии являлись исчезновение клинических проявлений ВЭБ-инфекции (фарингитов, ларингитов, ринитов, высыпаний на слизистых) и отсутствие вируса в слюне и крови пациентов (определяемых методом ПЦР-анализа).

Ключевые слова: гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ), синтетический пептид активного центра, клетки иммунной системы, вирусы, противовирусная терапия, АЦЕГРАМ

DOI: 10.31857/S102872210002633-1

Адрес: 620049, Екатеринбург, ул. Первомайская 106, ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» УрО РАН, Зурочка Владимир Александрович.

Тел.: +79043017639, E-mail: v_zurochka@mail.ru

Авторы:

Зурочка А. В., д.м.н., профессор, профессор кафедры пищевых и биотехнологий, в.н.с. лаборатории молекулярной иммунологии Южно-Уральского государственного университета (Национальный исследовательский университет) Челябинск, Россия; в.н.с. лаборатории иммунологии воспаления Института иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Россия;

Зурочка В. А., доцент кафедры пищевых и биотехнологий, с.н.с. лаборатории молекулярной иммунологии Южно-Уральского государственного университета (Национальный исследовательский университет), Челябинск, Россия; с.н.с. лаборатории иммунологии воспаления Института иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Россия;

Забков О. И., аспирант Института иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Россия;

Забокрицкий Н. А., д.м.н., с.н.с. лаборатории иммунофизиологии и иммунофармакологии Института иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Россия.

Введение. Разработка новых подходов к терапии хронических вирусных инфекций является

одним из важнейших направлений современной медицины. Наиболее интересными в этой связи являются биологически активные регуляторные молекулы – цитокины, продуцируемые иммунокомпетентными клетками человека, обладающие выраженными плеiotропными свойствами и участвующие в регуляции различных систем организма, которые могут стать основой эффективных лекарственных средств, восстанавливающих поврежденные звенья иммунной и других систем ответственных за поддержание гомеостаза [1, 2]. К ним, в частности, относится гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ), уже нашедший применение в клинической практике, в том числе при лечении лейкозов и лейкопений [3, 4]. Широкие возможности для производства новых иммунотропных препаратов открывают расшифровка молекулярной структуры и направленный химический синтез активных центров цитокинов, что убедительно продемонстрировано на примере создания синтетических

аналогов активного центра ГМ-КСФ, которые обладали иммуностимулирующим действием и другими свойствами, идентичным таковому цельной регуляторной молекулы [5, 6]. Одновременно было выявлено, что синтетический пептид активного центра ГМ-КСФ обладает выраженной противовирусной активностью. На основе данного пептида был разработан косметический препарат АЦЕГРАМ (в виде геля и спрея), обладающий иммуностропной, антибактериальной, антивирусной активностью [7]. Все это и послужило предпосылкой для изучения влияния местного применения синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ (в виде спрея и геля) на вирусную репродукцию при его комбинированном применении с иммуномодуляторами общего (системного) действия и противовирусной терапии.

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния местного применения синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ (в виде спрея и геля) на репродукцию вируса Эпштейна-Барр, при его комбинированном применении с иммуномодуляторами общего (системного) действия и противовирусной терапии.

Материалы и методы. Изучали влияние синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ (ZP2) с химической формулой—THRNL ENLEALASERHISTYRLYSGLNHISCYSPRO на состояние иммунной системы (CD3, CD4, CD8, CD16CD56, CD19, NK, TNK лимфоцитов, фагоцитарную и НСТ-активность нейтрофилов, уровень IgA, IgM, IgG, C3a, C5a, C1q фрагментов комплемента). Определяли качественно и количественно наличие генетических маркеров вируса Эпштейна-Барр в слюне, крови, уrogenитальном тракте. Критериями назначения противовирусной и иммуностропной терапии служило наличие клинической картины обострения заболевания (фарингит, ларингит, ринит, высыпания на коже и слизистых, в том числе и уrogenитального тракта), положительной ПЦР-реакции на наличие ДНК вируса Эпштейна-Барр в слюне, крови, содержимом уrogenитального тракта, как в отдельности, так и в сочетании, снижение показателей иммунной системы (фагоцитарной, НСТ-активности фагоцитов, уровней CD3, CD8, NK, повышение NKT-лимфоцитов и др.). Было обследовано и пролечено 25 пациентов с инфекцией, вызванной вирусом Эпштейна-Барр. Контролем служили пациенты, не получавшие местную терапию синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ (10 человек), но полу-

чавшим иммуностропную терапию в сочетании с противовирусными средствами (Ванцикло-вир) и иммуномодуляторами общего действия (глюкозаминилмурамилдипептид—Ликопид). Препараты назначались циклами 10 дневной терапии раз в месяц (при необходимости цикл терапии повторялся 2–3 раза с перерывом 20 дней). Ликопид в дозе 10 мг 2 раза в день 10 дней, ванцикловир в дозе 500 мг 2 раза в день 10 дней, АЦЕГРАМ-спрей (гель) местно 3 раза в день 10 дней.

Результаты. Проведенные исследования выявили, что проведение стандартной противовирусной и иммуностропной терапии, на фоне частичного восстановления иммунной системы в 60% случаев не приводило к элиминации вирусов из выявленных эпитопов, что приводило к удлинению сроков терапии и необходимости назначения дополнительных циклов терапии, при этом при 2–3 кратных циклах терапии элиминация вируса происходила в 70% случаев (у 7 пациентов из 10). В тоже время добавление в комбинированную терапию орошения слизистых и миндалин пациентов (при поражении ротовой полости) и слизистой уrogenитального тракта (при вагинитах, цервицитах) синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ приводило к элиминации вируса у 80% уже после первого цикла терапии и к 100% элиминации вируса на 2 цикле терапии. При этом отсутствие вируса в слюне, крови и содержимом уrogenитального тракта сопровождалось быстрым исчезновением клинических симптомов заболевания и восстановлением уровня и функциональной активности клеток иммунной системы.

Полученный выраженный эффект при комплексной терапии (местной и общей противовирусной и иммуностропной) в отношении инфекции, вызванной вирусом Эпштейна-Барр, по-видимому связан с несколькими причинами. Во-первых с тем, что синтетический пептид активного центра ГМ-КСФ сам по себе обладает выраженной антивирусной, иммуностимулирующей и репарационной активностью, что способствует быстрому восстановлению поврежденного вирусами эндотелия (эпителия), восстанавливает местную иммунную систему (при поражении ротовой полости—миндалины глоточного кольца Н. И. Пирогова, при поражении уrogenитального тракта функцию клеток иммунной системы цервикального канала). Во-вторых, наличие у данного пептида антибактериальной активности также может способствовать

отсутствию вторичных бактериальных инфекций, что также улучшает течение заболевания, а уменьшение микробной нагрузки способствует более быстрой элиминации вирусов [8]. В-третьих, нельзя исключить влияние данного пептида на скорость заживления поврежденно-го эпителия и апоптоз клеток, способствующих более быстрой регенерации ткани [7].

Полученные данные позволяют рекомендовать косметические средства для наружного применения с торговыми названиями: АЦЕГРАМ-ГЕЛЬ и АЦЕГРАМ-СПРЕЙ, с получением Регистрационного номера сертификатов соответствия РОСС RU.AB66.H00566 (№ 0203563) и РОСС RU.AB66.H00565 (№ 0203562) для местного применения в локальной терапии при вирусной инфекции.

Таким образом, результаты исследований отражают наличие у синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2 широкого спектра иммунобиологических эффектов (плейотропное действие), что может служить фундаментом для создания на его основе лекарственных и косметических препаратов нового поколения, обладающих комбинированной (в том числе иммуномодулирующей, антибактериальной, противовирусной и репарационной) активностью и внедрения их в широкую клиническую практику [9].

(Работа выполнена по теме из Плана НИР ИИФ УрО РАН, № гос. регистрации АААА-А18–118020690020–1

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Кетлинский С. А., Симбирцев А. С.* Цитокины. – СПб.: Фолиант, 2008. – 552 с. [*Ketlinsky S. A., Simbircev A. S.* Cytokins. – Spb.: Volume, 2008. – 552 p.]
2. *Козлов В. А., Борисов А. Г., Смирнова С. В., Савченко А. А.* Практические аспекты диагностики и лечения иммунных нарушений: Руководство для врачей. – Новосибирск: Наука, 2009. – 274 с. [*Kozlov V. A., Borisov A. G., Smirnova S. V., Savchenko A. A.* Practical aspects of diagnostics and treatment of immune violations: The management for doctors. – Novosibirsk: Science, 2009. – 274 p.]
3. *Cruz A. F., Santelises M. A., Espinosa O. R., Espinosa D. M., Castillo B. M., Payan J. B., Pando R. H.* Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor: not just another haematopoietic growth factor. // *Med. Oncol.* – 2014. – № 31. – P. 774–788.
4. *Van Nieuwenhuijze A., Koenders M., Roeleveld D., Sleeman M. A., Van den Berg W., Wicks I. P.* GM-CSF as a therapeutic target in inflammatory diseases. // *Molecular Immunology.* – 2013. – № 56. – P. 675–682.
5. *Зурочка А. В., Зурочка В. А., Суховой Ю. Г., Добрынина М. А., Костоломова Е. Г., Гриценко В. А., Студеникина Ю. Н.* Иммуотропные и биологические эффекты синтетических пептидов активного центра ГМ-КСФ. // *Вестник уральской медицинской академической науки.* – 2011. – № 2/2 (35). – С. 23–24. [*Zurochka A. V., Zurochka V. A., Suchovoi Yu. G., Dobrynin M. A., Kostolomova E. G., Gritsenko V. A., Studenikina Yu. N.* Immunotropic and biological effects of synthetic peptides of the GM-CSF active center. // *Messenger of the Ural medical academic science.* – 2011. – No. 2/2 (35). – P. 23–24].
6. *Зурочка А. В., Зурочка В. А., Добрынина М. А., Зуева Е. Б., Гольцова И. А., Гриценко В. А.* Новые подходы к изучению спектра биологической активности синтетических пептидов активного центра ГМ-КСФ. // *Российский иммунологический журнал.* – 2014. – Т. 8 (17), № 3. – С. 690–693. [*Zurochka A. V., Zurochka V. A., Dobrynina M. A., Zuyeva E. B., Goltsova I. A., Gritsenko V. A.* New approaches to studying of a range of biological activity of synthetic peptides of the GM-KSF active center. // *Russian journal of immunology.* – 2014. – Т. 8 (17), No. 3. – P. 690–693].
7. *Зурочка А. В., Зурочка В. А., Добрынина М. А., Зуева Е. Б., Дукардт В. В., Лаврентьева И. Н., Сухобаевская А. П., Гриценко В. А.* Синтетический пептид активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ), спектр его иммунобиологической активности и практическое применение. // *Российский иммунологический журнал.* – 2017. – Т. 11 (20), № 2. – С. 137–140. [*Zurochka A. V., Zurochka V. A., Zueva E. B., Dobrynina M. A., Dukardt V. V., Lavrentyeva I. N., Sukhobayevskaya L. P., Gritsenko V. A.* Synthetic peptide the active centre of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) range of its immunobiological activity and practical application. // *Russian journal of immunology.* – 2017. – Т. 11 (20), No. 2. – P. 137–140.]
8. *Зурочка А. В., Зурочка В. А., Костоломова Е. Г. и др.* Сравнительная характеристика антибактериальных свойств синтетических пептидов активного центра ГМ-КСФ и веществ, полученных из супернатантов CD34⁺45^{dim} клеток-предшественников гемопоэза. // *Цитокины и воспаление.* – 2012. – Т. 11, № 2. – С. 96–99. [*Zurochka A. V., Zurochka V. A., Kostolomova E. G., et al.* The comparative characteristic of antibacterial properties of synthetic peptides of the active center GM-CSF and the substances received from supernatant of CD34⁺45^{dim} of cages predecessors of a hemopoiesis. // *Cytokines and inflammation.* – 2012. – Т. 11, No. 2. – P. 96–99.
9. *Гриценко В. А., Аминин Д. Л., Зурочка А. В., Зурочка В. А., Иванов Ю. Б.* Некоторые биологические эффекты иммуномодуляторов естественного и синтетического происхождения *in vitro* как основа создания новых лекарственных средств для борьбы с эндогенными инфекциями. // *Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН.* – 2012. – № 3. – 17 с. [Электронный ресурс]. (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2012-3/Articles/15GricenkoVA-ADL-ZAV.pdf>). [*Gritsenko V. A., Aminin D. L., Zurochka A. V., Zurochka V. A., Ivanov Yu. B.* Some biological effects of immunomodulators of natural and synthetic origin *in vitro* as the basis for the creation of new drugs for the fight against endogenous infections. // *Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Federal Scientific Center of the Russian Academy of Sciences.* – 2012. – No. 3. – 17 p. [Electronic resource]. (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2012-3/Articles/15GricenkoVA-ADL-ZAV.pdf>).

Zurochka V.A., Ivanov Yu. B. Some biological effects of immunomodulator of a natural and synthetic origin invitro as basis of creation of new medicines for fight against endogenous infections.// Bulletin of Orenburg

scientific center UrB RAS. 2012. 3: 17 p. [An electronic resource]. (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2012-3/Articles/15GricenkoVA-ADL-ZAV.pdf>).

INVESTIGATION OF THE INFLUENCE OF THE SYNTHETIC PEPTIDE OF THE ACTIVE CENTER OF THE GRANULOCYTE-MACROPHAGE COLONY-STIMULATING FACTOR (GM-CSF) IN THE COMBINED THERAPY OF INFECTION CAUSED BY EPSTEIN-BARR VIRUS

© 2018 V. A. Zurochka^{1,2*}, A. V. Zurochka^{1,2}, O. I. Zabkov¹,
N. A. Zabokritskiy¹

*E-mail: v_zurochka@mail.ru

¹Institute of Immunology and Physiology UrB RAS, Ekaterinburg, Russia;

²South-Ural State University (National Research University), Chelyabinsk, Russia

The effect of the synthetic peptide of the active center GM-CSF – ZP2 (chemical formula: THRN-LENLEALASERHISTRYRLYSGLNHISCYSPRO) was studied in the combination therapy of infection caused by the Epstein-Barr virus on the immune system, the replication of the virus in saliva and blood, the clinical state of patients. It was revealed that when topical application of the synthetic peptide of the active center of GM-CSF – ZP2 in the combination therapy, the broken links of immunity (phagocytic activity of neutrophils, level of NK-, CD8 and TNK-lymphocytes) were restored. The clinical manifestation of the effectiveness of therapy was the disappearance of clinical manifestations of EBV infection (pharyngitis, laryngitis, rhinitis, rashes on the mucous membranes) and the absence of the virus in the saliva and blood of patients (determined by PCR analysis).

Key words: granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF), synthetic peptide active center, cells of the immune system, viruses, antiviral therapy, ACEGRAM

Authors:

Zurochka A. V., MD, Professor, professor of the Department of food and biotechnology, leading researcher of the laboratory of molecular immunology of the South Ural state University (national research University), Chelyabinsk, Russia; leading researcher of the laboratory of immunology of inflammation of the Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia;

Zurochka V. A., ✉ MD, assistant professor of the Department of food and biotechnology, senior researcher of the laboratory of molecular immunology of the South Ural state University (national research University), Chelyabinsk, Russia; senior scientific researcher of the laboratory of immunology of inflammation of the Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia; **E-mail:** v_zurochka@mail.ru

Zabkov O. I., post-graduate student of the Institute of immunology and physiology of the Ural branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia;

Zabokritskiy N. A., MD, senior researcher of the laboratory of immunophysiology and immunopharmacology of the Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia.