

ФАРМАКОЛОГИЯ И ФАРМАЦИЯ PHARMACOLOGY AND PHARMACY

ОЦЕНКА ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТА «МОЛИКСАН» ПРИ ЛЕЧЕНИИ СИРИЙСКИХ ХОМЯКОВ, ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО ЗАРАЖЁННЫХ ВИРУСОМ SARS-COV-2

Гуляева М.А.^{1,2},
Шестопалова Л.В.²,
Дин С.²,
Алексеев А.Ю.¹,
Мархаев А.Г.¹,
Филиппова А.Ю.^{1,2},
Антонов В.Г.³,
Трашков А.П.³,
Шестопалов А.М.¹

¹ ФГБНУ «Федеральный
исследовательский центр
фундаментальной и трансляционной
медицины» (630060, г. Новосибирск,
ул. Тимакова, 2, Россия)

² ФГАОУ ВО «Новосибирский
национальный исследовательский
государственный университет»
(630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 2,
Россия)

³ ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский
государственный педиатрический
медицинский университет
Минздрава России
(194100, г. Санкт-Петербург,
ул. Литовская, 2, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Филиппова Анастасия Юрьевна,
e-mail: a.filippova1@g.nsu.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Исследование особенностей протекания коронавирусной инфекции, вызванной SARS-CoV-2, остаётся актуальным вследствие высокой мутагенности вируса и широкого распространения заболевания в мире. Поиск новых препаратов для устранения клинических проявлений при COVID-19 так же, как и против его возбудителя, является релевантным. Во время пандемии, вызванной SARS-CoV-2, дексаметазон был признан единственным эффективным противовоспалительным препаратом для лечения пациентов с тяжёлой формой заболевания новой коронавирусной инфекцией, однако его применение приводит к возникновению большого количества побочных эффектов.

Цель исследования. Изучить терапевтический эффект препарата «Моликсан» в лечении коронавирусной инфекции у модельных животных – сирийских хомяков.

Методы. Для оценки эффективности препарата «Моликсан» проводились визуальная оценка состояния лёгких методом световой микроскопии и морфометрия лёгочной ткани экспериментально инфицированных сирийских хомяков на 6-е сутки после заражения при разных схемах ведения терапии препаратом «Моликсан» и при терапии дексаметазоном. Тестируемый препарат вводили с использованием трёх разных доз (22,2 мг/кг, 44,4 мг/кг и 88,8 мг/кг; эквивалентно дозам 3 мг/кг, 6 мг/кг и 12 мг/кг массы тела человека) 1 раз в сутки или разделяя дозу на два раза с интервалом введения 12 часов при многократном (5 дней) внутримышечном введении. Дексаметазон (препарат сравнения) вводился в дозе 20 мг/кг 1 раз в сутки в течение 5 дней.

Результаты. Проведённые исследования показали статистически значимую эффективность применения препарата «Моликсан» в дозе 44,4 мг/кг, разделённой на два приёма, в течение 5 дней. При сравнении с нелечеными хомяками данная схема терапии снижает степень генерализации и выраженности воспалительного процесса в лёгких; при этом патоморфологическая картина схожа с наблюдаемой при лечении препаратом «Дексаметазон».

Заключение. Исследуемый препарат «Моликсан» эффективен в качестве противовоспалительного препарата при лечении заболевания, вызванного SARS-CoV-2.

Ключевые слова: Моликсан, дексаметазон, SARS-CoV-2, патогенез COVID-19, воспаление, противовоспалительная терапия

Для цитирования: Гуляева М.А., Шестопалова Л.В., Дин С., Алексеев А.Ю., Мархаев А.Г., Филиппова А.Ю., Антонов В.Г., Трашков А.П., Шестопалов А.М. Оценка терапевтического действия препарата «Моликсан» при лечении сирийских хомяков, экспериментально заражённых вирусом SARS-CoV-2. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(2): 203-212. doi: 10.29413/ABS.2024-9.2.20

Статья поступила: 24.11.2023

Статья принята: 16.04.2024

Статья опубликована: 31.05.2024

ASSESSMENT OF THE THERAPEUTIC EFFECT OF THE DRUG MOLIXAN IN THE TREATMENT OF SYRIAN HAMSTERS EXPERIMENTALLY INFECTED WITH THE SARS-COV-2 VIRUS

Gulyaeva M.A.^{1,2},
 Shestopalova L.V.²,
 Din X.²,
 Alekseev A.Yu.¹,
 Markhaev A.G.¹,
 Filippova A.Yu.^{1,2},
 Antonov V.G.³,
 Trashkov A.P.³,
 Shestopalov A.M.¹

¹ Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine (Timakova str. 2, Novosibirsk 630117, Russian Federation)

² Novosibirsk State University (Pirogova str. 2, Novosibirsk 630090, Russian Federation)

³ St. Petersburg State Pediatric Medical University (Litovskaya str. 2, Saint Petersburg 194100, Russian Federation)

Corresponding author:
 Anastasija Yu. Filippova,
 e-mail: a.filippova1@g.nsu.ru

ABSTRACT

Background. Studying the characteristics of the course of coronavirus infection caused by SARS-CoV-2 remains relevant due to the high mutagenicity of the virus and the prevalence of the disease in the world. The search for new drugs to eliminate clinical manifestations of COVID-19, as well as against its agent, is essential. During the pandemic caused by SARS-CoV-2, dexamethasone was recognized as the only effective anti-inflammatory drug for the treatment of patients with severe form of the disease, but its use leads to a large number of side effects.

The aim. To study the therapeutic effect of the drug Molixan in the treatment of coronavirus infection in model animals – Syrian hamsters.

Methods. To assess the effectiveness of the drug Molixan, we carried out a visual assessment of the condition of the lungs using light microscopy and the morphometry of the lung tissue of experimentally infected Syrian hamsters on the day 6 after infection under different Molixan treatment regimens and during dexamethasone therapy. The test drug was administered using three different doses (22.2 mg/kg, 44.4 mg/kg and 88.8 mg/kg, which are equivalent to doses of 3 mg/kg, 6 mg/kg and 12 mg/kg of human body weight) once daily or dividing the dose into two within 12 h interval in case of multiple (5 days) intramuscular administration. Dexamethasone (comparison drug) was administered at a dose of 20 mg/kg once daily for 5 days.

Results. The studies showed statistically significant effectiveness of using Molixan at a dose of 44.4 mg/kg, divided into two doses, during 5 days. When compared with untreated hamsters, this treatment regimen reduces the degree of generalization and severity of the inflammatory process in the lungs; and the pathomorphological picture is similar to that observed during treatment with Dexamethasone.

Conclusion. The studied drug Molixan is effective as an anti-inflammatory drug in the treatment of the disease caused by SARS-CoV-2.

Key words: Molixan, dexamethasone, SARS-CoV-2, COVID-19 pathogenesis, inflammation, anti-inflammatory therapy

For citation: Gulyaeva M.A., Shestopalova L.V., Din X., Alekseev A.Yu., Markhaev A.G., Filippova A.Yu., Antonov V.G., Trashkov A.P., Shestopalov A.M. Assessment of the therapeutic effect of the drug Molixan in the treatment of Syrian hamsters experimentally infected with the SARS-CoV-2 virus. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(2): 203-212. doi: 10.29413/ABS.2024-9.2.20

Received: 24.11.2023

Accepted: 16.04.2024

Published: 31.05.2024

Заболевание, вызванное новым коронавирусом SARS-CoV-2, по-прежнему, является причиной серьёзной обеспокоенности мирового сообщества в силу значительного географического распространения и изменчивости вируса [1]. Смертность при инфекции SARS-CoV-2 составляет примерно 1–3 % и обычно связана с воспалительной реакцией в сторону развития так называемого «цитокинового шторма», в результате которого происходят гиперактивация иммунных клеток и перепроизводство многочисленных воспалительных цитокинов и химических медиаторов [2]. Как было выявлено в результате клинических исследований, гибель пациентов с подтверждённым COVID-19 в основном происходила из-за необратимого повреждения лёгких, которое впоследствии приводило к остановке дыхания. Предполагается, что одной из причин нарушения газообмена в лёгких являлось большое скопление вязкой жидкости, обнаруживаемое в респираторном тракте. Использование эффективных противовоспалительных препаратов при проведении терапии считается незаменимым для преодоления ряда серьёзных последствий данного респираторного заболевания, связанных с патологией лёгких, возникающих в том числе при «цитокиновом шторме» [1].

В начале пандемии времени на разработку новых лекарственных средств от COVID-19 не было в связи с длительностью процесса, поэтому поиск терапевтических решений был сосредоточен на «перепрофилировании уже имеющихся лекарственных средств», таких как дексаметазон, гидроксихлорохин, ралтегравир и другие [3]. Дексаметазон был признан единственным эффективным препаратом для пациентов с тяжёлой формой заболевания [4]. Данное лекарство относится к классу глюкокортикоидов и оказывает противовоспалительное и иммунодепрессивное действие, модулирует опосредованное воспалением повреждение лёгких [5, 6]. При этом применение данного препарата влечёт за собой множественные отрицательные побочные эффекты, такие как: подавление иммунной системы, изменение гормонального баланса [5, 7], развитие сердечно-сосудистых заболеваний и психических расстройств [8]. По прошествии времени в России по-прежнему существует острая необходимость в разработке противовоспалительных препаратов, которые могли бы служить альтернативой препарату «Дексаметазон».

Ранее было показано, что «Моликсан» – глицил-цистеинил-глутамат диаммония – представляет собой производное глутатиона и может быть использован для лечения острых заболеваний, в патогенезе которых основную роль играют аутоиммунные или воспалительные факторы [9]. Исследования, проведённые ранее, продемонстрировали эффективность терапии глутатионом в облегчении одышки, связанной с пневмонией COVID-19 [10]. Опираясь на данные факторы, мы предполагаем, что «Моликсан» может быть использован для облегчения течения COVID-19 в качестве альтернативы глюкокортикоидному препарату.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение терапевтического эффекта препарата «Моликсан» в лечении коронавирусной инфекции у модельных животных – сирийских хомяков.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

В эксперименте были использованы нелинейные сирийские хомяки категории SPF в возрасте 7 недель. Как было показано ранее, именно эта модель млекопитающих является оптимальной и доступной для моделирования данной патологии, вызванной SARS-CoV-2 [11]. Все работы с животными проводили в соответствии с этическими нормами обращения с лабораторными животными и Приказом Минздрава России от 23.08.2010 «Об утверждении правил лабораторной практики», а также в соответствии с протоколом исследования, утверждённым биоэтическим комитетом ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» (ФИЦ ФТМ) (протокол № 27/1 от 24.12.2021).

Сирийским хомякам под наркозом интраназально вносили суммарно 100 мкл (50 мкл в каждую ноздрю) вирусосодержащей жидкости (используемый штамм – SARS-CoV-2/human/RUS/Nsk-FRCFTM-1/2020 (EPI_ISL_481284)). Работы с живым вирусом проводились на базе Искитимской межрегиональной ветеринарной лаборатории сертифицированными сотрудниками НИИ вирусологии ФИЦ ФТМ на основании договора с ФИЦ ФТМ.

Животных наркотизировали препаратом «Золетил» внутримышечно в дозе 30 мг/кг. Тестируемый препарат «Моликсан» и используемый в качестве сравнения препарат «Дексаметазон» вводили внутримышечно определёнными курсами. Дексаметазон по фармакологической группе является глюкокортикостероидом, а препарат «Моликсан» отнесён к метаболическим средствам. Однако для проведения исследований, в которых используется активный контроль (исследования эффективности, эквивалентности или превосходства) в качестве препарата сравнения могут использоваться препараты из других фармакотерапевтических групп, отличных от фармгруппы исследуемого препарата, но применяемые при данной патологии [12]. Доза препарата «Дексаметазон» выбрана средней между двумя успешно применяемыми – 16 мг/кг и 24 мг/кг [13].

«Моликсан» вводили с использованием трёх разных доз (22,2 мг/кг, 44,4 мг/кг и 88,8 мг/кг; эквивалентно дозам 3 мг/кг, 6 мг/кг и 12 мг/кг массы тела человека) 1 раз в сутки или разделяя дозу на две инъекции с интервалом 12 часов при многократном (5 дней) внутримышечном введении. Животные были поделены на группы:

1. Контроль – физиологический раствор, эквивалентный объём – 5 дней.
2. Препарат сравнения – дексаметазон 20 мг/кг, 1 раз в сутки – 5 дней.
3. Тестируемый препарат 22,2 мг/кг, 1 раз в сутки – 5 дней.

4. Тестируемый препарат 22,2 мг/кг, 2 раза в сутки (по 11,1 мг/кг на приём) – 5 дней.

5. Тестируемый препарат 44,4 мг/кг, 1 раз в сутки – 5 дней.

6. Тестируемый препарат 44,4 мг/кг, 2 раза в сутки (по 22,2 мг/кг на приём) – 5 дней.

7. Тестируемый препарат 88,8 мг/кг, 1 раз в сутки – 5 дней.

8. Тестируемый препарат 88,8 мг/кг, 2 раза в сутки (по 44,4 мг/кг на приём) – 5 дней.

На 6-е сутки эксперимента животных эвтаназировали и производили забор лёгких. Далее проводили фиксацию в формалине (10%-м) и дальнейшую подготовку органов для морфологического исследования с помощью световой микроскопии проводили по стандартной методике. Состояние лёгких хомяков оценивали с учётом следующих показателей: состояние кровеносных сосудов; характер и локализация лейкоцитарного инфильтрата; состояние бронхиального дерева и альвеол; наличие некротизированной ткани. Морфометрический анализ проводился путём оценки 40 контрольных полей зрения (при увеличении $\times 200$) по каждому животному из каждой группы. Площадь патологически изменённых участков, а также степень выраженности изменений оценивалась в баллах от 0 до 5, где: 0 – отсутствие патологии; 1 – минимальные повреждения; 2 – незначительные повреждения; 3 – умеренные повреждения; 4 – выраженные повреждения; 5 – тяжёлые повреждения. Гистологические препараты изучались с использованием светооптического микроскопа Axiostar Plus (Carl Zeiss, Германия; $\times 200$, $\times 400$). Микрофотографирование проводили цифровой фотокамерой AxioCam ICc 1 (Carl Zeiss, Германия) и с использованием программного обеспечения AxioVision 4.8 (Carl Zeiss, Германия).

Полученные количественные данные проверены на соответствие закону нормального распределения, рассчитаны среднее арифметическое (M) на группу и стандартная ошибка среднего (SEM, standard error of the mean). Межгрупповые различия анализировались по t-критерию Стьюдента. Статистическая обработка данных проводилась программой Statistics for Windows 10. Различия определены при уровне статистической значимости $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

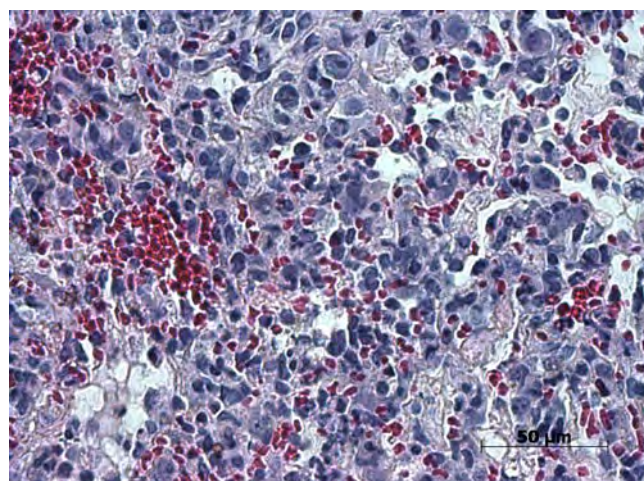
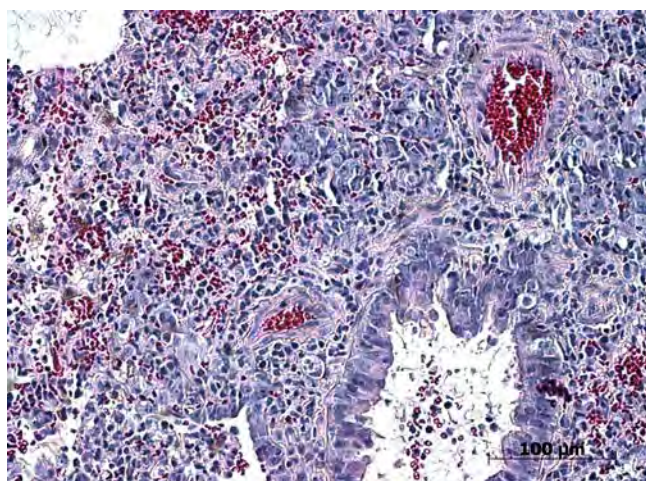
Состояние инфицированных хомяков мониторилось сотрудниками лаборатории ежедневно, и наблюдались следующие клинические проявления заболевания: потеря массы тела, взъерошенность шерсти, потеря аппетита. При гистологическом исследовании лёгких, проводимом с помощью светового микроскопа, во всех экспериментальных группах наблюдалось протекание воспалительного процесса, характеризующееся лейкоцитарной инфильтрацией, с преобладанием моноцитов и лимфоцитов в экссудате, альвеолярные перегородки были утолщены, в интерстиции встречались кровоизлия-

ния. При этом степень тяжести воспаления и наблюдаемая патоморфологическая картина отличались у хомяков из разных групп.

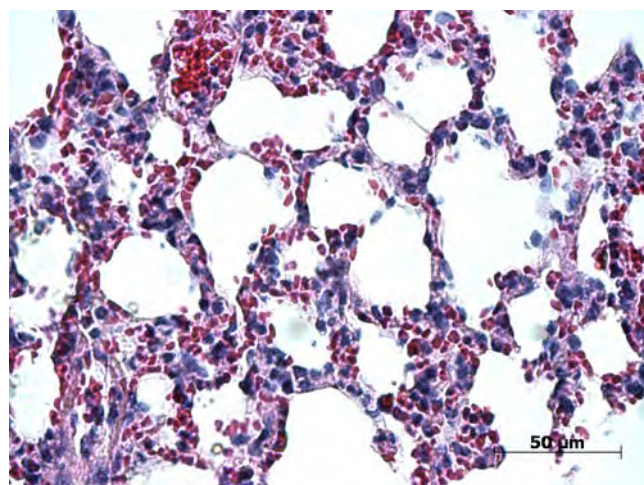
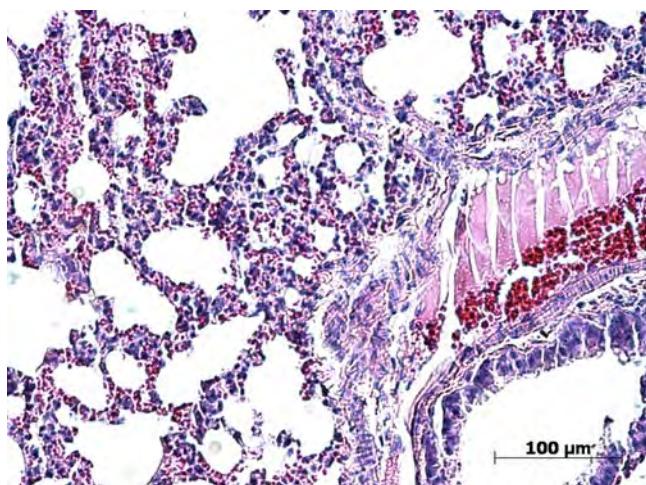
В группе хомяков, не проходящих терапию препаратами, в результате проявления инфекции были отмечены наиболее серьёзные изменения. При детальном рассмотрении среза лёгких мы наблюдаем большое количество клеток в состоянии некроза, отёк лёгких и множественные крупные очаги лейкоцитарного инфильтрата. В результате разрушения стенки сосудов в интерстиции лёгких визуализируются множественные геморрагии. Альвеолярные перегородки значительно утолщены, обширные области ателектазов чередуются с эмфиземой. Структура бронхов различного калибра нарушена, наблюдается объёмная десквамация эпителиоцитов слизистой. В бронхах – скопление клеточного детрита и эритроцитов (рис. 1а). Морфологическая картина, наблюдаемая в лёгких животных, проходивших терапию препаратом «Дексаметазон», выглядит иначе. В большинстве случаев структура альвеол сохранена: они округлые и хорошо расправленные, стенки имеют небольшое утолщение, просвет свободный от детрита и слизи. Местами в лёгких встречаются очаги ателектаза, умеренная десквамация эпителия бронхиального дерева, а также точечные кровоизлияния в интерстиции (рис. 1б).

Характер изменений в лёгких животных из групп № 3 и № 4 схож с наблюдаемыми изменениями в респираторном тракте у хомяков из группы № 1. Визуализируемая патоморфологическая картина отражает протекающую в исследуемых органах интерстициальную пневмонию (рис. 2а, б). Животные из группы № 5 характеризуются в целом нормальной морфологической структурой лёгких. При этом наблюдаются небольшие очаги лейкоцитарного инфильтрата и ателектазы. В воздухоносных путях накапливается небольшое количество клеточного детрита как следствие десквамации эпителиальной выстилки (рис. 2в).

При разделении дозы 44,4 мг/кг на два приёма в течение суток (по 22,2 мг/кг на приём) наблюдался наилучший среди имеющихся экспериментальных групп противовоспалительный эффект. Так, у хомяков из группы № 6 небольшие участки ателектазов чередовались с участками физиологически неизменённых лёгких, без визуальных признаков воспаления с хорошо расправленными альвеолами, имеющими тонкие стенки и свободный от слизи и клеточного детрита просвет (рис. 3а). В некоторых участках по-прежнему визуализировались признаки протекающего воспаления, такие как утолщение альвеолярных септ и лимфоцитарно-моноцитарный экссудат в интерстиции. В обеих группах (№ 5 и № 6) наблюдается статистически значимое снижение общей степени выраженности воспаления в исследуемом органе в сравнении с нелечеными животными и животными из групп № 3, № 7 и № 8 (табл. 1). Структура лёгких схожа со структурой органов хомяков, проходивших терапию дексаметазоном. При сравнении патоморфологической картины в данных группах не наблюдалось статистически значимых отличий (табл. 1).



a



б

РИС. 1.

Фрагменты легких хомячков на 6-е сутки после инфицирования вирусом SARS-CoV-2; окрашивание гематоксилином и эозином; увеличение $\times 200$, $\times 400$. **a** – без проведения терапии: отёк в ткани лёгкого, утолщение альвеолярных перегородок, очаги ателектаза, мультифокальные кровоизлияния в интерстиции, некрозы; **б** – терапия препаратом «Дексаметазон»: утолщение альвеолярных перегородок, точечные кровоизлияния в ткань лёгкого, десквамация эпителия бронхов

FIG. 1.

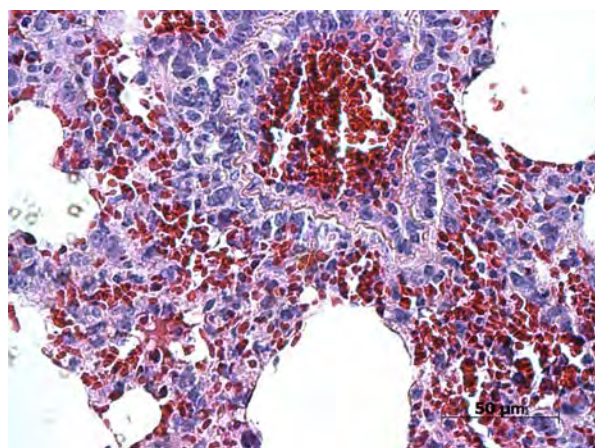
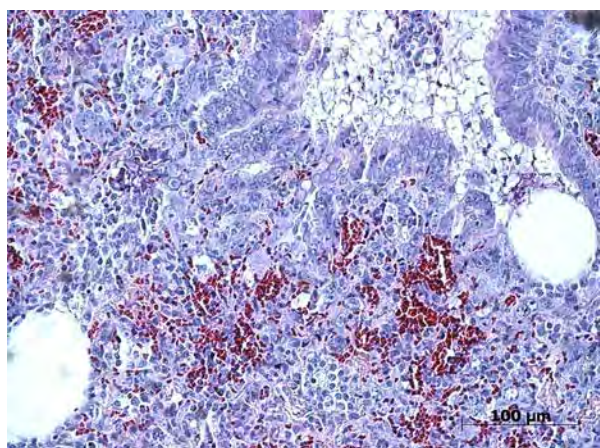
Fragments of lungs of the hamsters on the day 6 post infection with SARS-CoV-2; hematoxylin and eosin staining; magnification $\times 200$, $\times 400$. **a** – without therapy: lung tissue edema, thickened alveolar septa, atelectasis foci, multifocal hemorrhages in the interstitium, necrosis; **б** – therapy with Dexamethasone: thickened alveolar septa, petechial hemorrhages in lung tissue, desquamation of bronchial epithelium

При увеличении дозы препарата «Моликсан» патоморфологическая картина в лёгких хомячков значительно ухудшается. Проявляется выраженная сосудистая реакция, кровеносные сосуды различного калибра выглядят кровенаполненными. Повсеместно в интерстиции, а также периваскулярно наблюдается обильный лейкоцитарный экссудат (рис. 3б, в).

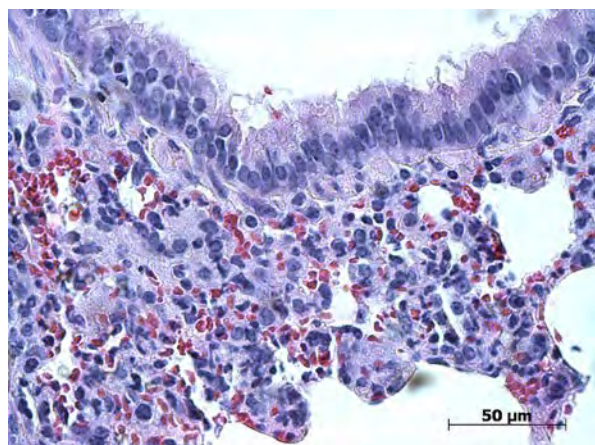
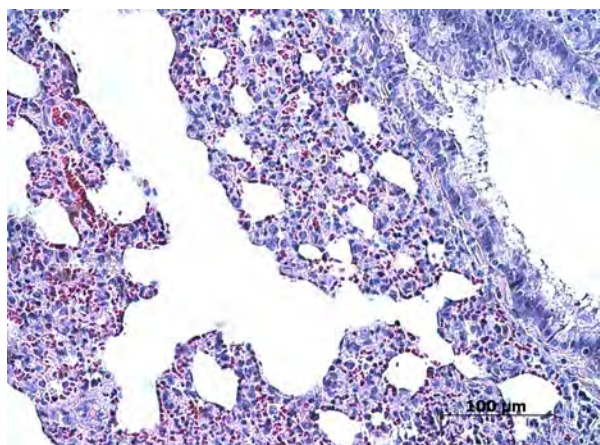
По результатам морфометрии статистически значимых отличий по объёму повреждённых структур в лёгких хомячков из групп № 7, № 8 и нелеченых животных не обнаружено (табл. 1).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

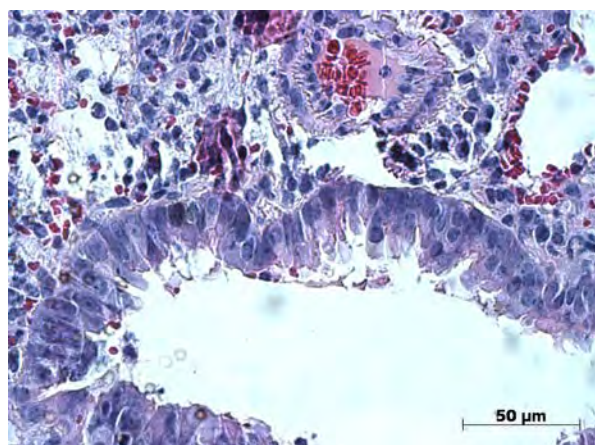
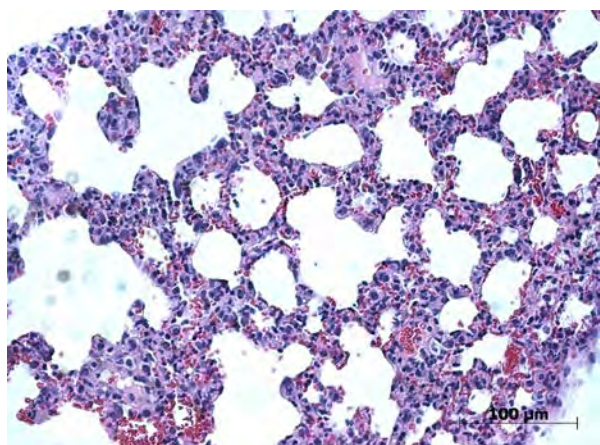
Необходимость разработки лекарственных препаратов и средств профилактики заболеваний вирусной этиологии не подлежит сомнению. Исследования, проводимые Всемирной организацией здравоохранения, указывают на то, что доля инфекционных заболеваний остаётся стабильной и из года в год колеблется в районе 25 % от общего числа болезней, приводящих к смертельному исходу. Одной из главных причин смертности населения является заражение вирусными агентами с последующими развивающимися патологиями.



a



б



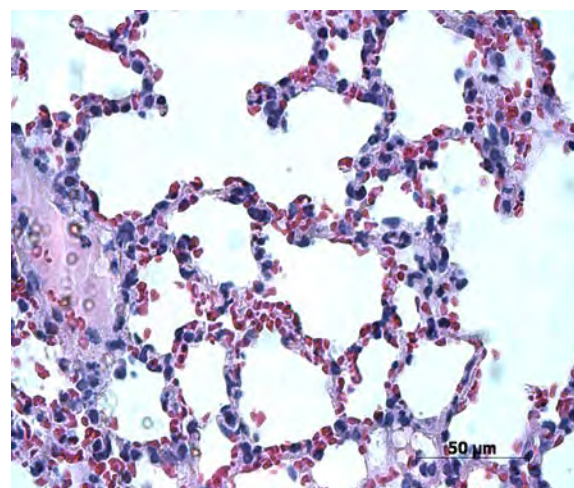
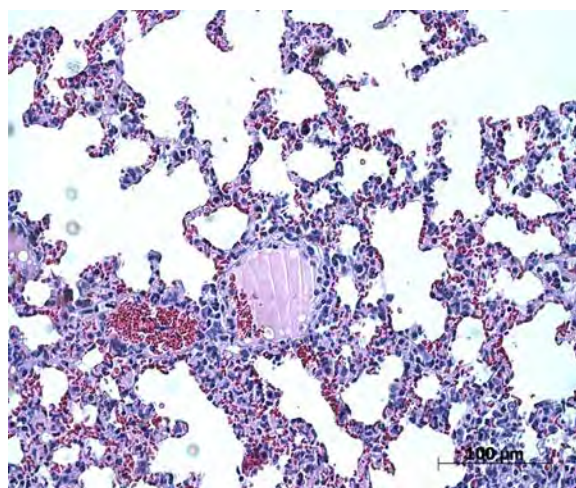
в

РИС. 2.

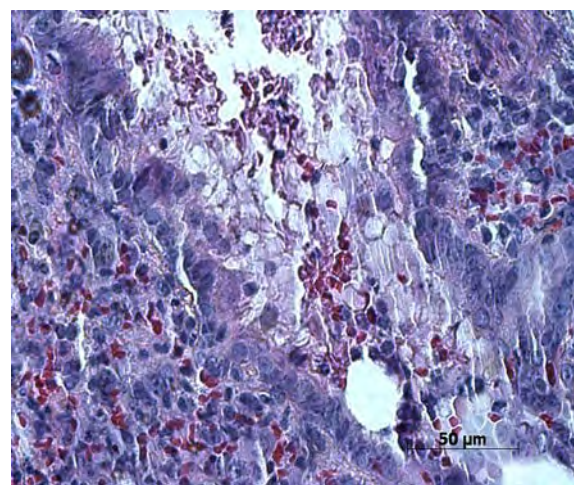
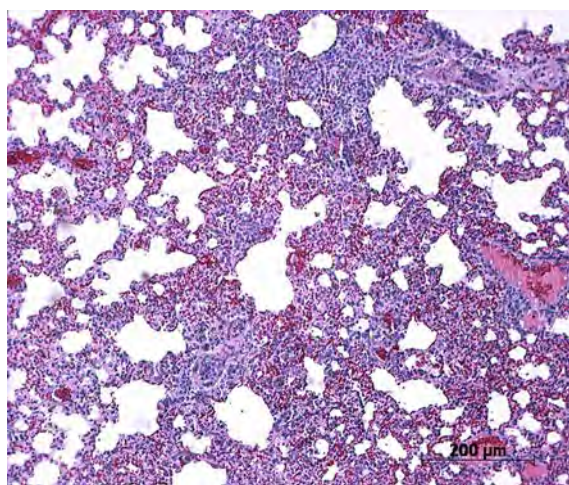
Фрагменты легких хомячков на 6-е сутки после инфицирования вирусом SARS-CoV-2; терапия препаратом «Моликсан»; окрашивание гематоксилином и эозином; увеличение $\times 200$, $\times 400$. **а** – доза 22,2 мг/кг, однократное введение препарата: обширные ателектазы, лейкоцитарный инфильтрат, кровоизлияния в ткань лёгких, клеточный детрит в просвете бронхиального дерева; **б** – доза 22,2 мг/кг, разделённая на 2 инъекции: межальвеолярные септы утолщены, точечные геморрагии в интерстиции, лейкоцитарный экссудат, десквамация эпителиоцитов слизистой бронхиол; **в** – доза 44,4 мг/кг, однократное введение препарата: лейкоцитарный инфильтрат, утолщение межальвеолярных перегородок, десквамация эпителиальной выстилки, точечные геморрагии

FIG. 2.

Fragments of lungs of the hamsters on the day 6 post infection with SARS-CoV-2; therapy with Molixan; hematoxylin and eosin staining; magnification $\times 200$, $\times 400$. **a** – dose 22.2 mg/kg, single administration: extensive atelectasis, leukocyte infiltrate, hemorrhages into the lung tissue, cellular detritus in the bronchial tree lumen; **б** – dose 22.2 mg/kg, divided into 2 injections: thickened interalveolar septa, petechial hemorrhages in the interstitium, leukocyte exudate, desquamation of epithelial cells of the bronchiole mucosa; **в** – dose 44.4 mg/kg, single administration: leukocyte infiltrate, thickened interalveolar septa, desquamation of the epithelial lining, petechial hemorrhages



a



б

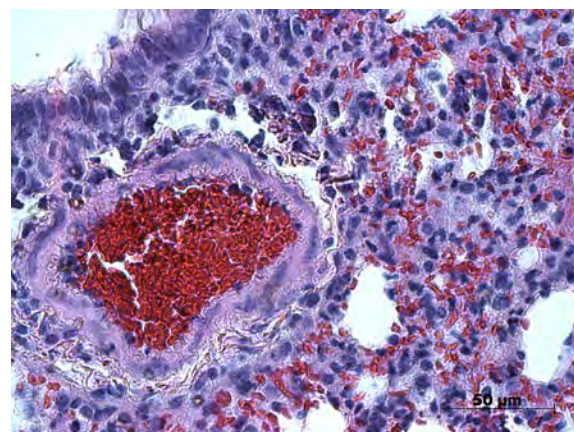
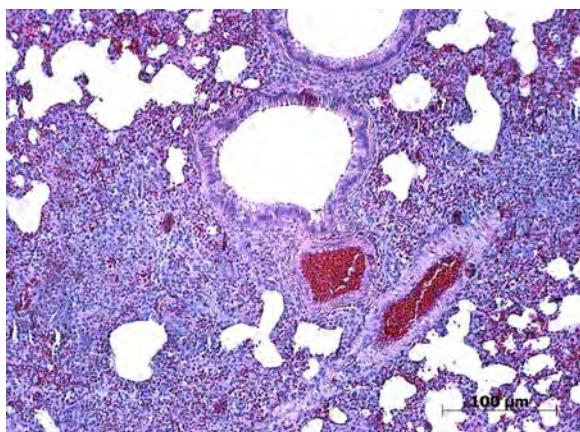


РИС. 3.

Фрагменты лёгких хомяков на 6-е сутки после инфицирования вирусом SARS-CoV-2; терапия препаратом «Моликсан»; окрашивание гематоксилином и эозином; увеличение $\times 200$, $\times 400$. **а** – доза 44,4 мг/кг, разделённая на 2 инъекции: кровенаполненность сосудов различного калибра, просветы альвеол расправлены и свободны от детрита; **б** – доза 88,8 мг/кг, однократное введение: очаги лейкоцитарного инфильтрата, множественные геморрагии, детрит в просветах альвеол; **в** – доза 88,8 мг/кг, разделённая на 2 инъекции: крупные очаги лейкоцитарного инфильтрата, кровенаполненные кровеносные сосуды, множественные точечные геморрагии

FIG. 3.

Fragments of lungs of the hamsters on the day 6 post infection with SARS-CoV-2; therapy with Molixan; hematoxylin and eosin staining; magnification $\times 200$, $\times 400$. **a** – dose 44,4 mg/kg, divided into 2 injections: blood-filled vessels of various sizes, alveolar lumens are straightened and free from detritus; **б** – dose 88.8 mg/kg, single administration: leukocyte infiltrate foci, multiple hemorrhages, detritus in the alveolar lumens; **в** – dose 88.8 mg/kg, divided into 2 injections: large foci of leukocyte infiltrate, blood-filled vessels, multiple petechial hemorrhages

ТАБЛИЦА 1

СТЕПЕНЬ ВЫРАЖЕННОСТИ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА В ЛЁГКИХ ХОМЯКОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ ДОЗЫ ПРЕПАРАТА «МОЛИКСАН» (БАЛЛЫ, 0–5)

TABLE 1

THE SEVERITY OF THE INFLAMMATORY PROCESS IN THE LUNGS OF HAMSTERS DEPENDING ON THE THERAPEUTIC DOSE OF "MOLIXAN" (POINTS, 0–5)

№ обследованной группы	Количество животных на группу (n)	Среднее арифметическое с ошибкой среднего
1. Положительный контроль	5	3,18 ± 0,106 ⁺
2. Препарат 22,2 мг/кг, однократно	6	3,07 ± 0,100 ⁺
3. Препарат 22,2 мг/кг, двукратно	6	2,84 ± 0,102*
4. Препарат 44,4 мг/кг, однократно	6	2,85 ± 0,076*
5. Препарат 44,4 мг/кг, двукратно	6	2,65 ± 0,094*
6. Препарат 88,8 мг/кг, однократно	6	2,96 ± 0,091 ⁺
7. Препарат 88,8 мг/кг, двукратно	6	2,97 ± 0,128 ⁺
8. Дексаметазон	6	2,83 ± 0,101*

Примечание. * – статистическая значимость отличий экспериментальных групп от положительного контроля; ⁺ – статистическая значимость отличий группы с наилучшими показателями (группа № 5) от других экспериментальных групп; уровень статистической значимости $p \leq 0,05$.

Коронавирусная инфекция, вызванная новым вирусом SARS-CoV-2, не остаётся без внимания со стороны системы здравоохранения и по сей день в силу мутации вируса и появления новых циркулирующих штаммов, что влечёт за собой увеличение числа инфицированных людей, а также расширение географии распространения. В настоящее время по-прежнему предпринимаются попытки найти новые терапевтические средства как против возбудителя данного заболевания, так и регулирующие его клинические проявления.

Развивающийся цитокиновый шторм приводит к серьёзному поражению лёгких при COVID-19. При этом в респираторных и воздухоносных отделах обнаруживается большое скопление вязкой жидкости, что приводит к остановке дыхания. Результаты аутопсии показали, что именно повреждение лёгких является основной причиной гибели пациентов, инфицированных вирусом SARS-CoV-2 [1]. Таким образом, становится незаменимым проведение эффективной противовоспалительной терапии для смягчения последствий данного респираторного заболевания.

В период пандемии для лечения пациентов с тяжёлой формой COVID-19 широко применялся дексаметазон, который относят к глюкокортикоидным средствам синтетического происхождения. В процессе развития данного заболевания была показана его высокая эффективность ввиду мощного противовоспалительного эффекта и как следствие – снижение смертности у тяжелобольных пациентов. При этом данный препарат имеет множественные отрицательные побочные проявления [14, 15].

В проведённом исследовании животным из группы № 8 вводили 20 мг/кг дексаметазона 1 раз в день. При этом мы наблюдали значительное уменьшение количества точечных кровоизлияний в лёгких и нормальную морфологию бронхиального дерева в данной груп-

пе животных. Статистические данные подтвердили статистически значимое уменьшение воспаления в группе № 8 по сравнению с группой животных, не проходивших терапию. Как показали ранее проведённые исследования, дексаметазон является эффективным препаратом, купирующим воспалительный процесс, при лечении сирийских хомяков с тяжёлой пневмонией, вызванной SARS-CoV-2. При этом его эффективность зависит от продолжительности лечения [16]. Однако не следует забывать о доказанных побочных эффектах, связанных с применением стероидов, таких как гипергликемия, гипокалиемия, желудочно-кишечный стресс, а также повышенный риск полиорганной дисфункции [14].

Препарат «Моликсан» не относится к гормонам и уже известен своей эффективностью при хронических воспалительных заболеваниях, так как обладает цитопротекторной и иммуномодулирующей активностью. Исследуемый нами препарат «Моликсан» ранее был изучен в отношении применения при вирусных гепатитах, и его использование при данной инфекции основано на доказанном противовоспалительном эффекте. Он является производным глутатиона, который относительно безопасен, обладает антифибротическим эффектом и, как было показано, способен облегчить течение COVID-19 у людей [17]. При том, что был выявлен внешний терапевтический эффект, было непонятно, каким образом данный препарат способен влиять на течение патогенеза, вызванное COVID-19. Использование препарата «Моликсан» в нашем эксперименте продемонстрировало противовоспалительный эффект в зависимости от дозы и её применения у модельных животных. Однократное или двукратное введение средней дозы (группы № 4 и № 5) приводит к статистически значимому снижению распространения воспаления в лёгких, а также влияет на интенсивность воспалительного инфильтрата в лёгочной ткани в сторону уменьшения его объёмов.

В малых и больших дозах исследуемый препарат не оказывает эффективного воздействия на состояние лёгких сирийских хомяков (группы № 2 и № 3 и группы № 6 и № 7 соответственно), и статистически значимого улучшения состояния органа не наблюдалось. Введение препарата «Моликсан» в малых дозах не приводило к статистически значимому противовоспалительному эффекту, и патоморфологическая картина в лёгких не отличалась от таковой у нелеченых животных. Введение больших доз приводило к увеличению объёма лейкоцитарного инфильтрата и количества мультифокальных геморрагий в интерстиции. Возможно, данный эффект каким-то образом связан с сосудистой реакцией, приводящей к нарушению целостности стенок кровеносных сосудов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование гистологических препаратов и анализ морфометрии тканей лёгких сирийских хомяков указывает на тенденцию к дозозависимому эффекту при использовании в терапии препарата «Моликсан». Двукратное суточное введение препарата в средней дозе (44,4 мкг/кг) на протяжении 5 дней вызывает статистически значимое уменьшение распространённости и объёма воспаления в тканях лёгких данной группы животных в сравнении с хомяками, не проходившими терапию, и животными из групп № 3, № 7 и № 8. Статистической значимости изменений не получено между группами, получавшими «Моликсан» в малой дозе при двукратном введении, в средней дозе при однократном и двукратном введении, и группой животных, получавших дексаметазон.

Таким образом, нами показана эффективность применения препарата «Моликсан» в качестве противовоспалительного средства при воспалении лёгких, вызванном инфицированием SARS-CoV-2.

Финансирование

Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда № 22-24-00199 (<https://rscf.ru/project/22-24-00199>).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Soy M, Keser G, Atagündüz P, Tabak F, Atagündüz I, Kayhan S. Cytokine storm in COVID-19: Pathogenesis and overview of anti-inflammatory agents used in treatment. *Clin Rheumatol*. 2020; 39(7): 2085-2094. doi: 10.1007/s10067-020-05190-5
2. Kim JS, Lee JL, Yang JW, Lee KH, Effenberger M, Szpirt W, et al. Immunopathogenesis and treatment of cytokine storm in COVID-19. *Theranostics*. 2021; 11(1): 316. doi: 10.7150/thno.49713
3. Kumar R, Gupta N, Kodan P, Mittal A, Soneja M, Wig N. Battling COVID-19: Using old weapons for a new enemy. *Trop Dis Travel Med Vaccines*. 2020; 6(1): 6. doi: 10.1186/s40794-020-00107-1
4. Atluri K, Aimlin I, Arora S. Current effective therapeutics in management of COVID-19. *J Clin Med*. 2022; 11(13): 3838. doi: 10.3390/jcm11133838
5. Salem MA. A response to the recommendations for using dexamethasone for the treatment of COVID-19: The dark side of dexamethasone. *J Pharm Pract*. 2021; 34(2): 179-180. doi: 10.1177/0897190020979608
6. Andreaskos E, Papadaki M, Serhan CN. Dexamethasone, pro-resolving lipid mediators and resolution of inflammation in COVID-19. *Allergy*. 2021; 76(3): 626. doi: 10.1111/all.14595
7. Isidori AM, Arnaldi G, Boscaro M, Falorni A, Giordano C, Giordano R, et al. COVID-19 infection and glucocorticoids: Update from the Italian Society of Endocrinology Expert Opinion on steroid replacement in adrenal insufficiency. *J Endocrinol Invest*. 2020; 43: 1141-1147. doi: 10.1007/s40618-020-01266-w
8. Oray M, Samra KA, Ebrahimiadib N, Meese H, Foster CS. Long-term side effects of glucocorticoids. *Expert Opin Drug Saf*. 2016; 15(4): 457-465. doi: 10.1517/14740338.2016.1140743
9. Голофеевский В.Ю., Антушевич А.Е., Антонов В.Г., Гребенюк А.А. Новая модель экспериментального цирроза печени для оценки гепатопротективной и антифибротической эффективности лекарственных препаратов. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2017; 10(146): 88-93. [Golofeevsky VYu, Antushevich AE, Antonov VG, Grebenyuk AA. New model of experimental cirrhosis for estimation of hepatoprotective and antifibrotic efficiency of drugs. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2017; 10(146): 88-93. (In Russ.)].
10. Horowitz RI, Freeman PR, Bruzzese J. Efficacy of glutathione therapy in relieving dyspnea associated with COVID-19 pneumonia: A report of 2 cases. *Respir Med Case Rep*. 2020; 30: 101063. doi: 10.1016/j.rmcr.2020.101063
11. Chan JF, Zhang AJ, Yuan S, Poon VK, Chan CC, Lee AC, et al. Simulation of the clinical and pathological manifestations of coronavirus disease 2019 (COVID-19) in golden Syrian hamster model: Implications for disease pathogenesis and transmissibility. *Clin Infect Dis*. 2020; 71(9): 2428-2446. doi: 10.1093/cid/ciaa325
12. Васильев А.Н., Гавришина Е.В., Ниязов Р.Р., Адонин В.К., Тутер Е.А., Бунятян Н.Д., и др. Анализ зарубежных и отечественных научных и методических подходов к выбору препарата сравнения в доклинических и клинических исследованиях. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2015; 10(4): 671-673. [Vasiliev AN, Gavrishina EV, Niyazov RR, Adonin VK, Tuter EA, Bunyatyan ND, et al. Analysis of foreign and domestic scientific and methodological approaches to choice of comparator drug in preclinical and clinical studies. *International Journal of Applied and Fundamental Research*. 2015; 10(4): 671-673. (In Russ.)]. URL: <https://applied-research.ru/ru/article/view?id=7603> [дата доступа: 04.03.2024].
13. Brocato RL, Hammerbeck CD, Bell TM, Wells JB, Queen LA, Hooper JW. A lethal disease model for hantavirus pulmonary syndrome in immunosuppressed Syrian hamsters infected with Sin Nombre virus. *J Virol*. 2014; 88(2): 811-819. doi: 10.1128/JVI.02906-13
14. Madamsetty VS, Mohammadinejad R, Uzielienė I, Nabavi N, Dehshahri A, García-Couce J, et al. Dexamethasone: Insights into pharmacological aspects, therapeutic mechanisms,

and delivery systems. *ACS Biomater Sci Eng.* 2022; 8(5): 1763-1790. doi: 10.1021/acsbomaterials.2c00026

15. Maskin LP, Bonelli I, Palizas F, Velo AE, Lurbet MF, et al. High- versus low-dose dexamethasone for the treatment of COVID-19-related acute respiratory distress syndrome: A multicenter, randomized open-label clinical trial. *J Intensive Care Med.* 2022; 37(4): 491-499. doi: 10.1177/08850666211066799

16. Yuan L, Zhou M, Ma J, Liu X, Chen P, Zhu H, et al. Dexamethasone ameliorates severe pneumonia but slightly enhances

viral replication in the lungs of SARS-CoV-2-infected Syrian hamsters. *Cell Mol Immunol.* 2022; 19(2): 290-292. doi: 10.1038/s41423-021-00793-7

17. Dubina MV, Gomonova VV, Taraskina AE, Vasilyeva NV, Sayganov SA. Pathogenesis-based preexposure prophylaxis associated with a low risk of SARS-CoV-2 infection in health-care workers at a designated COVID-19 hospital: A pilot study. *BMC Infect Dis.* 2021; 21(1): 536. doi: 10.1186/s12879-021-06241-1

Сведения об авторах

Гуляева Марина Александровна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории экспериментальной онкологии и испытания фармакологических средств, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины»; доцент кафедры физиологии факультета естественных наук, ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», e-mail: mgulyaeva@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3945-5339>

Шестопалова Лидия Владимировна – доктор биологических наук, профессор, заместитель декана факультета естественных наук, ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», e-mail: lv@fen.nsu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6619-2135>

Дин Синьсинь – магистрант факультета естественных наук, ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», e-mail: 2969418606@qq.com

Алексеев Александр Юрьевич – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории экспериментальной биологии патогенных микроорганизмов, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», e-mail: ayalekseev@frcfm.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0015-9305>

Мархаев Александр Геннадьевич – младший научный сотрудник лаборатории экспериментальной биологии патогенных микроорганизмов, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», e-mail: mag87@ngs.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5418-4261>

Филиппова Анастасия Юрьевна – лаборант лаборатории экспериментальной онкологии и испытания фармакологических средств, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины»; студент специалитета Института медицины и психологии В. Зельмана, ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», e-mail: a.filippova1@g.nsu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7403-3089>

Антонов Виктор Георгиевич – доктор медицинских наук, профессор кафедры биологической химии, ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет Минздрава России, e-mail: mulit7@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9910-5395>

Трашков Александр Петрович – кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической физиологии с курсами иммунопатологии и медицинской информатики, ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет Минздрава России, e-mail: alexandr.trashkov@gmail.com

Шестопалов Александр Михайлович – доктор биологических наук, профессор, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», e-mail: amshestopalov@frcfm.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9734-0620>

Information about the authors

Marina A. Gulyaeva – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer at the Laboratory of Experimental Oncology and Testing of Pharmacological Agents, Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine; Associate Professor at the Department of Physiology, Faculty of Natural Sciences, Novosibirsk State University, e-mail: mgulyaeva@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3945-5339>

Lydiya V. Shestopalova – Dr. Sc. (Biol.), Professor, Deputy Dean of the Faculty of Sciences, Novosibirsk State University, e-mail: lv@fen.nsu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6619-2135>

Xinxin Dean – Graduate Student at the Faculty of Sciences, Novosibirsk State University, e-mail: 2969418606@qq.com

Alexander Yu. Alekseev – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Experimental Biology of Pathogenic Microorganisms, Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine, e-mail: ayalekseev@frcfm.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0015-9305>

Alexander G. Markhaev – Junior Research Officer at the Laboratory of Experimental Biology of Pathogenic Microorganisms, Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine, e-mail: mag87@ngs.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5418-4261>

Anastasija Yu. Filippova – Clinical Research Assistant at the Laboratory of Experimental Oncology and Testing of Pharmacological Agents, Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine; Student, V. Zelman Institute of Medicine and Psychology, Novosibirsk State University, e-mail: a.filippova1@g.nsu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7403-3089>

Viktor G. Antonov – Dr. Sc. (Med.), Professor at the Department of Biological Chemistry, St. Petersburg State Pediatric Medical University, e-mail: mulit7@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9910-5395>

Alexander P. Trashkov – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Pathological Physiology with Courses of Immunopathology and Medical Informatics, St. Petersburg State Pediatric Medical University, e-mail: alexandr.trashkov@gmail.com

Alexander M. Shestopalov – Dr. Sc. (Biol.), Professor, Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine, e-mail: amshestopalov@frcfm.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9734-0620>