

Морозова О.В.<sup>1</sup>, Исаева Е.И.<sup>1</sup>, Вязов С.О.<sup>2</sup>

## Новые подходы к лечению флавивирусных инфекций

<sup>1</sup>Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва; <sup>2</sup>Институт вирусологии, госпиталь Университета Дуйсбург-Эссен, Эссен, Германия

Поскольку спонтанный мутагенез и быстрые перестройки квазивидов РНК-содержащих флавивирусов, а также отсутствие вирусных и клеточных систем репарации РНК приводят к устойчивости к индивидуальным изначально эффективным противовирусным препаратам, рекомендуют комбинированную терапию нуклеозидными и нуклеозидными ингибиторами вирусных ферментов в сочетании с иммуномодуляторами. Применение специфических иммуноглобулинов не только не обеспечивает полной элиминации большинства флавивирусов, но может приводить к усилению их инфекционности вследствие проникновения комплексов вирионов со специфичными антителами в клетки с рецепторами для Fc-фрагментов иммуноглобулинов.

Ключевые слова: вирус гепатита С; вирус клещевого энцефалита; рибавирин; интерферон; ингибиторы протеаз; РНКазы; иммуноглобулины; пептиды.

Для цитирования: Вопросы вирусологии. 2015; 60 (6): 5–9.

Morozova O.V.<sup>1</sup>, Isaeva E.I.<sup>1</sup>, Viazov S.O.<sup>2</sup>

## New approaches to the treatment of the flavivirus infections

<sup>1</sup>The D.I. Ivanovsky Institute of Virology" Federal State Budgetary Institution "Federal Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya" of the Ministry of Health of the Russian Federation, 123098, Moscow, Russia; <sup>2</sup>Virology Institute of University Hospital, Essen, Germany

Since spontaneous mutagenesis and quasi-species rearrangements of the RNA-containing viruses, as well as an absence of both viral and cellular RNA reparation systems, causes resistance to originally effective antiviral drugs, combination therapy with nucleoside and non-nucleoside inhibitors of the viral enzymes in combination with immunomodulators is recommended. The use of specific immunoglobulins does not result in complete elimination of the flaviviruses but rather in possible antibody-dependent enhancement of the flavivirus infection by means of increased penetration of complexes of virions with specific antibodies into cells with receptors for Fc-fragments of immunoglobulins.

Key words: Hepatitis C virus; tick-borne encephalitis virus; ribavirin; interferon; protease inhibitors; RNases; immunoglobulins; peptides.

Received 21.11.13

For correspondence: Olga Morozova, MD, PhD, ScD; e-mail: omorozova2010@gmail.com

Citation: Voprosy virusologii. 2015; 60(6): 5–9. (In Russ.)

Семейство флавивирусов включает патогенные для человека и животных РНК-содержащие вирусы, из которых наиболее распространены вирус гепатита С (ВГС), вирусы денге типов 1–4, желтой лихорадки, лихорадки Западного Нила, японского и клещевого энцефалитов (ВКЭ). По оценкам ВОЗ, 130–170 млн человек в мире инфицированы ВГС и ежегодная смертность от этой инфекции достигает 350 тыс. человек [1]. Инфекция, вызываемая ВГС, в 60–80% случаев переходит в хроническую форму. Примерно у 20% больных хроническим гепатитом С развивается цирроз печени, что повышает риск развития печеночной недостаточности и гепатоцеллюлярной карциномы с летальным исходом.

Вирусы другого рода *Flavivirus* семейства *Flaviviridae* переносятся членистоногими (комарами, клещами и др.). Их стабильная циркуляция в природных популяциях среди многочисленных позвоночных и беспозвоночных резервуарных хозяев не поддается регулируемому контролю, поэтому полная элиминация посредством всеобщей

вакцинации недостижима. До 200 млн человек в мире инфицированы флавивирусами (для ссылок см. [2]). В зонах риска инфицирования вирусом денге проживают более 2 млрд человек, вирусом желтой лихорадки – 600 млн [2–5]. Индуцированные флавивирусами энцефалиты могут переходить в хроническую форму и приводить к инвалидизации с развитием параличей и парезов. Оценки частот персистентных форм инфекции и уровней смертности различны для разных видов флавивирусов. Для наиболее распространенного на территории России и поэтому наиболее изученного ВКЭ уровни летальных исходов достигают 20–60% от общего числа инфицированных лиц для дальневосточного генетического типа, 6–8 и 1–2% для сибирского и западноевропейского типов соответственно [4]. Наиболее высокие частоты хронизации инфекции отмечены для сибирского типа ВКЭ [4].

Генетическая гетерогенность флавивирусов, обусловленная отсутствием редактирующей активности РНК-зависимых РНК-полимераз и систем репарации РНК, а

также модулирование врожденного и специфического иммунитета приводят к недостаточности вакцинопрофилактики и неполной защите от гетерологичных штаммов. Широкая распространенность и тяжесть заболеваний, вызываемых флавивирусами, а также высокие уровни смертности, персистенции возбудителей и инвалидизации пациентов наряду с отсутствием или недостаточной эффективностью вакцин обуславливают разработку и применение противовирусных препаратов.

### Поиск потенциальных мишеней для противофлавивирусных препаратов

Флавивирусы – оболочечные РНК-содержащие вирусы диаметром 40–50 нм со сходной молекулярной организацией. Геном представлен одноцепочечной РНК положительной полярности длиной от 9 до 11 тыс. нуклеотидных остатков (н. о.), содержащей одну открытую рамку считывания, окруженную нетранслируемыми регуляторными областями со шпичечно-петлевыми структурами. Рецепторопосредованный эндоцитоз обеспечивает проникновение флавивирусов в клетки. Многоэтапное взаимодействие флавивирусов с рецепторами завершается клатринопосредованным эндоцитозом, слиянием вирусной оболочки и клеточной мембраны и освобождением геномной РНК. Для ВГС описаны рецепторы CD81, SR-BI, CLDN-1 и OCLN [6]. Идентифицированы клеточные рецепторы для переносимых комарами флавивирусов: олиго- и полисахариды (в частности, гепарин, гепарансульфат и глюкозаминогликаны (ГАГ)) [7–8], а также мембранные белки. Рецепторы липопротеинов низкой плотности и интегрин  $\alpha_3\beta_3$  являются функциональными рецепторами только в некоторых перmissive культурах клеток млекопитающих. Лектины С-типа (C-type lectin receptors (CLR)) на поверхности миелоидных клеток также могут служить рецепторами для различных патогенов, включая флавивирусы [9]. Ингибиторы проникновения оболочечных РНК-содержащих вирусов широкого спектра действия – производные родамина LJ-001 и 2'-дезоксигуанидина dUY11 интеркалируют в липидный бислой, препятствуя таким образом слиянию вирусной и клеточной мембран, что показано только для ВГС, но не для других флавивирусов [10–11].

Инициация трансляции происходит с внутреннего участка связывания рибосом (internal ribosome entry site (IRES)), расположенного в 5'-нетранслируемой области вирусного генома. Полипротеин-предшественник ко- и посттрансляционно подвергается протеолитическому процессингу под действием вирусных и клеточных протеаз. Вирусная трипсиноподобная сериновая протеаза локализована в 180 аминокислотных остатках (а. о.) N-концевого домена белка NS3, зависит от кофактора – 40 а. о. неструктурного белка NS2B флавивирусов и гидролизует преимущественно пептидные связи после основных а. о., таких как Arg – Arg, Arg – Lys, Lys – Arg или Gln – Arg в позициях P1 и P2, которым предшествуют Gly, Ala или Ser в позиции P1' [3]. Поэтому ингибиторы протеаз бензамидин и фенилметилсульфонилфторид (phenylmethanesulfonylfluoride (PMSF)) не активны по отношению к флавивирусной протеазе NS3, в то время как конкурентный ингибитор конформационный аналог субстрата пальматин, производные пиразола и пептидные аналоги участков расщепления флавивирусного полипротеина могут ингибировать процессинг флавивирусных белков [2]. Поскольку гидролиз пептидных связей между всеми вирусными гликопротеинами рgM, E и NS1 происходит под действием клеточной протеазы, их созревание невозможно селективно блокировать нетоксичными противовирусными препаратами. Однако ингибиторы  $\alpha$ -гликозидаз эндоплазматического ретикула блокируют N-гликозилирование поверхностных

гликопротеинов флавивирусов, препятствуя их выходу из клеток. Существенное ингибирование созревания флавивирусов обнаружено под действием N-нонил-дезоксиноджиримицина (N-nonyl-deoxyonjirimycin), что, возможно, опосредуется подавлением секреции гликопротеинов E и NS1 [12]. Расщепление полипротеина на N-конце приводит к образованию трех структурных белков, из которых один связывается с геномной РНК с образованием нуклеокапсида, а два другие гликопротеина образуют вирусную оболочку после интеркаляции в липидный бислой.

Большие неструктурные белки NS3 и NS5 флавивирусов (для ВГС NS3 и NS5B) обеспечивают репликацию геномных РНК с образованием промежуточных продуктов: частично двухцепочечных репликативных интермедиатов и полностью двухцепочечных репликативных форм без синтеза ДНК-копий геномов и субгеномных РНК. Копирование 5'-концов геномных РНК флавивирусов катализируется неструктурными белками NS5, на N-конце которого расположены активные центры гуанилилтрансферазы, N7- и 2'-О-метилтрансферазы, и NS3, обладающим РНК-трифосфатазной активностью. Ферментативная активность НТРазы и репликазы, ассоциированная с белком NS3 флавивирусов, может ингибироваться широким спектром аналогов нуклеозидов с модифицированным азотистым основанием, таких как рибавирин-5'-трифосфат, паклитаксел (paclitaxel), а также модифицированными нуклеотидами с заместителями по гетероциклическому кольцу (ring expanded nucleosides (RENs) triphosphates) [13] или производными нуклеотидов с негидролизуемой связью между  $\beta$ - и  $\gamma$ -фосфатами [2]. При этом ингибирование ферментативных активностей белка NS3 флавивирусов достигается только в оптимальных условиях *in vitro*, в то время как противовирусные свойства *in vivo* остаются неизвестными. Ингибиторами метилтрансферазной активности флавивирусного белка NS5 могут служить производные S-аденозилметионина (S-adenosylmethionine (SAM)) или S-аденозилмоноцистеина (S-adenosylhomocysteine (SAH)), являющиеся ингибиторами большинства вирусных и клеточных метилтрансфераз [2, 10]. Так, неплаоцин А (nepplanocin A) – природный карбоциклический нуклеозид и его более стабильные аналоги без гликозидной связи абакавир и карбовир могут ингибировать образование “кэп”-структур на 5'-концах флавивирусных РНК. Альтернативный способ ингибирования связывания белка NS5 с “кэп”-структурами состоит в фосфорилировании эукариотического фактора инициации трансляции eIF4E, приводящем к снижению специфичности взаимодействий [2]. Аффинное взаимодействие альдегидсодержащих и 4-N-экзо-фотореакционных аналогов нуклеотидов с белками NS3 и NS5 не обеспечивало полного ингибирования репликации флавивирусов в инфицированных клетках [14–15].

Единственный неструктурный гликопротеин NS1 флавивирусов находится на поверхности инфицированных клеток и секретируется из инфицированных клеток в форме гомо- и гетеродимеров. У гепативирусов и пести-вирусов вместо гена NS1 идентифицирован ген р7. Малые неструктурные белки, отличающиеся по размерам в разных типах инфицированных клеток, обеспечивают заякоривание репликативного комплекса [2–5].

Генетическая изменчивость и варибельность вирусных белков РНК-содержащих флавивирусов затрудняют создание специфических противовирусных препаратов. Исследование молекулярных механизмов проникновения флавивирусов в клетки, репликации геномных РНК и трансляции позволило идентифицировать специфические флавивирусные мишени и создать конформационные модели для дизайна специфических ингибиторов [1, 2].

## Лечение флавивирусных инфекций: проблемы и перспективы

Рибавирин, аналог нуклеозида, является ингибитором не только вирусных, но и клеточных ферментов синтеза нуклеиновых кислот и поэтому токсичен для клеток хозяина. Описано угнетение кроветворения [1, 11, 15]. Иммуномодулятор интерферон может приводить к дисбалансу цитокинов. При его длительном применении наблюдают развитие аллергических реакций и индукцию антител, направленных к интерферону, что обуславливает необходимость отмены лечения [1, 16]. Повышенные дозы интерферона вызывают иммунодепрессии [16]. Несмотря на сходство молекулярной организации трех родов семейства флавивирусов, многочисленны попытки ингибирования репродукции ВКЭ аналогом нуклеозида рибавирином, который широко используется для лечения гепатита С и полиомиелита, оказались безуспешными. Широкое применение интерферона и его индукторов для лечения флавивирусных инфекций также ограничено, поскольку опыт комбинированной терапии гепатита С рибавирином и интерфероном показал, что побочными эффектами являются усталость, лихорадка, желудочно-кишечные нарушения, нейропсихиатрические симптомы, анемия и другие гематологические осложнения. Таким образом, помимо относительно невысокой эффективности в отношении разных флавивирусов и высокой стоимости, комбинированная терапия интерфероном и рибавирином может вызывать побочные эффекты.

В настоящее время применяют противовирусные препараты прямого действия (direct-acting antivirals – DAAs), ингибирующие неструктурные белки флавивирусов: сериновую протеазу – NS3/4A и РНК-зависимую РНК-полимеразу – белки NS5A NS5B. В 2011 г.  $\alpha$ -кетоамидные линейные пептидомиметики, обратимо взаимодействующие с каталитическим центром протеазы NS3/4A ВГС, телапревир (telaprevir) и боцепревир (bocoprevir) были разрешены для клинического применения в Северной Америке и Европе. Применение этих препаратов в сочетании с пегилированным ИФН- $\alpha$  и рибавирином для лечения хронического гепатита С, вызванного генотипом 1 ВГС, приводило к полному исчезновению вируса у ранее не леченных больных в 67–75% случаев. В контрольной группе в результате комбинированной терапии интерфероном и рибавирином устойчивое снижение вирусных нагрузок наблюдали у 45% пациентов [1, 16, 17]. В настоящее время на стадии клинических испытаний находится ряд ингибиторов вирусной NS3/4A-протеазы (sofosbuvir, simeprevir, sofosbuvir) [18–24]. Некоторые из них представляют собой макроциклические пептидомиметики, также блокирующие каталитический центр протеазы с помощью нековалентного взаимодействия. Применение ингибиторов NS3/4A-протеазы ВГС ограничено из-за быстрого появления и селекции резистентных вариантов флавивирусных квазивидов; подавления не всех генотипов ВГС и побочных эффектов [18, 19]. Возможный способ преодоления этих препятствий состоит в комбинированной терапии ингибиторами протеазы в сочетании не только с рибавирином и интерфероном, но и с противовирусными препаратами с иными флавивирусными мишенями, например ингибиторами РНК-полимеразы NS5B или белка NS5A.

Ингибиторы РНК-зависимой РНК-полимеразы NS5B ВГС включают нуклеозиды или их производные (НИ) и ненуклеозидные ингибиторы (НИИ). НИ непосредственно блокируют каталитический центр РНК-полимеразы. Поскольку структура каталитического сайта консервативна для всех генотипов ВГС, НИ активны в отношении широкого спектра вариантов вируса. В экспериментах *in vitro* выявлено ограниченное число мутантов, резистент-

ных к НИ. В отличие от НИ механизм действия НИИ основан на аллостерическом эффекте. Для НИИ характерен низкий барьер генетической резистентности.

Успехи в изучении механизмов взаимодействия флавивирусов и организма хозяина [17], позволившие идентифицировать клеточные факторы репликации геномной РНК [25], привели к разработке препаратов, блокирующих взаимодействие вирусных и клеточных факторов [18, 19, 25]. Предполагается, что циклофилин А вызывает конформационные изменения неструктурного белка NS5A ВГС, приводящие к активации вирусной РНК-полимеразы. Разработаны несколько ингибиторов циклофилина А, один из которых алиспоривир (Дебио-025) продемонстрировал сравнительно высокую эффективность и низкую частоту побочных реакций как при монотерапии, так и при сочетанном применении с интерфероном и рибавирином.

Перспективной мишенью для терапии гепатита С является микроРНК-122 (miR-122), специфичная для клеток печени, взаимодействующая с геномом ВГС и повышающая эффективность вирусной репликации [9, 18, 19, 26]. Клинические испытания по подавлению этого взаимодействия с помощью химически модифицированных антагонистов (антагомиров) miR-122, в частности миравирсена, продемонстрировали снижение титров вируса при слабой выраженности побочных эффектов.

Список потенциальных клеточных мишеней для химиотерапии гепатита С постоянно расширяется [9, 17, 18]. Начаты исследования препаратов, ингибирующих клеточные рецепторы и корецепторы для ВГС. Эти препараты включают соединение ITX 5061, взаимодействующее с рецептором SRB1, и уже лицензированные препараты эрлотиниб и эзетимиб, реагирующие с белками EGFR и NPC1L1 соответственно. Интенсивно ведется и поиск веществ, ингибирующих плейотропные функции других вирусных белков – Р7, белка нуклеокапсида С и белков оболочки E1 и E2.

Несмотря на прогресс специфической терапии ВГС аналогичные ингибиторы протеаз и репликаз других флавивирусов пока не найдены.

Схемы лечения клещевого энцефалита (КЭ) в разных странах, расположенных в эндемичных зонах, отличаются. В России лечение КЭ основано на применении специфического иммуноглобулина из сывороток крови доноров, аналогов интерферонов – виферона, реаферона-ЕС-липидта (человеческий рекомбинантный ИФН- $\alpha$ 2 и ИФН- $\alpha$ 2b) или индукторов интерферона (ларифана, неовира, тилорона, амиксина, циклоферона, ремантадина, ридостина, камедона, йодантипирина), а также цитофлавина, энериона, маннитола, ноотропила, пентоксифиллина и рибонуклеазы А из поджелудочной железы быка. Однако известно, что белки, к которым относятся иммуноглобулины и РНКазы с молекулярной массой от 12,3–13,7 до 45–150 кДа, не способны проникать в эукариотические клетки и внеклеточные вирионы, следовательно, их возможное действие ограничено поверхностями инфицированных клеток и вирионов. Также не исключен риск контаминации препаратов из донорской крови или органов животных инфекционными агентами. Более того, известно, что в присутствии поли- и моноклональных антител, специфичных к гликопротеину Е, инфекционность флавивирусов может возрастать, что приводит к уменьшению средней продолжительности жизни животных после заражения [27, 28]. Иммунные комплексы вирионов со специфичными антителами проникают в клетки с рецепторами для Fc-фрагментов иммуноглобулинов, к которым относятся В-лимфоциты с CD16 на поверхности, мононуклеарные лейкоциты, нейтрофилы, нормальные клетки-киллеры, эозинофилы, базофилы и тучные клетки, приводя к уве-

личению общего количества зараженных клеток. При этом увеличиваются концентрации цитокинов и количество лимфоцитов, что вызывает каскадное усиление вирусной инфекции. Эффект иммунного усиления инфекционности флавивирусов (antibody-dependent enhancement) является эпителиоспецифичным и индуцируется только некоторыми моноклональными антителами, направленными к гликопротеину Е [28]. Возможно, иммунное усиление инфекционности обусловлено как проникновением комплексов вирионов с антителами к гликопротеину Е в клетки в результате их связывания с рецепторами для Fc-фрагментов иммуноглобулинов [16], так и активацией синтеза РНК в результате связывания белка Е, экранирующего РНК-матрицу [14, 15]. Поэтому введение специфического иммуноглобулина возможно не позже 96 ч после укуса клеща, такая терапия не рекомендована в европейских странах, несмотря на производство иммуноглобулинов.

Препараты интерферона (реаферон, лейкинферон и другие) можно вводить внутримышечно, внутривенно, эндолумбально и эндолимфатически. Однако большие дозы интерферона  $1-6 \cdot 10^6$  МЕ обладают иммунодепрессивным свойством, а устойчивость клеток к ВКЭ не прямо пропорциональна титрам интерферона. Поэтому целесообразно использовать относительно небольшие дозы препарата либо применять индукторы интерферона (двухспиральная РНК фага 2, амиксин, камедон и другие), обеспечивающие невысокие титры интерферона и обладающие иммуномодулирующим свойством. Их эффективность при экспериментальном клещевом энцефалите показана И.Ф. Баринским и соавт. [29]. Дополнительно назначают искусственную вентиляцию легких при нарушении сознания, панангин при нарушениях ритма и проводимости, а также общеукрепляющие растворы глюкозы.

Помимо природных белковых рибонуклеаз в стадии доклинических испытаний вирулицидных, противовирусных свойств и токсичности при разных способах и схемах введения находятся искусственные низкомолекулярные РНКазы на основе металлокомплексов, биогенных аминов, антисмысловых олигонуклеотидов, рибозимов и пептидов.

В европейских эндемичных областях лечение КЭ включает строгий постельный режим, поддержание водно-солевого баланса и применение парацетамола, аспирина, нестероидных противовоспалительных препаратов, анальгетиков, витаминов и антипиретиков. В тяжелых случаях врачи рекомендуют кортикостероиды, хотя их использование официально не разрешено [5]. В Китае к общепринятым методам лечения клещевых нейроинфекций добавляют фитопрепараты, содержащие витамины и микроэлементы.

### Заключение

Благодаря развитию молекулярной вирусологии выявлены потенциальные мишени для специфических противовирусных препаратов при уменьшении токсичности для клеток человека. Поскольку для РНК-содержащих флавивирусов спонтанный мутагенез, быстрые перестройки квазивидов и отсутствие вирусных и клеточных систем репарации РНК приводят к возникновению устойчивости к индивидуальным изначально эффективным противовирусным препаратам, в настоящее время рекомендуют комбинированную терапию нуклеозидными и нуклеозидными ингибиторами вирусных ферментов в сочетании с иммуномодуляторами. Для лечения гепатита С в качестве дополнения к ранее применявшейся комбинированной терапии нуклеозидным аналогом рибавирином и пролонгированным ИФН- $\alpha$  применяют специфические ингибиторы

вирусных протеаз. Для продолжающегося поиска и идентификации противовирусных препаратов необходим поэтапный скрининг комбинаторных библиотек [30] низкомолекулярных аналогов нуклеозидов или ингибиторов вирусных протеаз, а также пептидов, обеспечивающих проникновение флавивирусов в клетки (пептид слияния, участки связывания рецепторов), и искусственных РНКаз. Применение специфических иммуноглобулинов не только не обеспечивает полной инактивации большинства флавивирусов, но может приводить к каскадному иммунному усилению инфекционности флавивирусов посредством проникновения комплексов вирионов со специфичными антителами в клетки через рецепторы для Fc-фрагментов иммуноглобулинов с увеличением концентраций цитокинов и ростом количества лимфоцитов. Наряду с высокомолекулярными иммуноглобулинами белковые РНКазы с молекулярной массой от 12,3–13,7 до 45–150 кДа не способны проникать в клетки и внеклеточные вирионы. Цитокины, включая нативные и recombinantные интерфероны, а также индукторы интерферонов могут приводить к дисбалансу иммунитета. Не исключен риск контаминации белковых препаратов из донорской крови или органов животных инфекционными агентами. В дополнение к противовирусным препаратам прямого действия необходима индукция преимущественно клеточного Th1-иммунного ответа.

### ЛИТЕРАТУРА (пп. 1–28, 30 см. REFERENCES)

29. Баринский И.Ф., Лазаренко А.А., Алимбарова Л.М., Давыдова А.А. Эффективность сочетанного применения иммуномодуляторов и вакцины при клещевом энцефалите в эксперименте. *Вопросы вирусологии*. 2011; 56 (4): 45–7.

### REFERENCES

1. Tong J., Wang Y., Lu Y. New developments in small molecular compounds for anti-hepatitis C virus (HCV) therapy. *J. Zhejiang Univ. Sci. B*. 2012; 13 (1): 56–82.
2. Baier A. Flavivirus infections and potential targets for antiviral therapy. In: Ruzek D., ed. *Flavivirus encephalitis*. Intech, Croatia; 2011: 89–104.
3. Chambers T.J., Weir R.C., Grakoui A., McCourt D.W., Bazan J.F., Fletterick R.J. et al. Evidence that the N-terminal domain of non-structural protein NS3 from yellow fever virus is a serine protease responsible for site-specific cleavages in the viral polyprotein. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1990; 87 (22): 8898–902.
4. Gritsun T.S., Lashkevich V.A., Gould E.A. Tick-borne encephalitis. *Antiviral Res.* 2003; 57 (1–2): 129–46.
5. Mansfield K.L., Johnson N., Phipps L.P., Stephenson J.R., Fooks A.R., Solomon T. Tick-borne encephalitis virus – a review of an emerging zoonosis. *J. Gen. Virol.* 2009; 90 (Pt 8): 1781–94.
6. Poordad F., McCone J.Jr., Bacon B.R., Bruno S., Manns M.P., Sulkowski M.S. et al. Boceprevir for untreated chronic HCV genotype 1 infection. *N. Engl. J. Med.* 2011; 364 (13): 1195–206.
7. Lee E., Lobigs M. Substitutions at the putative receptor-binding site of an encephalitic flavivirus alter virulence and host cell tropism and reveal a role for glycosaminoglycans in entry. *J. Virol.* 2000; 74 (19): 8867–75.
8. Lee E., Lobigs M. Mechanism of virulence attenuation of glycosaminoglycan-binding variants of Japanese encephalitis virus and Murray Valley encephalitis virus. *J. Virol.* 2002; 76 (10): 4901–11.
9. Robinson M.J., Sancho D., Slack E.C., LeibundGut-Landmann S., Reize Sousa C. Myeloid C-type lectins in innate immunity. *Nat. Immunol.* 2006; 7 (12): 1258–65.
10. De Clercq E. Antiviral agents: characteristic activity spectrum depending on the molecular target with which they interact. *Adv. Virus Res.* 1993; 42: 1–55.
11. De Clercq E. Highlights in antiviral drug research: antivirals at the horizon. *Med. Res. Rev.* 2013; 33 (6): 1215–48.
12. Wu S.F., Lee C.J., Liao C.L., Dwek R.A., Zitzmann N., Lin Y.L. Antiviral effects of an iminosugar derivative on flavivirus infections. *J. Virol.* 2002; 76 (8): 3596–604.
13. Borowski P., Niebuhr A., Schmitz H., Hosmane R.S., Bretner M.,

- Siwecka M.A. et al. NTPase/helicase of Flaviviridae: inhibitors and inhibition of the enzyme. *Acta Biochim. Pol.* 2002; 49 (3): 597–614.
14. Morozova O.V., Safronov I.V., Bahvalova V.N., Dobrikov M.I. Affinity labelling of the tick-borne encephalitis virus RNA replicase proteins by 4-N-exo-base-substituted photoreactive CTP analogs. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1998; 8 (7): 787–92.
  15. Morozova O.V., Safronov I.V. Viral protein functions study by affinity modification. *Mini Rev. Med. Chem.* 2001; 1 (3): 283–91.
  16. Thomas D.B. *Viruses and the cellular immune response*. New York, Basel, Hong Kong; 1993.
  17. Ploss A., Dubuisson J. New advances in the molecular biology of hepatitis C virus infection: towards the identification of new targets. *Gut.* 2012; 61: 25–35.
  18. Büchler S, Bartenschlager R. New targets for antiviral therapy of chronic hepatitis C. *Liver Int.* 2012; 32 (Suppl. 1): 9–16.
  19. Schaeffer E.A., Chung R.T. Anti-hepatitis C virus drugs in development. *Gastroenterology.* 2012; 142 (6): 1340–50.
  20. Chopp S., Vanderwall R., Hult A., Klepser M. Simeprevir and sofosbuvir for treatment of hepatitis C infection. *Am. J. Health Syst. Pharm.* 2015; 72 (17): 1445–55.
  21. Jacobson I.M., Dore G.J., Foster G.R., Fried M.W., Radu M., Rafalsky V.V. et al. Simeprevir with pegylated interferon alfa 2a plus ribavirin in treatment-naïve patients with chronic hepatitis C virus genotype 1 infection (QUEST-1): a phase 3, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet.* 2014; 384 (9941): 403–13.
  22. Guedj J., Pang P.S., Denning J., Rodriguez-Torres M., Lawitz E., Symonds W., Perelson A.S. Analysis of hepatitis C viral kinetics during administration of two nucleotide analogues: sofosbuvir (GS-7977) and GS-0938. *Antivir. Ther.* 2014; 19 (2): 211–20.
  23. Liu M., Tuttle M., Gao M., Lemm J.A. Potency and resistance analysis of hepatitis C virus NS5B polymerase inhibitor BMS-791325 on all major genotypes. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2014;58 (12): 7416–23.
  24. Wang C., Sun J.H., O'Boyle D.R. 2nd, Nower P., Valera L., Roberts S. et al. Persistence of resistant variants in hepatitis C virus-infected patients treated with the NS5A replication complex inhibitor daclatasvir. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2013; 57 (5): 2054–65.
  25. Salloum S., Tai A.W. Treating hepatitis C infection by targeting the host. *Transl. Res.* 2012; 159 (6): 421–9.
  26. Stahla-Beek H.J., April D.G., Saedi B.J., Hannah A.M., Keenan S.M., Geiss B.J. Identification of a novel antiviral inhibitor of the flavivirus guanylyltransferase enzyme. *J. Virol.* 2012; 86 (16): 8730–9.
  27. Peiris J.S., Porterfield J.S. Antibody-mediated enhancement of flavivirus replication in macrophage cell lines. *Nature.* 1979; 282 (5738): 509–11.
  28. Phillipotts R.J., Stephenson J.R., Porterfield J.S. Antibody-dependent enhancement of tick-borne encephalitis virus infectivity. *J. Gen. Virol.* 1985; 66 (8): 1831–7.
  29. Barinskiy I.F., Lazarenko A.A., Alimbarova L.M., Davydova A.A. Efficacy of combined use of immunomodulators and vaccines in the tick-borne encephalitis in the experiment. *Voprosy virusologii.* 2011; 56 (4): 45–7. (in Russian)
  30. Kampmann T., Yennamalli R., Campbell P., Stoermer M.J., Fairlie D.P., Kobe B. et al. In silico screening of small molecule libraries using the dengue virus envelope E protein has identified compounds with antiviral activity against multiple flaviviruses. *Antiviral Res.* 2009; 84 (3): 234–41.

Поступила 21.11.13

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

УДК 615.371:578.891|03:616.36-002-022-06:616.24|015.46

*Костинов М.П.<sup>1</sup>, Чикина Е.Ю.<sup>1</sup>, Кулакова Н.А.<sup>1</sup>, Борисова В.Н.<sup>2</sup>, Магаршак О.О.<sup>1</sup>*

### Эффективность вакцинации против гепатита В у больных хронической обструктивной болезнью легких и возможности коррекции иммунного ответа

<sup>1</sup>ФГБУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», 105064, г. Москва; <sup>2</sup>ЗАО «Комбиотех», 117871, г. Москва

Проблема вакцинации против гепатита В пациентов с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) весьма актуальна, поскольку в настоящее время недостаточно изучены процессы формирования поствакцинального иммунитета, особенно при комбинированном введении вакцин и иммунокорректирующих препаратов, а также вопросы безопасности вакцинации и ее влияния на течение ХОБЛ. В связи с этим целью работы явилась оценка эффективности вакцинации против гепатита В пациентов, страдающих ХОБЛ, и возможности коррекции иммунного ответа препаратом Аффинолейкин. Было обследовано 59 больных ХОБЛ тяжелого и среднетяжелого течения в возрасте от 35 до 65 лет, которым вводили вакцину против гепатита В (ЗАО «Комбиотех») по схеме 0–1–6 мес, у 25 из них вакцинация сочеталась с применением иммунокорректирующего препарата Аффинолейкин. Группу сравнения составили 34 здоровых человека, вакцинированные по аналогичной схеме. Вакцинация не сопровождалась ухудшением течения заболевания и развитием необычных реакций. Выявлены особенности поствакцинального иммунного ответа: после первого введения вакцины 70% пациентов с ХОБЛ в отличие от здоровых лиц были серонегативными, за исключением больных, которым дополнительно вводили Аффинолейкин. После второй вакцинации у 41% пациентов уровень антител был ниже защитного при 100% сероконверсии у больных, получавших Аффинолейкин. Введение третьей дозы вакцины привело к быстрому и значительному нарастанию уровня антител в основном в высоких концентрациях при 100% сероконверсии у всех пациентов в течение 6 мес. Сочетанное применение вакцины против гепатита В и Аффинолейкина у больных ХОБЛ приводит к достоверному снижению частоты рецидивов заболевания и улучшению показателей функции внешнего дыхания в течение года.

Ключевые слова: вакцинация; хроническая обструктивная болезнь легких; гепатит В; Аффинолейкин.

Для цитирования: Вопросы вирусологии. 2015; 60 (6): 9–14.

Для корреспонденции: Чикина Елена Юрьевна, канд. мед. наук, науч. сотр. лаб. алергодиагностики; e-mail: gelo.68@mail.ru