

Патогенетическая медикаментозная профилактика, сопровождаемая низким риском заражения SARS-CoV-2 у медицинских работников в профильном стационаре для лечения пациентов с COVID-19

дмн Дубина М.В., Гомонова В.В., кбн Тараскина А.Е., дбн Васильева Н.В.,
дмн Сайганов С.А.

Учреждения: ФГБОУВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, ул. Кирочная, д.41, Санкт-Петербург, 191015, Россия (ГВВ, ТАЕ, ВНВ, ССА); «ФГБУ Российская академия наук, Ленинский пр., д.14, Москва, 119991, Россия; ФГУП «Гос.НИИ особо чистых биопрепаратов» ФМБА России, ул. Пудожская, д.7, Санкт-Петербург, 197110, Россия (ДМВ).

Контакт: Дубина М.В., Гос.НИИ особо чистых биопрепаратов, ул. Пудожская, д.7, Санкт-Петербург 197110, Россия; e-mail: michael.dubina@gmail.com; ORCID: 0000-0002-6606-3309.

Абстракт: В настоящее время нет доказанных эффективных лекарственных средств для профилактики новой коронавирусной инфекции COVID-19. Основываясь на текущих знаниях о патогенезе этого заболевания, мы предположили, что возникновение и развитие инфекционного процесса, вызываемого вирусом SARS-CoV-2, может быть предотвращено путем прямой поддержки собственных окислительно-восстановительных, метаболических и дилатационных функций легочной ткани, с помощью ингаляции хорошо переносимых лекарственных веществ, которые обеспечивают эти функции, например, используя низкие концентрации глутатиона, инозина и калия. С 1 июня по 10 июля 2020 года в профильном стационаре для лечения пациентов с COVID-19 проведено малоинтервенционное открытое одноцентровое исследование эффективности и безопасности влияния медикаментозной профилактики заражения вирусом SARS-CoV-2 у медицинских работников (n=99) с использованием аэрозольной лекарственной комбинации (АЛК). Участники исследования в течение 14 дней получали АЛК, включавшую 21,3 мг/мл глутатиона и 8,7 мг/мл инозина в водном растворе калия в концентрации 107 мМ. Основным исследуемым результатом была частота лабораторно подтвержденных случаев заражения вирусом SARS-CoV-2, определяемая по положительным показателям регулярного генетического или иммунологического тестирования, в течение 28 дней исследования. Мы также ретроспективно сравнили уровень заражения вирусом SARS-CoV-2 в группе участников исследования и в группе медицинских работников в том же стационаре, не использовавших АЛК (n=268). В период применения АЛК нежелательные явления наблюдались у пяти участников; все явления были незначительными и преходящими. SARS-CoV-2 был обнаружен у двух участников исследования (2%), что было достоверно ниже показателя вирусного заражения у 24 медицинских работников, не принимавших медикаментозную профилактику (9%), $p=0,02$. Результаты данного исследования свидетельствуют о безопасности и эффективности патогенетической медикаментозной профилактики COVID-19 у здоровых взрослых лиц в условиях повышенного риска заражения вирусом SARS-CoV-2. Исследование зарегистрировано в базах данных rosrid.ru AAAA-A20-120061690058-2 и isrctn.com ISRCTN34160010.

ВВЕДЕНИЕ

COVID-19 – новое заболевание, вызываемое вирусом тяжелого острого респираторного синдрома 2 (*англ.* – severe acute respiratory syndrome coronavirus 2; SARS-CoV-2), которое впервые было обнаружено у человека в декабре 2019 года (*Zhu et al 2020*). До 29 сентября 2020 года в мире зарегистрировано более 30 млн. случаев заражения и 950 тыс. смертельных случаев (*WHO 2020*²). Клиническая картина болезни варьируется от бессимптомного носительства до развития пневмонии с рентгенологическими признаками «матового стекла», которая может прогрессировать в угрожающие жизни осложнения, включая острый респираторный дистресс-синдром (*англ.* – acute respiratory distress syndrome; ARDS) и полиорганную недостаточность (*Guan et al 2020*). Пожилые пациенты, а также лица с сопутствующими респираторными, сердечно-сосудистыми и метаболическими заболеваниями подвержены наибольшему риску тяжелых и смертельных осложнений (*Wu et al 2020*). Выраженным генетическим отличием вируса SARS-CoV-2 является удлиненный гикопротеин S, который примерно на 80% идентичен по нуклеотидной последовательности другим вирусам SARS-CoV и MERS (*Lu et al 2020*). Учитывая сходство и предыдущие исследования вирусов SARS-CoV, патогенез COVID-19 рассматривается с точки зрения этапов инфекционного процесса, соответствующих проникновению и репликации вирусных частиц в верхних дыхательных путях, дальнейшей миграции вируса вдоль респираторного тракта с последующим выраженным иммунным ответом, вызывающим гипоксию и ARDS (*Cao & Li 2020*). При отсутствии доказанных эффективных способов терапии COVID-19 для лечения пациентов в настоящее время применяются лекарственные средства «off-label» (по показаниям, не утверждённым государственными регулирующими органами, не упомянутым в инструкции по применению) или «compassionate-use» (в благотворительных целях) с учетом представлений о превалирующей значимости в патогенезе заражения вирусом SARS-CoV-2 повреждений бронхоальвеолярного эпителия, разнонаправленных иммунных реакций и воспалительных проявлений (*Baden & Rubin 2020*). При этом, не смотря на текущие разработки в мире более ста новых вакцин против COVID-19 (*WHO 2020*⁸), к настоящему времени нет доказанных эффективных средств для медикаментозной профилактики этой болезни (*NIH 2020*).

Ангиотензин-превращающий фермент 2 (АПФ2; *англ.* – angiotensin converting enzyme 2; ACE2) является рецептором для вируса SARS-CoV-2, так же как и для других вирусов SARS-CoV (*Hoffmann et al 2020*). Тем не менее, согласно данным структурных, биохимических и модельных исследований SARS-CoV-2 может распознавать ACE2 с аффинностью на порядок

большей, чем для всех других вирусов SARS-CoV (*Shang et al 2020, Wrapp et al 2020*). Экспрессия ACE2 выявлена в эпителиальных клетках носовой области и альвеол, а также в гладкомышечных и эндотелиальных клетках (*Hamming et al 2004, Hou et al 2020*), хотя в целом ACE2 слабо представлен в клетках респираторного тракта (*Sungnak et al 2020*). ACE2 подавляет продукцию ангиотензина II (*англ.* – angiotensin II; Ang II), индуцируемую ангиотензин-превращающим ферментом (*Donoghue et al 2000*). Исследованиями *in vivo* показано выраженное подавление экспрессии ACE2 в легких мышей после инфицирования SARS-CoV, что позволило предположить важную роль ACE2 в развитии тяжелой острой патологии легких, вызванной SARS-CoV (*Kuba et al 2005*). В процессе взаимодействия SARS-CoV и ACE2 при проникновении вируса в клетку происходит подавление функции ACE2 (напрямую вследствие присоединения вируса или опосредованно вследствие лизиса клетки), что в свою очередь снижает его ингибирующее влияние на Ang II (*Rivellese & Prediletto 2020*). Таким образом, вирус SARS-CoV-2 может снижать активность ACE2, что приводит к регуляторному дисбалансу ACE2/Ang II (*Cheng et al 2020*), вызывая гипоксическую легочную вазоконстрикцию (*англ.* – hypoxic pulmonary vasoconstriction; HPV) и нарушение метаболического гомеостаза в гладкомышечных клетках (*англ.* – smooth muscle cells; SMCs) дистальных отделов дыхательных путей.

Ключевая роль ACE2 в патогенезе инфекционного процесса, вызываемого заражением SARS-CoV-2, высокая аффинность связывания вируса с рецептором, тяжесть клинических проявлений COVID-19 у лиц с респираторными, сердечно-сосудистыми и метаболическими заболеваниями, взятые вместе, позволили нам предположить, что гипоксическая легочная вазоконстрикция и нарушенный метаболический гомеостаз в гладкомышечных клетках воздухопроводящих путей как результат вирус-индуцированного выраженного регуляторного дисбаланса могут превалировать над степенью выраженности иммунного ответа на начальных этапах патогенеза COVID-19. При том, что HPV является физиологическим механизмом, с помощью которого артериальная сеть легких поддерживает оксигенацию крови в условиях альвеолярной гипоксии (*Sylvester et al 2012*), Ang II может индуцировать легочную вазоконстрикцию путем воздействия на рецептор ангиотензина 1 (*англ.* – angiotensin receptor 1; AT1R) (*Forrester et al 2018*), а также приводить к интернализации и деградации мембранных Ca²⁺-активируемых калиевых каналов (*англ.* – membrane Ca²⁺-activated K⁺ channels; BKCa), что является дополнительным механизмом, усиливающим вазоконстрикцию (*Leo et al 2015*). Кроме того, гипоксия *per se* также может воздействовать на гладкомышечные клетки в легочных периферических артериях, вызывая

ингибирование потенциал-зависимых калиевых каналов (*англ.* – voltage-sensitive K^+ channel; K_v), деполяризацию мембран и сокращение гладкомышечных клеток (*Patel et al 1997*), и опосредованно, стимулируя высвобождение вазоконстрикторов и/или угнетая высвобождение вазодилататоров (*Sato et al 2000*). При инфузионном введении Ang II *in vivo* методом геномного транскрипционного анализа выявлено повышение экспрессии генов, участвующих в метаболизме и путях ионного транспорта, а также показано снижение экспрессии генов, защищающих от оксидативного стресса, включая глутатионсинтетазу и митохондриальную супероксиддисмутазу 2 (*Makhanova et al 2010*). При патологических состояниях в поврежденных клетках легочного эндотелия/эпителия происходит нарушение окислительно-восстановительных (*англ.* – reduction-oxidation; redox) процессов и повышение генерации активных форм кислорода, увеличивая эндотелиальную проницаемость, экспрессию провоспалительных цитокинов и адгезионных молекул, что вместе приводит к нарастанию повреждений и отека легочной ткани (*Kellner et al 2017*). Поэтому мы предположили, что инфективность и патогенность вируса SARS-CoV-2, вызывающего легочные повреждения вследствие регуляторного дисбаланса ACE2/Ang II, могут быть устранены прямым поддержанием собственных окислительно-восстановительных, метаболических и дилатационных функций легких с использованием соответствующих хорошо переносимых лекарственных средств.

В настоящее время есть ряд лекарственных средств, механизмы действия которых включают поддержание вентиляционно-перфузионных функций легких. Ярким примером является глутатион (γ -L-глутамил-L-цистеинил-глицин; GSH) – основной непротеиновый тиол (*Meister & Anderson 1983*), концентрация которого снижается в альвеолярных клетках при воздействии токсинов или респираторных вирусов (*Mulier et al 1998*), и такое снижение сопровождается увеличением продукции супероксидов и высвобождением провоспалительных цитокинов (*Papi et al 2008*). Показано, что аэрозольная доставка GSH восстанавливает его уровень в жидкости эпителиальной выстилки легких нижних отделов респираторного тракта *in vivo* (*Buhl et al 1990*), а также улучшает клиническое течение у пациентов с кистозным фиброзом (*Bishop et al 2005*). Воздействие GSH на изолированные бронхи *in vitro* приводило к снижению сократительных свойств гладкомышечных клеток и расширению бронхов (*Casoni et al 2003*) путем увеличения мембранной гиперполяризации гладкомышечных клеток с участием калиевых (K^+) каналов (*Deshpande et al 2010*). В легких человека калиевые каналы (K_v и $ВКСa$), расположенные на апикальной мембране, обеспечивают поддержание повышенного содержания K^+ в жидкости эпителиальной

выстилки легких (*Valeyre et al 1991*). При этом внеклеточный K^+ , являясь функциональным медиатором расширения сосудов, непосредственно участвует в регуляции кровотока в легочной паренхиме (*Haddy et al 2006*). Более того, вазодилататоры, которые действуют через рецепторы, связанные с протеином G, активируют калиевые каналы с использованием сигнального каскада цАМФ, включающим аденозин (*Kleppisch & Nelson 1995*). Гидролитическое дезаминирование аденозина приводит к генерации инозина, концентрация которого увеличивается во внеклеточной жидкости при стрессовых состояниях, вызывая выраженные иммуномодуляторные и цитопротективные эффекты путем воздействия инозина на аденозиновые рецепторы A_{2A}, связанные с протеином G (*Hasko et al 2008*). Инозин может служить альтернативным субстратом для генерации АТФ в гипоксических условиях (*Módis et al 2009*) и защищает эпителий бронхов и альвеол от повреждающих последствий накопления нейтрофилов в очаге воспаления (*Qiu et al 2000*). Инозин также проявляет противовирусное действие, встраиваясь в двухцепочечную вирусную РНК, и потенцирует чувствительность иммунной системы (*Sarvestani et al 2014*). Здесь важно отметить, что препараты на основе инозина входят в число лекарственных средств, которые в настоящее время испытываются для лечения COVID-19 (*Kumar et al 2020*), а также недавно была подтверждена эффективность применения высоких доз глутатиона в устранении тяжелой одышки у пациентов с пневмонией при COVID-19 (*Horowitz et al 2020*).

Известно, что медицинские работники подвергаются высокому риску заражения SARS-CoV-2 при постоянных контактах с инфицированными пациентами (*Hunter et al 2020, Suárez-García et al 2020*). Учитывая высокий риск заражения в медицинской среде, приведенное выше патогенетическое обоснование медикаментозной профилактики и отсутствие к настоящему времени доказанных эффективных средств профилактики и лечения COVID-19, целью данного исследования была оценка эффективности доконтактной профилактики путем аэрозольного применения комбинации глутатиона, инозина и калия в низких концентрациях для предотвращения заражения вирусом SARS-CoV-2 у здоровых взрослых лиц, которые подвержены высокому риску заражения этой инфекцией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования и участники

Это малоинтервенционное проспективное открытое исследование было разработано и проведено в период с 1 июня по 10 июля 2020 года. Исследуемая группа была определена как здоровые взрослые лица, обеспечивающие медицинскую помощь и обслуживание пациентов

с COVID-19 (медицинские работники, МР), включая врачей, медицинских сестер, санитаров, технический и другой персонал, использующий необходимые средства индивидуальной защиты согласно установленным рекомендациям. Исследование было инициировано и проведено в Северо-Западном государственном медицинском университете им. И.И. Мечникова (СЗГМУ), который является одним из ведущих центров медицинского образования, науки и лечебно-диагностической помощи, включающем более 100 клинических подразделений и более 4500 работников. В исследуемую группу включали здоровых волонтеров с отрицательными результатами генетического и иммунологического анализа на SARS-CoV-2 из числа МР в стационаре на 264 койки для лечения пациентов с COVID-19, который был перепрофилирован для этих целей в СЗГМУ с 5 мая 2020 года. Учитывая результаты предыдущих наблюдательных исследований, частота заражения вирусом SARS-CoV-2 в условиях высокого риска при постоянных контактах с пациентами, болеющими COVID-19, составляет не менее 11% (Hunter et al 2020, Suárez-García et al 2020). Исходя из расчетов, достоверное снижение частоты заражения вирусом SARS-CoV-2 до 3% в течение периода исследования, достигается при включении 96 или более участников в исследуемую группу для профилактического лечения. Детали дизайна и проведения исследования приведены в прилагаемом протоколе (MIBVD-19/22.04.2020). Исследование было рассмотрено и одобрено локальным этическим комитетом при СЗГМУ (4/27.05.2020). Информированное согласие получили от всех участников исследования. Данные о группе сравнения были получены из регулярных локальных отчетов о заболеваемости COVID-19. СЗГМУ получал информацию и проводил мониторинг исследования. Минздрав России и Росздравнадзор осуществляли надзор в соответствии с постановлением Правительства Российской Федерации №441 от 03.04.2020. Исследование было зарегистрировано в RosRID.ru AAAA-A20-120061690058-2 и ISTCTN.com ISRCTN34160010.

Профилактическое лечение

Мы использовали два раствора для подготовки низкодозной аэрозольной комбинации трех лекарственных средств: раствор 3% инозина глутамил-цистеинил-глицин динатрия (инозин-глутатион; Моликсан, ФАРМА ФАМ, Санкт-Петербург, Россия) – патентованный метаболический препарат, одобренный в Российской Федерации для парентерального применения при лечении вирусных гепатитов (grls.rosminzdrav.ru, N001355/02) и 4% раствор хлорида калия (Солофарм, Санкт-Петербург, Россия). Аэрозольную лекарственную комбинацию (АЛК) готовили *ex tempore* из расчета на один 5-минутный сеанс ингаляции путем смешивания 1,0 мл инозин-глутатиона и 0,25 мл хлорида калия с достижением

следующей концентрации компонентов: 21,3 мг/мл глутатиона, 8,7 мг/мл инозина и 107 мМ калия (рН 5.5). Участники применяли АЛК самостоятельно с использованием персональных небулайзеров (Nebzmart MBPN002; MicroBase Technology, Тайвань) с объемной скоростью сжатого воздуха 0,25 мл/мин. Включенные участники исследования проводили медикаментозную профилактику согласно инструкции в течение 14 дней по четыре ингаляции в день и 4-часовыми периодами между сеансами.

Порядок исследования

Из 100 медицинских работников в стационаре, приглашенных для участия в данном исследовании главным исследователем, 99 добровольцев соответствовали критериям включения и начали получать медикаментозную профилактику в период с 1 июня по 12 июня 2020 года. Все участники заполнили формы предварительной оценки состояния, которые включали данные генетических и серологических исследований на SARS-CoV-2, полученные до включения в исследование. Данные о приверженности к проводимому профилактическому лечению и нежелательные явления регистрировали на 7-й и 14-й дни исследования; дополнительная информация запрашивалась до 28-го дня. Основной показатель исследования – случаи заражения вирусом SARS-CoV-2, обнаруженные по данным генетических или иммунологических тестов в период проведения исследования. Группа сравнения из числа медицинских работников, не включенных в исследование, была проанализирована ретроспективно в том же стационаре, включая только лиц с отрицательными результатами генетических и серологических исследований, проведенных в конце мая 2020 года и продолжавших трудовую деятельность до даты окончания исследования. Всем медицинским работникам в стационаре проводили еженедельное генетическое исследование на наличие SARS-CoV-2 в соответствии с действующими национальными рекомендациями. Дополнительно у всех медицинских работников дважды провели качественный тест на наличие иммуноглобулинов IgM и IgG к вирусу SARS-CoV-2 в конце мая и начале июля 2020 года. Таким образом, данные о заражении SARS-CoV-2 в группе сравнения были получены, исходя из результатов регулярных лабораторных тестов.

Тестирование на SARS-CoV-2

Мазки из носоглотки получали для проведения генетических исследований на наличие SARS-CoV-2 методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (*англ.* – real-time polymerase chain reaction; RT-PCR), и получали венозную кровь для иммунологических исследований. Все образцы де-идентифицировали и передавали в диагностическую

лабораторию СЗГМУ в течение 3 часов, далее хранили при температуре +4°C до тестирования. Выделение общей РНК из материала мазков проводили с использованием набора реагентов РНК-экспресс (Литех, Москва, Россия). Для обнаружения SARS-CoV-2 методом РТ-ПЦР использовали ген РНК-зависимой РНК полимеразы (*англ.* – RNA-dependent RNA polymerase; RdRp) в структуре последовательности открытой рамки считывания 1ab (*англ.* – open reading frame1ab; ORF1ab) и ген envelope (E) с помощью набора Поливир SARS-CoV-2 (Литех, Москва, Россия) и амплификатора CFX-96 Touch system (Био-Рад, Геркулес, США). Результат считали позитивным, если пороговое значение составляло 35 для обоих генов. Сывороточные антитела исследовали с использованием диагностических наборов, одобренных в Российской Федерации для качественной детекции иммуноглобулинов к SARS-CoV-2 в плазме человека согласно инструкциям производителя: SARS-CoV-2-IgM-ИФА БЕСТ (Вектор-Бест, Новосибирск, Россия) и SARS-CoV-2-IgG (Литех, Москва, Россия). Антитела исследовали спектрофотометрическим методом по показателю оптической плотности на длине волны 450 нм с помощью HumaReader HS microtiter plate reader (HUMAN, Весбадэн, Германия).

Статистический анализ

Хи-квадрат тест использовали для сравнения уровня заражения вирусом SARS-CoV-2 между исследуемой группой и контрольной группой; значение считали статистически значимым при $p < 0,05$. В связи с тем, что анализ не включал предположений по корректировке множественных значений в тестах на ассоциацию между исходными и итоговыми переменными, результаты учитывали как точечные оценки с доверительным интервалом (*англ.* – confidence interval; CI) 95%. Статистический анализ проводили с использованием программного обеспечения SAS.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В период проведения исследования (1 июня – 10 июля 2020 года) общее число пролеченных в стационаре пациентов с COVID-19 увеличилось с 447 до 884 (97,8%). Из 410 медицинских работников, работавших в стационаре с 5 мая 2020 года: 43 (10,5%) имели положительный результат на SARS-CoV-2 до начала исследования ($n=29$) или прекратили работать до даты завершения исследования ($n=14$); 99 медицинских работников приняли участие в исследовании (24,1%); 268 медицинских работников составили группу сравнения (65,4%).

Средний возраст участников составил 27,0 лет (95% CI: 25,3 – 28,7), 69% были лица женского пола и 52% – медицинские сестры (51/99). Демографические параметры группы участников и группы сравнения достоверно не отличались друг от друга (таб. 1).

Таблица 1. Характеристика медицинского персонала в стационаре для лечения COVID-19.

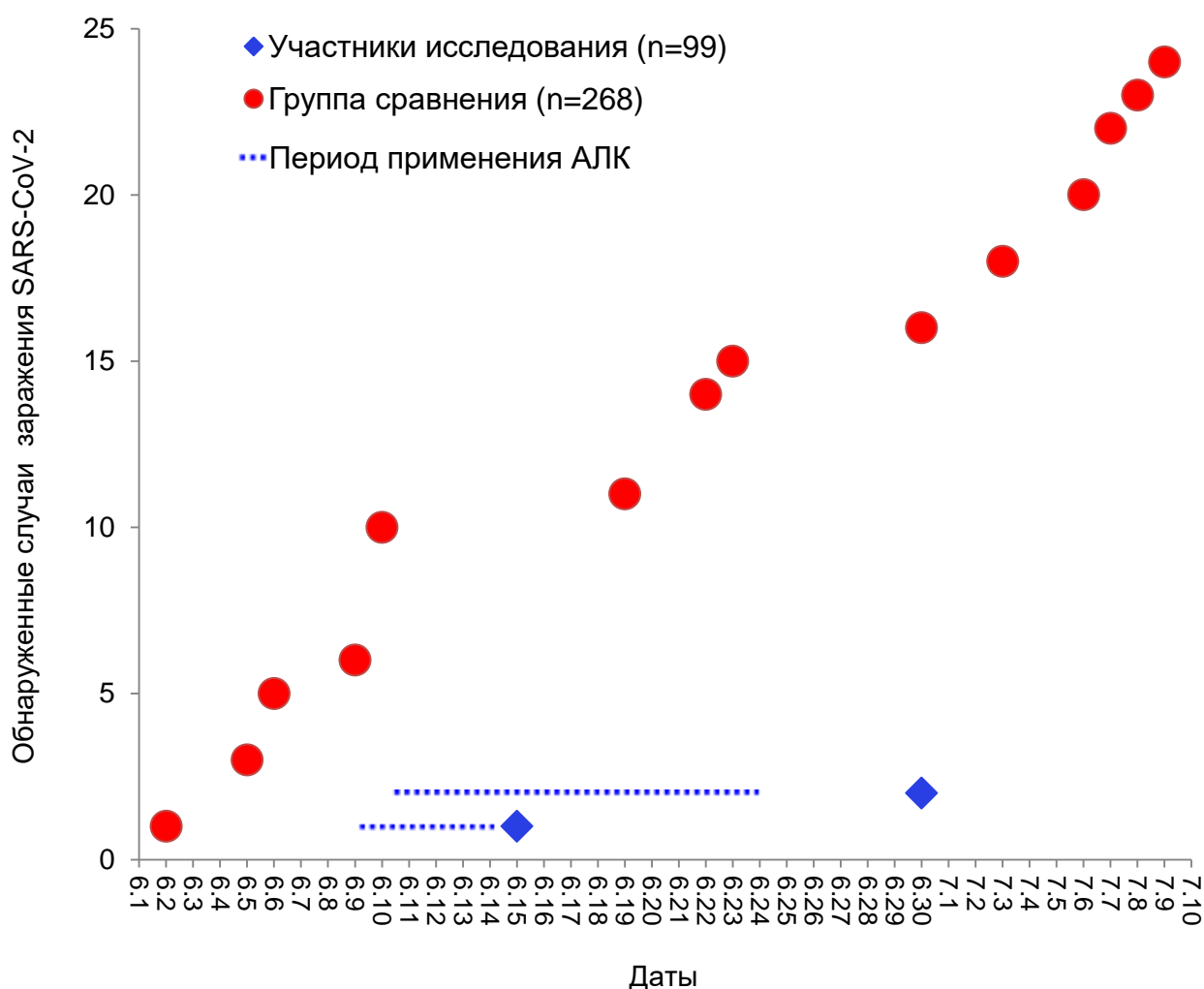
Характеристика	Участники исследования с АЛК (n=99)	Группа сравнения (n=268)
<i>Демографические данные</i>		
Медиана возраста – лет (ВО)	25 (5)	25 (11)
Возрастная категория – No. (%)		
< 40	88 (89)	228 (85)
40 до 65 лет	11 (11)	40 (15)
Мужской пол – No. (%)	31 (31)	106 (40)
<i>Профессиональные данные</i>		
Врачи – No. (%)	38 (38)	99 (37)
Медсестры – No. (%)	51 (52)	140 (52)
Другие – No. (%)	10 (10)	29 (11)

* ВО – вероятное отклонение. АЛК – аэрозольная лекарственная комбинация.

В группе, принимавшей АЛК, не наблюдали серьезных нежелательных явлений или причин для прерывания исследования. В течение периода профилактики у пяти участников (5%) наблюдали системные или общие нежелательные явления, включая головную боль у двух участников (2%), першение в горле у двух участников (2%) и сухой кашель у одного участника (1%); все нежелательные явления были легкой формы как проходящие реакции длительностью не дольше 30 мин в период проведения или сразу после сеанса ингаляции. Выявленные нежелательные явления не вызывали беспокойства; не было причин для прерывания лечения и или других вмешательств.

Общий показатель заражения вирусом SARS-CoV-2 в группе АЛК составил 2% (2/99; 95% CI: 0,3% – 7,1%), что было достоверно ниже числа положительных результатов по данным генетического иммунологического тестирования в группе сравнения – 9% (24/268; 95% CI: 5,8% – 13,0%; $p = 0,02$) (рис. 1).

Рисунок 1. Заражение вирусом SARS-CoV-2 нарастающим итогом у медицинских работников в стационаре для лечения пациентов с COVID-19.



ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В результате проведенного нами исследования было установлено, что патогенетически обоснованная доконтактная медикаментозная профилактика сопровождалась достоверным снижением показателя заражения вирусом SARS-CoV-2 у медицинских работников, обеспечивающих медицинскую помощь и обслуживание пациентов с COVID-19 до 2% в сравнении с уровнем заражения вирусом SARS-CoV-2 до 9% у медицинских работников, которые не использовали профилактическое лечение в том же стационаре в исследуемый период. Эффективная медикаментозная профилактика COVID-19 должна не только безопасно защищать человека от высокого риска заражения вирусом при контакте с инфицированными лицами, но также не должна допускать развитие инфекции в случае ее проникновения в организм. В настоящее время наибольшее число клинических исследований фармакологических вмешательств с целью предотвращения инфицирования

вирусом SARS-CoV-2 проводятся с использованием лекарственных средств, ранее применявшихся для лечения пациентов с COVID-19 (например, гидроксихлорохин) и сфокусированы на оценке безопасности этих лекарственных средств в новом контексте (Cohen 2020). При этом использование ранее зарегистрированных лекарственных средств по новому назначению и разработка всех вакцин в основном исходит из общепринятых представлений патогенеза COVID-19, рассматривающих вирулентность SARS-CoV-2 и ответные иммунные реакции организма как ведущие факторы возникновения и развития данного заболевания (Cao & Li 2020). В отличие от данных представлений, основываясь на выявленной ключевой роли регуляторного дисбаланса ACE2/Ang II в реализации патогенности вируса SARS-CoV-2 (Cheng et al 2020, Rivellese & Prediletto 2020), мы предположили, что COVID-19 как заболевание может быть предотвращен прямым поддержанием собственных окислительно-восстановительных, метаболических и дилатационных функций легочной ткани путем использования комбинаций лекарственных средств, ранее показавших безопасность при аэрозольном способе доставки. Мы разработали и провели малоинтервенционное проспективное открытое исследование с использованием аэрозольной комбинации, включающей низкие концентрации глутатиона, инозина и калия, с целью доконтактной профилактики у медицинских работников в условиях высокого риска заражения вирусом SARS-CoV-2 при постоянных контактах с пациентами, болеющими COVID-19. Нами было выявлена высокая эффективность и безопасность используемой патогенетически обоснованной профилактики заражения вирусом SARS-CoV-2, что позволяет выделить следующие аспекты, касающиеся профилактики и лечения COVID-19.

В нашем исследовании АЛК в низких концентрациях (21,3 мг/мл глутатиона и 8,7 мг/мл инозина в гипоосмолярном растворе хлорида калия) не вызывала серьезных нежелательных явлений. Это соответствует опубликованным ранее данным исследований, свидетельствующих о хорошей переносимости отдельных компонентов АЛК при ингаляциях в дозах на порядок больших как у здоровых лиц, так и у пациентов. В частности, не наблюдалось токсических и нежелательных явлений при ингаляциях глутатиона в дозе 300 мг и более при использовании у пациентов с фиброзом легких (Griese et al 2004). При ингаляциях раствора инозина в концентрации до 373 μ моль (100 мг)/мл не отмечали эффекта на реактивность воздухопроводящих путей у здоровых лиц и пациентов с астмой (Mann et al 1986). Поэтому комбинация данных лекарственных компонентов при одновременном использовании в низких дозах может быть оптимальным способом для предотвращения главных этапов патогенеза COVID-19. Важно также отметить, что некоторые лекарственные

вещества могут проявлять несколько полезных свойств, увеличивая таким образом кумулятивную противовирусную эффективность лекарственной комбинации. Например, в дополнение к метаболической активности инозина, преобразование аденозина в инозин (англ. – adenosine to inosine modification; A-to-I) это недавно обнаруженный процесс посттрансляционной модификации пре-мРНК (Nishikura 2016), который опосредует противовирусные эффекты путем включения инозина в двухцепочечные вирусные РНК и последующей их специфической деградацией (Scadden & Smith 1997), а также путем потенцирования чувствительности иммунной системы (Sarvestani et al 2014).

Достоверное снижение частоты возникновения SARS-CoV-2 в нашем исследовании у медицинских работников, которые применяли АЛК, может подтверждать предполагаемую значимость вирус-индуцированного регуляторного дисбаланса ACE2/Ang II в легких с последующей нарастающей легочной гипоксией и периферическими вентиляционно-перфузионными нарушениями в клинической картине COVID-19. Более того, наши результаты подтверждают преимущественную важность именно этих процессов в патогенезе COVID-19 по сравнению с различными вариантами иммунного ответа и вирусной нагрузкой *per se*. Данный подход и полученные результаты могут быть использованы для предотвращения инфекции, вызываемой вирусом SARS-CoV-2, или даже более продуктивно – для поддержки текущих и новых исследований с целью разработки более эффективных способов лечения COVID-19. С целью дальнейшего развития и внедрения методов патогенетической медикаментозной профилактики и лечения этого тяжелого заболевания необходимо проведение мультицентровых плацебо-контролируемых исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Zhu N, Zhang D, Wang W, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med* 2020;382:727-733.
2. World Health Organization. Novel coronavirus (2019-nCoV) situation reports. WHO September 21, 2020. (<http://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/situation-reports/>)
3. Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N Engl J Med* 2020;382:1708-1720.
4. Wu C, Chen X, Cai Y, et al. Risk factors associated with acute respiratory distress syndrome and death in patients with coronavirus disease 2019 pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Intern Med* 2020;180:1-11.

5. Lu R, Zhao X, Li J, et al. Genomic characterization and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet* 2020;395:565-574.
6. Cao W, Li T. COVID-19: towards understanding of pathogenesis. *Cell Research* 2020;30:367-369
7. Baden LR, Rubin EJ. COVID-19 – the search for effective therapy. *N Engl J Med* 2020;382:1851-1852.
8. World Health Organization. Draft landscape of COVID-19 candidate vaccines. WHO September 21, 2020. (<https://www.who.int/who-documents-detail/draft-landscape-of-COVID-19-candidate-vaccines>)
9. National Institutes of Health. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) treatment guidelines. NIH April 21, 2020. (<https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/overview/prophylaxis>)
10. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell* 2020;181:271-280.
11. Shang J, Ye G, Shi K, et al. Structural basis of receptor recognition by SARS-CoV-2. *Nature* 2020;581:221-224.
12. Wrapp D, Wang N, Corbett KS, et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science* 2020;367:1260.
13. Hamming I, Timens W, Bulthuis M, Lely A, Navis G, and Van Goor H. Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. *J Pathol* 2004;203:631- 637.
14. Hou YJ, Okuda K, Edwards CE, et al. SARS-CoV-2 Reverse genetics reveals a variable infection gradient in the respiratory tract. *Cell* 2020;182:1-18.
15. Sungnak W, Huang N, Bécavin C, et al. SARS-CoV-2 entry factors are highly expressed in nasal epithelial cells together with innate immune genes. *Nat Med* 2020;26:681–687.
16. Donoghue M, Hsieh F, Baronas E, et al. A novel angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1-9. *Circ Res* 2000;87:E1-E9.
17. Kuba K, Imai Y, Rao S, et al. A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus–induced lung injury. *Nat Med* 2005;11:875-879.
18. Rivellese F, Prediletto E. ACE2 at the centre of COVID-19 from paucisymptomatic infections to severe pneumonia. *Autoimmun Rev* 2020;19:102536.
19. Cheng H, Wang Y, and Wang G-Q. Organ-protective effect of angiotensin-converting enzyme 2 and its effect on the prognosis of COVID-19. *J Med Virol* 2020;92:726-730.
20. Sylvester JT, Shimoda LA, Aaronson PI, and Ward JP. Hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Physiol Rev* 2012;92:367-520.

21. Forrester SJ, Booz GW, Sigmund CD, et al. Angiotensin II signal transduction: an update on mechanisms of physiology and pathophysiology. *Physiol Rev* 2018;98:1627-1738.
22. Leo MD, Bulley S, Bannister JP, Kuruvilla KP, Narayanan D, and Jaggar JH. Angiotensin II stimulates internalization and degradation of arterial myocyte plasma membrane BK channels to induce vasoconstriction. *Am J Physiol Cell Physiol* 2015;309:C392-C402.
23. Patel AJ, Lazdunski M, and Honore E. Kv2.1/Kv9, a novel ATP-dependent delayed-rectifier K⁺ channel in oxygen-sensitive pulmonary artery myocytes. *EMBO J* 1997;16:6615-6625.
24. Sato K, Morio Y, Morris KG, Rodman DM, and McMurtry IF. Mechanism of hypoxic pulmonary vasoconstriction involves ET(A) receptor-mediated inhibition of K(ATP) channel. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000;278:L434-L442.
25. Makhanova NA, Crowley SD, Griffiths RC, and Coffman TM. Gene expression profiles linked to AT1 angiotensin receptors in the kidney. *Physiol Genomics* 2010;42A:211-218.
26. Kellner M, Noonepalle S, Lu Q, Srivastava A, Zemskov E, and Black SM. ROS signaling in the pathogenesis of acute lung injury (ALI) and acute respiratory distress syndrome (ARDS). *Adv Exp Med Biol* 2017;967:105-137.
27. Meister A, Anderson ME. Glutathione. *Annu Rev Biochem* 1983;52:711-760.
28. Mulier B, Rahman I, Watchorn T, Donaldson K, MacNee W, and Jeffery PK. Hydrogen peroxide-induced epithelial injury: the protective role of intracellular nonprotein thiols (NPSH). *Eur Respir J* 1998;11:384-391.
29. Papi A, Contoli M, Gasparini P, et al. Role of xanthine oxidase activation and reduced glutathione depletion in rhinovirus induction of inflammation in respiratory epithelial cells. *J Biol Chem* 2008;283:28595-28606.
30. Buhl R, Vogelmeier C, Critenden M, et al. Augmentation of glutathione in the fluid lining the epithelium of the lower respiratory tract by directly administering glutathione aerosol. *PNAS* 1990;87:4063-4067.
31. Bishop C, Hudson VM, Hilton SC, and Wilde C. A pilot study of the effect of inhaled buffered reduced glutathione on the clinical status of patients with cystic fibrosis. *Chest* 2005;127:308-317.
32. Casoni GL, Chitano P, Pinamonti S, et al. Reducing agents inhibit the contractile response of isolated guinea-pig main bronchi. *Clin Exp Allergy* 2003;33:999-1004.
33. Deshpande DA, Wang WC, McIlmoyle EL, et al. Bitter taste receptors on airway smooth muscle bronchodilate by localized calcium signaling and reverse obstruction. *Nat Med* 2010;16:1299-1304.

34. Valeyre D, Soler P, Basset G, et al. Glucose, K⁺, and albumin concentrations in the alveolar milieu of normal humans and pulmonary sarcoidosis patients. *Am Rev Respir Dis* 1991;143:1096-1101.
35. Haddy FJ, Vanhoutte PM, and Feletou M. Role of potassium in regulating blood flow and blood pressure. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2006;290:R546-R552.
36. Kleppisch T, Nelson MT. Adenosine activates ATP-sensitive potassium channels in arterial myocytes via A₂ receptors and cAMP-dependent protein kinase. *PNAS* 1995;92:12441-12445.
37. Hasko G, Linden J, Cronstein B, and Pacher P. Adenosine receptors: therapeutic aspects for inflammatory and immune diseases. *Nat Rev Drug Discov* 2008;7:759-770.
38. Módis K, Gero D, Nagy N, Szoleczky P, Tóth ZD, and Szabó C. Cytoprotective effects of adenosine and inosine in an in vitro model of acute tubular necrosis. *Br J Pharmacol* 2009;158:1565-1578.
39. Qiu FH, Wada K, Stahl GL, and Serhan CN. IMP and AMP deaminase in reperfusion injury down-regulates neutrophil recruitment. *PNAS* 2000;97:4267-4272.
40. Sarvestani ST, Tate MD, Moffat JM, et al. Inosine-mediated modulation of RNA sensing by Toll-like receptor 7 (TLR7) and TLR8. *J Virol* 2014;88:799-810.
41. Kumar R, Gupta N, Kodan P, Mittal A, Soneja M, and Wig N. Battling COVID-19: using old weapons for a new enemy. *Trop Dis Travel Med Vaccines* 2020; 6.
42. Horowitz RI, Freeman PR, and 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.
43. Hunter E, Price DA, Murphy E, et al. First experience of COVID-19 screening of health-care workers in England. *Lancet* 2020;395:e77-e78.
44. Suárez-García I, Lobo Abascal P, Martínez de Aramayona López MJ, and Sáez Vicente A. SARS-CoV-2 infection among healthcare workers in a hospital in Madrid, Spain. *J Hosp Infect* 2020;106(2):357-363.
45. Cohen MS. Hydroxychloroquine for the prevention of COVID-19 - searching for evidence. *N Engl J Med* 2020;383:585-586.
46. Griese M, Ramakers J, Krasselt A, et al. Improvement of alveolar glutathione and lung function but not oxidative state in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2004;169:822-828.
47. Mann JS, Holgate ST, Renwick AG, and Cushley MJ. Airway effects of purine nucleosides and nucleotides and release with bronchial provocation in asthma. *J Appl Physiol* 1986;61:1667-1676.

48. Nishikura K. A-to-I editing of coding and non-coding RNAs by ADARs. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2016;17:83-96.
49. Scadden AD, Smith CW. A ribonuclease specific for inosine-containing RNA: a potential role in antiviral defence? *EMBO J* 1997;16:2140-2149.
-

ФГБОУВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России (СЗГМУ) финансировал данное исследование из частных благотворительных средств.

Все авторы декларируют отсутствие конфликта интересов. СЗГМУ принимал решения относительно дизайна и проведения исследования. Фарма ВАМ предоставило лекарственные препараты для исследования, но не осуществляло финансовой поддержки.

Первый черновик рукописи подготовлен первым автором с последующим участием всех авторов в подготовке рукописи под руководством автора, указанного последним в списке авторов. Все авторы имели полный доступ к исходным материалам и несут ответственность за точность и полноту представленных данных.

Мнения, отраженные в этой рукописи, являются представлениями М.В. Дубины. Заключение, находки, мнения, высказанные авторами, внесшими вклад в эту рукопись, не обязательно отражают официальную позицию или политику любых государственных органов. Любые упоминания торговых названий, коммерческих продуктов или организаций не подразумевают одобрение любыми из вышеупомянутых.

Мы благодарны всем участникам за альтруизм и приверженность данному исследованию, а также В.С. Литвиненко за неоценимую поддержку. Мы благодарны д.м.н. О.Г. Хурцилаве в СЗГМУ за наставничество; А.М. Битиевой, к.м.н. А.С. Федоренко, к.м.н. Т.С. Филь, О.В.Ковалевой, Н.А. Прокофьевой, к.м.н. С.В. Тихонову, к.м.н. Н.А. Тростянецкой, к.м.н. Д.Б. Цурцумия как членам исследовательской команды в СЗГМУ за их вклад в исследование; к.б.н. Ю.В. Борзовой и О.А. Шурпицкой в НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина СЗГМУ за проведение иммунологических исследований; к.м.н. Э.Л. Латария, Е.И. Маценко, Е.Е. Шадуйко, д.м.н. А.В. Силину в СЗГМУ за организационную помощь; к.ф.м.н. А.А.Богданову в Гос.НИИ особо чистых биопрепаратов (НИИОЧБ) за проведение статистического анализа и техническую поддержку. М.В. Дубина лично благодарен Е.Аллоре, д.м.н. Ф.В. Моисеенко, Е.Соколову, В.В. Высочинкой, Н. Загускину, д.м.н. И.Б.Зуевой и другим за ценные советы и искреннюю поддержку.