

РЕГИОНАЛЬНАЯ
ОБЩЕСТВЕННАЯ
ОРГАНИЗАЦИЯ «ОБЩЕСТВО
ПО ИССЛЕДОВАНИЮ
АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТОНИИ»

Журнал основан в 1920 г.

Награжден дипломами
I степени в 1968, 1975, 1990 гг.,
Почетной грамотой в 1995 г.,
знаком отличия «Золотой фонд
прессы» в 2006 г.

С 1995 г. журнал является
членом Европейской ассоциации
научных редакторов (EASE)

**ООО «Медицинское
информационное агентство»**

www.clin-med.ru

Зав. редакцией

О.А. Платова

e-mail: klin.med@mail.ru

ОТДЕЛ РЕКЛАМЫ:

С.В. Пархоменко

e-mail: medkniga@mail.ru

**Ответственность за достоверность
информации, содержащейся
в рекламных материалах, несут
рекламодатели**

ПОДПИСКА:

на полгода: индекс 71444;

годовая: индекс 27881

на электронную версию:

www.elibrary.ru

через интернет:

www.pressa-rf.ru, www.akc.ru

Формат 60 × 88%.

Печать офсетная.

Печ. л. 10,0 п. л.

Усл. печ. л. 12,9.

Уч.-изд. л. 12,5.

ISSN 0023-2149



9 770023 214005

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

Ежемесячный рецензируемый научно-практический журнал

2020

Том 98, № 8

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор **В.Б. СИМОНЕНКО** — д-р мед. наук, проф., член-корр. РАН

Зам. главного редактора **С.И. РАПОПОРТ** — д-р мед. наук, проф.

Зам. главного редактора **И.Н. БОКАРЕВ** — д-р мед. наук, проф.

Отв. секретарь **А.И. СИНОПАЛЬНИКОВ** — д-р мед. наук, проф.

Научный редактор **П.А. ДУЛИН** — д-р мед. наук, проф.

В.Г. АБАШИН — д-р мед. наук, проф.

Ж.Е. БЕЛАЯ — д-р мед. наук

Б.П. БОГОМОЛОВ — д-р мед. наук, проф., член-корр. РАН

Н.Ю. БОРОВКОВА — д-р мед. наук, проф.

Н.А. ЕФИМЕНКО — д-р мед. наук, проф., член-корр. РАН

В.Т. ИВАШКИН — д-р мед. наук, проф., акад. РАН

М.М. КНОПОВ — д-р мед. наук, проф.

К.В. ЛЯДОВ — д-р мед. наук, проф., акад. РАН

И.В. МАЕВ — д-р мед. наук, проф., акад. РАН

С.В. МОИСЕЕВ — д-р мед. наук, проф.

Е.Л. НАСОНОВ — д-р мед. наук, проф., акад. РАН

Ю.В. ОВЧИННИКОВ — д-р мед. наук

В.И. ПОДЗОЛКОВ — д-р мед. наук, проф.

Г.В. САПРОНОВ — д-р мед. наук, проф.

С.Х. САРМАНАЕВ — д-р мед. наук, проф.

В.Н. САЦУКЕВИЧ — д-р мед. наук, проф.

В.П. ТЮРИН — д-р мед. наук, проф.

А.Я. ФИСУН — д-р мед. наук, проф., член-корр. РАН

А.Ф. ЧЕРНОУСОВ — д-р мед. наук, проф., акад. РАН

С.М. ЧИБИСОВ — д-р мед. наук, проф.

Ю.Л. ШЕВЧЕНКО — д-р мед. наук, проф., акад. РАН

А.А. ШЕПТУЛИН — д-р мед. наук, проф.

Е.А. ШИРОКОВ — д-р мед. наук, проф.

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

А.С. АЛЕКСАНДРОВ — д-р мед. наук (Москва)

Э.И. БЕЛОБОРОДОВА — д-р мед. наук, проф. (Томск)

Н.Н. БОРОВКОВ — д-р мед. наук, проф. (Н. Новгород)

А.Н. БРИТОВ — д-р мед. наук, проф. (Москва)

А.Ю. ГАСПАРЯН — д-р медицины, ассоциированный проф. (Великобритания)

Х.М. ГАЛИМЗЯНОВ — д-р мед. наук, проф. (Астрахань)

Э.Г. ГРИГОРЯН — д-р мед. наук, проф. (Ереван, Армения)

А.А. ДЕМИН — д-р мед. наук, проф. (Новосибирск)

К.Л. ЗАПЛАТНИКОВ — д-р мед. наук (Нюрнберг, Германия)

А.А. ЗЫКОВА — канд. мед. наук (Москва)

В.Г. КУКЕС — д-р мед. наук, проф., акад. РАН (Москва)

П.А. ЛЕБЕДЕВ — д-р мед. наук, проф. (Самара)

А.М. НОГАЛЛЕР — д-р мед. наук, проф. (Мюнхен, Германия)

Т.С. ПОЛЯТЫКИНА — д-р мед. наук, проф. (Иваново)

В.М. УСПЕНСКИЙ — д-р мед. наук, проф. (Москва)

Я.С. ЦИММЕРМАН — д-р мед. наук, проф. (Пермь)

И.А. ШАМОВ — д-р мед. наук, проф. (Махачкала)

Н.А. ЯИЦКИЙ — д-р мед. наук, проф., акад. РАН (Санкт-Петербург)

В.В. ЯКУСЕВИЧ — д-р мед. наук, проф. (Ярославль)

Оригинальные исследования

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2020

Хавинсон В.Х.^{1,2}, Кузник Б.И.³, Волчков В.А.⁴, Рукавишников С.А.^{4,5}, Титова О.Н.⁵,
Ахмедов Т.А.^{4,5}, Трофимова С.В.¹, Рыжак Г.А.¹, Потемкин В.В.^{4,5}, Сагинбаев У.Р.⁵

ВЛИЯНИЕ ТИМАЛИНА НА АДАПТИВНЫЙ ИММУНИТЕТ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ ПАЦИЕНТОВ С COVID-19

¹Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН, 197110, Санкт-Петербург, Россия

²ФГБУН «Институт физиологии им. И.П. Павлова» РАН, 199034, Санкт-Петербург, Россия

³ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, 672000, Чита, Россия

⁴ГБУЗ «Городская многопрофильная больница № 2», 194354, Санкт-Петербург, Россия

⁵ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова» Минздрава России, 197022, Санкт-Петербург, Россия

В условиях пандемии коронавирусной инфекции COVID-19 важным является поиск и изучение лекарственных препаратов, стимулирующих иммунный ответ, в том числе антителообразование. Проведено одноцентровое открытое проспективное рандомизированное контролируемое исследование сравнительной оценки уровня антител IgG к SARS-CoV-2 в динамике при стандартном и комплексном методах лечения с применением лекарственного пептидного препарата тимуса тималина у пациентов с COVID-19. Тималин представляет собой комплекс пептидов с молекулярной массой до 10 кДа, выделенных из тимуса крупного рогатого скота. Препарат оказывает действие на все звенья иммунитета, регулирует количество и соотношение Т- и В-лимфоцитов и их субпопуляций, стимулирует реакции клеточного иммунитета, усиливает фагоцитоз, стимулирует процессы регенерации и кроветворения в случае их угнетения, улучшает течение процессов клеточного метаболизма. Установлено, что в результате стандартного лечения у пациентов наблюдалось снижение уровня антител на 53% через 104 суток после завершения курса лечения (18–22 суток) и первого определения уровня антител в крови. Комбинирование стандартного лечения и пептидного препарата тималина привело к существенной стабилизации уровня антител у пациентов и в те же сроки уменьшение уровня антител составило только 21%. Сделан вывод, что тималин способствует формированию более устойчивого иммунного ответа у пациентов с COVID-19. Следует полагать, что применение препарата будет также целесообразным для стимуляции антителообразования при вакцинации целевых контингентов.

Ключевые слова: COVID-19; иммунитет; антитела; тималин; пептиды; вакцинация.

Для цитирования: Хавинсон В.Х., Кузник Б.И., Волчков В.А., Рукавишников С.А., Титова О.Н., Ахмедов Т.А., Трофимова С.В., Рыжак Г.А., Потемкин В.В., Сагинбаев У.Р. Влияние тималина на адаптивный иммунитет при проведении комплексной терапии пациентов с COVID-19. *Клиническая медицина*. 2020;98(8):593–599.
DOI: <http://dx.doi.org/10.30629/0023-2149-2020-98-8-593-599>

Для корреспонденции: Владимир Хацкелевич Хавинсон — д-р мед. наук, проф., член-корр. РАН, директор Санкт-Петербургского института биорегуляции и геронтологии; e-mail: secretary@gerontology.ru

Khavinson V.Kh.^{1,2}, Kuznik B.I.³, Volchkov V.A.⁴, Rukavishnikova S.A.^{4,5}, Titova O.N.⁵, Akhmedov T.A.^{4,5}, Trofimova S.V.¹, Ryzhak G.A.¹, Potyomkin V.V.^{4,5}, Saginbaev U.R.⁵

EFFECT OF THYMALIN ON ADAPTIVE IMMUNITY IN COMPLEX THERAPY FOR PATIENTS WITH COVID-19

¹Saint Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, 197110, Saint Petersburg, Russia

²I.P. Pavlov Institute of Physiology of the Russian Academy of Sciences, 199034, Saint Petersburg, Russia

³Chita State Medical Academy, 672000, Chita, Russia

⁴Saint Petersburg City Multiprofile Hospital №2, 194354, Saint Petersburg, Russia

⁵Saint Petersburg State I.P. Pavlov Medical University, 197022, Saint Petersburg, Russia

Results of comparative assessment of level of antibodies of IgG to SARS-CoV-2 in dynamics at standard and complex methods of treatment with use of medicinal peptide medicine of a thymus of a thymalin for patients with COVID-19 are presented in article. It was found that as a result of standard treatment, patients showed a decrease in antibody levels by 53% after 104 days. The addition of thymalin to standard therapy slowed down the decline of this indicator. So, a similar indicator in patients who took thymalin was only 21%. This contributed to maintaining strained adaptive immunity. The detected immunomodulatory properties of the preparation of thymalin with respect to COVID-19 can be reflected both in the formation of an effective immune layer of the population through natural immunization, and in the process of antibody formation during vaccination of target contingents.

Key words: COVID-19; immunity; antibodies; thymalin; peptides; vaccination.

For citation: Khavinson V.Kh., Kuznik B.I., Volchkov V.A., Rukavishnikova S.A., Titova O.N., Akhmedov T.A., Trofimova S.V., Ryzhak G.A., Potyomkin V.V., Saginbaev U.R. Effect of thymalin on adaptive immunity in complex therapy for patients with COVID-19. *Klinicheskaya meditsina*. 2020;98(8):593–599. DOI: <http://dx.doi.org/10.30629/0023-2149-2020-98-8-593-599>

For correspondence: Vladimir Kh. Khavinson — MD, PhD, DSc, prof., corresponding member of the Russian Academy of Sciences, director Saint Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology; e-mail: secretary@gerontology.ru

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interests.

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Information about authors

Khavinson V.Kh., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7547-7725>
Kuznik B.I., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2502-9411>
Volchkov V.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5664-7386>
Rukavishnikova S.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8161-2425>
Titova O.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5464-4221>
Akhmedov T.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3105-4322>
Trofimova S.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2690-7842>
Ryzhak G.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2536-1438>
Potyomkin V.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7807-9036>
Saginbaev U.R., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9709-1882>

Received 10.07.2020

В 2020 г. мир столкнулся с внезапной глобальной проблемой — пандемией новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Мировое сообщество провело существенную мобилизацию сил и средств для борьбы с данным инфекционным заболеванием, что принесло определенные позитивные результаты. В то же время следует отметить, что в научной литературе встречаются противоречивые данные относительно процесса формирования специфического иммунного ответа на инвазию вируса SARS-CoV-2.

При легком и среднем течении COVID-19 вирус может выделяться в среднем десять суток. В случае тяжелого течения этот срок может увеличиться до 20 суток. Для профилактики заражения вирусом SARS-CoV-2 во всем мире, в том числе и в России, предпринимаются меры, направленные на создание вакцин против возбудителя инфекции и последующую вакцинацию. Отмечено, что у лиц, переболевших COVID-19, к вирусу SARS-CoV-2 появляются антитела (АТ), что в свою очередь должно предотвратить повторное заражение реконвалесцентов. Установлено, что антитела IgG к нуклеокапсидному белку (N) могут обнаруживаться в сыворотке крови уже на 4-е сутки после начала заболевания, при этом у большинства пациентов их появление выявляется на 14-е сутки [1]. В тестах на АТ к COVID-19 обычно выявляют IgG и/или IgM к спайковому (S) белку (S-IgG и S-IgM соответственно), расположенному на мембране вируса SARS-CoV-2. Уровень АТ после появления первых симптомов заболевания увеличивается в течение нескольких недель, а затем начинает убывать [2]. Значение индивидуального иммунного ответа (уровень антител) после заражения SARS-CoV-2 может значительно варьировать в зависимости от тяжести заболевания.

Установлено, что у пациентов с COVID-19 через 6–7 мес. после постановки диагноза все образцы крови были положительными на IgG против S- и N-белков мембраны SARS-CoV-2, хотя их активность по сравнению с результатами, полученными через 2 мес. после госпитализации, была значительно снижена [3].

Однако до сих пор неясно, какое время сохраняется невосприимчивость к вирусу SARS-CoV-2 у переболевших COVID-19. К настоящему времени установлено, что уровни АТ к нуклеопротеину SARS-CoV-2 и/или белку S у реконвалесцентов были значительно выше, чем у па-

циентов, заболевание которых закончилось летальным исходом [4]. Кроме того, защитный эффект плазмы крови выздоравливающих пациентов с относительно высоким содержанием АТ против SARS-CoV-2 может сохраняться в течение нескольких месяцев [5].

Обнаружено, что уже в первые месяцы после заболевания COVID-19 содержание АТ к SARS-CoV-2 значительно снижается. F. Krammer, V. Simon [6] указывают, что к подобным утверждениям следует относиться с большой осторожностью. По мнению ученых, «анализы, которые информируют о титре антител и/или демонстрируют функциональность антител (например, нейтрализацию вируса), будут чрезвычайно полезны для ответа на научные вопросы об иммунной защите от повторного заражения. Например, у всех ли инфицированных людей развивается устойчивый иммунный ответ на инфекцию SARS-CoV-2? Следует уточнить, есть ли разница в продукции антител, обнаруженных у людей с тяжелым, легким и бессимптомным COVID-19, и как долго сохраняются антитела. Более того, неизвестно, коррелирует ли присутствие связывающих антител с антигенами шипа или рецептор-связывающего домена (RBD) с нейтрализацией вируса. Также неясно, коррелируют ли титры антител (связывающие или нейтрализующие) с защитой от повторного заражения».

Обнаружено, что у подавляющего большинства инфицированных COVID-19 от легкой до умеренной степени тяжести наблюдается устойчивый уровень антител IgG к вирусному белку шипа. Установлено, что уровень этих АТ относительно стабилен на протяжении 5 мес., а их активность коррелирует с нейтрализацией подлинного SARS-CoV-2 [7]. Детальное изучение иммунного ответа у доноров плазмы показало, что некоторые виды АТ действительно снижаются, тогда как содержание других остается стабильным. Не исключено, что некоторые типы АТ играют важную роль в начале болезни и уменьшение их количества со временем вполне оправданно. Сохранившийся уровень АТ играет важную роль на поздних этапах реконвалесценции и, судя по всему, обеспечивается долгоживущими плазматическими клетками.

Противоположные сведения приводятся в работе Q.X. Long и соавт. [8]. Авторы доказывают, что при бессимптомных формах COVID-19 содержание вирус-

специфического IgG было значительно ниже ($p = 0,005$) по сравнению с пациентами, у которых заболевание сопровождалось специфическими симптомами. Среди бессимптомных лиц у 93,3% (28/30) наблюдалось во время ранней фазы выздоровления снижение уровней IgG и нейтрализующих антител (НА), а 40% бессимптомных людей в ранней фазе выздоровления стали серонегативными. Снижение уровня IgG и НА в ранней фазе выздоровления может иметь большое значение для стратегии иммунитета, серологических исследований и возможности повторных заражений.

В настоящее время результаты исследования динамики антителообразования при COVID-19 носят противоречивый характер. В качестве примера считаем необходимым привести клинический случай из собственной практики. В стационар 07.05.2020 была госпитализирована пациентка М., 36 лет, с признаками пневмонии. При проведении компьютерной томографии органов грудной клетки обнаружены признаки двусторонней полисегментарной пневмонии вирусного характера (КТ1–2). Следует отметить, что 15.04.2020, 29.04.2020 и 28.05.2020 были проведены ПЦР-исследования на определение РНК SARS-CoV-2 в мазках со слизистой оболочки носоглотки и ротоглотки; однако результаты оказались отрицательными. Поставлен диагноз J12.9 «Вирусная пневмония неуточненная»: U07.2 «Коронавирусная инфекция, вызванная вирусом COVID-19, вирус не идентифицирован». В июне, августе, сентябре, октябре и ноябре 2020 г. у пациентки обнаруживались IgG к нуклеокапсиду SARS-CoV-2, причем их уровень стабильно снижался. Спустя 7 мес., 08.12.2020, пациентка М. была вновь госпитализирована с признаками респираторной инфекции, причем вирус SARS-CoV-2 был идентифицирован при ПЦР-исследовании. В то же время необходимо подчеркнуть, что 24.11.2020 в сыворотке крови данной пациентки были выявлены антитела IgG к возбудителю COVID-19. Таким образом, по всей видимости, пациентка ранее была инфицирована вирусом, причем произошла продуктивная активация адаптивного иммунитета с антителообразованием.

T.J. Ripperger и соавт. [9] указывают, что по сравнению с легкими случаями COVID-19 у людей с тяжелым течением инфекции наблюдалось повышенное содержание подлинных вируснейтрализующих АТ к нуклеокапсидному белку и RBD. Концентрации RBD и S2-специфических и нейтрализующих антител оставались повышенными и стабильными в течение как минимум 2–3 мес. после начала заболевания, тогда как уровень антител к N был более переменчивым с быстрым снижением во многих образцах. На основании полученных данных сделан вывод, что у подавляющего числа пациентов иммунитет сохраняется в течение как минимум нескольких месяцев после заражения SARS-CoV-2.

Авторы [10] приводят неопровержимые данные, доказывающие, что пациенты, перенесшие COVID-19, могут заразиться во второй раз. При этом болезнь у них может протекать гораздо тяжелее, чем при первом заражении. Для подтверждения инфекции проводилось тестиро-

вание методами амплификации нуклеиновых кислот и секвенирования вируса. Отмечено, что нужны дополнительные исследования, чтобы оценить длительность сохранения иммунитета и почему в некоторых случаях повторная инфекция проявляется более серьезно.

Исходя из вышеизложенного, крайне важным является поиск и изучение лекарственных препаратов, стимулирующих иммунный ответ, в том числе антителообразование. Одним из таких иммуномодуляторов является лекарственный препарат тималин. Тималин представляет собой комплекс пептидов с молекулярной массой до 10 кДа, выделенных из тимуса крупного рогатого скота [11, 12]. В настоящее время препарат производит ООО «Самсон-Мед» (Санкт-Петербург, Россия), регистрационное удостоверение ЛС-000267. Тималин воздействует на все звенья иммунитета, регулирует количество и соотношение Т- и В-лимфоцитов, усиливает фагоцитоз, стимулирует процессы регенерации и кроветворения в случае их угнетения [11, 13]. Основные компоненты тималина: дипептиды Glu-Trp, Lys-Glu и трипептид Glu-Asp-Pro, которые регулируют экспрессию различных генов, в том числе митохондриальных, а также генов, контролирующих синтез белков, относящихся к защитным системам клетки [11]. Следовательно, активность тималина связана с эффектами его составляющих пептидов, которые имеют свои определенные механизмы действия и точки приложения. Необходимо отметить, что в эксперименте было установлено выраженное стимулирующее действие тималина на формирование клеток, продуцирующих IgM- и IgG-антитела, и уровень циркулирующих антител [14]. Введение мышам препарата тимуса приводило к статистически значимому повышению титра антител, выявляемых на 3-и и 5-е сутки после иммунизации [15].

Учитывая приведенные данные, целью данной работы явилось изучение динамики уровня появившихся антител к SARS-CoV-2 у пациентов, перенесших коронавирусную инфекцию, и влияния тималина в составе комплексной терапии на антителообразование.

Материал и методы

Клиническое исследование проводилось в два этапа.

Первый этап включал изучение динамики уровня антител у пациентов с COVID-19. Группа пациентов состояла из 60 человек (мужчин — 22, женщин — 38, средний возраст пациентов составил $44,00 \pm 2,03$ года). Исследование N1 выполнялось у пациентов на 18–22-е сутки после поступления в стационар СПб ГБУЗ «Городская многопрофильная больница №2» с клиническим диагнозом U07.1 «Коронавирусная инфекция, вызванная вирусом COVID-19, вирус идентифицирован» в течение апреля–июля 2020 г. Критериями включения в исследование были среднетяжелая и тяжелая формы течения заболевания, наличие в клиническом анализе крови абсолютной ($< 1,2 \times 10^9/\text{л}$) и/или относительной ($< 19\%$) лимфопении, наличие двусторонней полисегментарной пневмонии, подтвержденной методом спиральной компьютерной томографии с индексом поражения КТ1–КТ3 с явлени-

ями дыхательной недостаточности ($SpO_2 \leq 95\%$). Лечение пациентов проводилось в соответствии с «Временными методическими рекомендациями. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 7 (03.06.2020) МЗ РФ».

Пациенты получали антибактериальную и при необходимости противовирусную off-label и глюкокортикоидную терапию. В качестве антикоагулянтов прямого действия применяли низкомолекулярный гепарин эноксапарин натрия (Clexane, Sanofi-Aventis, Франция) ежедневно в профилактической дозе подкожно 4000 МЕ (40 мг) однократно в сутки или в промежуточной дозе: подкожно 4000 МЕ (40 мг) 2 раза в сутки в зависимости от тяжести заболевания. Низкомолекулярный гепарин применяли в течение всей госпитализации. При необходимости пациенты получали левофлоксацин (Levofloxacin, «Дальхимфарм», Россия) или цефтриаксон (Ceftriaxone, «Макиз-Фарма», Россия). Курс лечения варьировал от 10 до 14 сут, в среднем составил 12 ± 4 сут. Противовирусная терапия off-label была назначена части пациентам (70% от численности группы). В качестве противовирусных препаратов применяли гидроксихлорохин (Plaquenil, Sanofi-Synthelabo, Великобритания); лопинавир и ритонавир 200/50 (Kaletra, AbbVie Deutschland, Германия) и интерферон альфа-2b (Grippferon, «ФИРН М», Россия). В качестве глюкокортикоидной терапии применяли дексаметазон (Dexamethasone, Shreya Life Sciences, Индия) в дозировке 12 мг в сутки.

Исследование N2 было выполнено через $32,58 \pm 1,47$ сут, исследование N3 — через $64,83 \pm 2,72$ сут, исследование N4 — через $104,23 \pm 4,30$ сут.

Второй этап включал изучение динамики уровня антител у пациентов с COVID-19 с различной терапией. В одноцентровое открытое проспективное рандомизированное контролируемое исследование были включены пациенты, госпитализированные в СПб ГБУЗ «Городская многопрофильная больница № 2» с клиническим диагнозом U07.1 «Коронавирусная инфекция, вызванная вирусом COVID-19, вирус идентифицирован» в течение апреля–июля 2020 г. Рандомизация пациентов производилась конвертным методом. Критериями включения в исследование были среднетяжелая и тяжелая формы течения заболевания, наличие в клиническом анализе крови абсолютной ($< 1,2 \times 10^9/\text{л}$) и/или относительной ($< 19\%$) лимфопении, наличие двусторонней полисегментарной пневмонии, подтвержденной методом спиральной компьютерной томографии с индексом поражения КТ1–КТ3 с явлениями дыхательной недостаточности ($SpO_2 \leq 95\%$).

Все пациенты (75 человек, средний возраст $64,70 \pm 7,20$ года) получали стандартное лечение, как описано выше. Они были разделены на 2 группы: в контрольную группу вошли 37 пациентов (15 мужчин и 22 женщины), которые получали лечение по стандартной схеме; основную группу составили 38 пациентов (11 мужчин и 27 женщины), получавших лечение по стандартной схеме и дополнительно лекарственный препарат тималин («Самсон-Мед», Россия, серия препарата 70519). Препарат применяли

начиная со дня поступления в стационар по схеме: 10 мг в 2 мл физиологического раствора (0,9% раствор натрия хлорида) ежедневно внутримышечно однократно в течение 5 суток.

Исследование N1 у пациентов обеих групп выполнялось на 18–22-е сутки после поступления в стационар. Исследование N2 выполнялось через 104 сут.

Лабораторные исследования. Пациентам проводили лабораторные исследования уровня антител IgG к SARS-CoV-2 после терапии в различные сроки.

Для исследования забор крови осуществляли натощак методом венопункции из кубитальной вены в специальные вакуумные пробирки. Забор биологического материала проводился полностью в соответствии с требованиями ведения преаналитического этапа гематологического исследования.

Уровень антител измеряли на автоматическом иммунохемилюминесцентном анализаторе ARCHITECT 2000i производства Abbott Laboratories (США) с использованием реактивов ARCHITECT (Ireland). Тест SARS-CoV-2 IgG был разработан для определения антител класса IgG к нуклеокапсидному белку вируса SARS-CoV-2 в сыворотке крови, полученной от лиц с симптомами заболевания. Данный тест является автоматизированным двухступенчатым иммунологическим анализом для определения антител IgG к SARS-CoV-2 в сыворотке крови человека на основе технологии хемилюминесцентного иммуноанализа на парамагнитных микрочастицах, покрытых антигеном SARS-CoV-2 [16]. Антитела IgG к SARS-CoV-2, присутствующие в сыворотке, связываются с микрочастицами. Полученная в результате хемилюминесцентная реакция измеряется как относительная световая единица (RUU). Существует прямая зависимость между количеством антител IgG к SARS-CoV-2 в образце и RUU, обнаруживаемыми оптикой системы прибора. Эта взаимосвязь выражается в рассчитанном индексе (S/C). Пороговое значение индекса (S/C) составляет 1,4 (отрицательный результат теста $< 1,4$).

Следует отметить, что антитела к IgG человека, использованные в описываемом тесте SARS-CoV-2 IgG, продемонстрировали высокую класс-специфическую реактивность только на изотипы IgG человека. Не наблюдалось связывающего взаимодействия с человеческими IgM и IgA или овечьими IgG.

В описании теста ARCHITECT фирмы Abbott (Ireland) по обнаружению антител IgG к нуклеокапсидному белку SARS-CoV-2 отмечено, что у 50 здоровых пациентов индекс (S/C) был равен $0,04 \pm 0,002$, а у 50 пациентов с COVID-19 равнялся $3,53 \pm 0,004$. В нашей работе проведено исследование антител IgG у 50 здоровых лиц (15 мужчин и 35 женщин, средний возраст $48,25 \pm 7,63$). Этот показатель составил $0,03 \pm 0,005$, что практически совпадает с показателем нормы у фирмы — производителя реактивов.

Статистическую обработку результатов проводили в программе SPSS Statistics 17.0. Для проверки гипотезы о том, что каждая из исследуемых выборок принадлежит

к нормальному распределению, использовали критерий Колмогорова–Смирнова. Гипотеза о нормальности распределения данных подтвердилась для всех выборок, представленных в исследовании. В связи с этим оценку различий между выборками проводили с использованием параметрического *t*-критерия Стьюдента. Критический уровень достоверности нулевой статистической гипотезы (об отсутствии значимых различий) принимали равным 0,01 или 0,05. Рассчитывали среднее арифметическое (\bar{X}), стандартную ошибку среднего арифметического (SE) для каждой выборки. Данные в таблицах представлены в виде $\bar{X} \pm SE$.

Результаты и обсуждение

Результаты первого этапа исследования представлены в табл. 1. Из них следует, что при исследовании N1 (после завершения курса лечения в стационаре) индекс (S/C) антител IgG к SARS-CoV-2 составил $4,67 \pm 0,24$. Исследования N2, N3, N4, проводимые с интервалом примерно 1 мес. после выписки из стационара, показали статистически значимое снижение уровня антител. Так, через $104,23 \pm 4,30$ сут уровень антител IgG снизился в 2,9 раза или уменьшился на 65% по сравнению с исследованием N1. Таким образом, результаты исследования в динамике концентрации антител однозначно показали существенное снижение их уровня практически у всех обследованных пациентов. Учитывая динамику снижения антител, дальнейшее изучение уровня антител IgG, вероятно, сможет показать полное исчезновение их в крови.

Учитывая эти результаты, большой интерес представляет возможность увеличения уровня антител IgG после завершения курса лечения и замедления снижения их концентрации в крови у пациентов, что позволит увеличить длительность устойчивости организма к потенциальному повторному заражению.

Результаты второго этапа исследования представлены в табл. 2. Следует отметить, что ни в одной из групп летальных исходов не было. За время наблюдения при спиральной компьютерной томографии в контрольной группе отмечено прогрессирование патологических изменений в 7 случаях, а в основной группе — в 3 случаях.

Как следует из табл. 2, в контрольной группе пациентов, получавших стандартное лечение, через 104 дня наблюдалось снижение уровня АТ IgG в 2,13 раза. Снижение индекса (S/C) составило 53% по сравнению с показателем после завершения курса лечения.

Следует подчеркнуть, что индекс (S/C) антител IgG в контрольной группе пациентов составил $2,62 \pm 0,29$. Этот показатель в данной группе пациентов (средний возраст $64,70 \pm 7,20$ года) оказался существенно ниже, чем у пациентов более молодой группы ($44,00 \pm 2,03$ — первый этап исследования). Таким образом, следует констатировать, что процесс антителообразования у людей старшей возрастной группы существенно меньше (в 1,78 раза) по сравнению с более молодым контингентом.

Уровень антител IgG после применения иммуномодулятора тималина у лиц старшей возрастной группы составил $5,35 \pm 0,51$, что в 2,04 раза больше, чем в кон-

Таблица 1

Динамика индекса (S/C) антител IgG к SARS-CoV-2 у пациентов с COVID-19 при стандартном лечении ($\bar{X} \pm SE$)

Показатель	Исследование N1	Исследование N2	Интервал, сут (N2–N1)	Исследование N3	Интервал, сут (N3–N1)	Исследование N4	Интервал, сут (N4–N1)	Здоровые лица (контроль)
Индекс (S/C)	$4,67 \pm 0,24$	$3,80 \pm 0,32$	$32,58 \pm 1,47$	$2,66 \pm 0,22^*$	$64,83 \pm 2,72$	$1,63 \pm 0,17^*$	$104,23 \pm 4,30$	$0,03 \pm 0,005$
n	60	45		39		32		50
N1/N2		1,23		1,76		2,87		
N1/N3				43		65		
N1/N4								
Снижение по отношению к N1 (%)		19						

Примечания: * $p < 0,01$ — статистически значимо по сравнению с показателем исследования N1. Исследование N1 выполнялось у пациентов на 18–22-е сутки после поступления в стационар с диагнозом COVID-19 (в табл. 1 и 2).

Таблица 2

Индекс (S/C) антител IgG к SARS-CoV-2 у пациентов с COVID-19 при стандартном лечении и с применением тималина ($\bar{X} \pm SE$)

Показатель	Стандартное лечение		Стандартное лечение + тималин		Здоровые лица (контроль)
	исследование N1	исследование N2 (через 104 дня)	исследование N1	исследование N2 (через 104 дня)	
Индекс (S/C)	2,62 ± 0,29	1,23 ± 0,07*	5,35 ± 0,51*	4,23 ± 0,62**	0,03 ± 0,005
<i>n</i>	37	28	38	32	50
N1/N2		2,13		1,26	
Снижение по отношению к N1 (%)		53		21	

Примечания: * $p < 0,01$ — статистически значимо по сравнению с показателем после стандартного лечения N1; ** $p < 0,01$ — статистически значимо по сравнению с показателем стандартного лечения N2.

трольной группе. Исследование индекса (S/C) антител IgG у пациентов основной группы через 104 суток показало снижение уровня антител только на 21% по сравнению с исходным показателем. Однако этот показатель в 3,44 раза превысил уровень антител в контрольной группе в этот же срок исследования. Необходимо подчеркнуть, что снижение антител IgG в контрольной группе составило 53%. Эти результаты указывают на способность тималина повышать уровень антителообразования и сохранять достаточную концентрацию антител в крови пациентов, перенесших COVID-19, в изученные сроки исследования.

Таким образом, при исследовании уровня АТ к SARS-CoV-2 в динамике обнаружена нисходящая тенденция, способная в последующем привести к серонегативным результатам. Исчезновение АТ, в свою очередь, может сделать реконвалесцентов вновь восприимчивыми к инфекции, а также не позволит сформироваться иммунной прослойке у населения.

Комбинирование стандартного лечения с тималином привело к существенной стабилизации уровня антител. Необходимо отметить, что уровень АТ у пациентов, принимавших тималин, был значимо выше ($p < 0,01$) аналогичного показателя у пациентов, получавших только стандартное лечение. Это подтверждает целесообразность применения тималина в комплексном лечении пациентов с COVID-19 для усиления антителообразования и увеличения периода сохранения антител в крови.

Обнаруженные свойства тималина связаны со способностью иммуномодулятора повышать как количество, так и функциональную активность Т-лимфоцитов. В Т-зависимых зонах лимфатических узлов дендритные клетки презентуют антигены SARS-CoV-2 в комплексе с главным комплексом гистосовместимости мигрирующим Т-лимфоцитам, среди которых обнаруживается клетка со специфичным для данного антигена рецептором. Дополнительный корцепторный активационный сигнал запускает антигенспецифичный иммунный ответ. Это приводит к пролиферации и дифференцировке, результатом которых является образование клонов (лимфоцитов-эффекторов). Данные клоны взаимодействуют с активированными В-лимфоцитами путем экспрессии мембранных молекул и секреции цитокинов. Это взаимодействие приводит к миграции В-лимфоцитов в зону

лимфоидного фолликула лимфатического узла, где происходит их пролиферация и последующая дифференцировка до плазматических клеток — генераторов специфических антител. Необходимо отметить, что часть активированных В-лимфоцитов переходит в состояние «покоящихся лимфоцитов», тем самым реализуя другой важный компонент адаптивной иммунной реакции — иммунологическую память. Иммунологическая память — основной субстрат для вакцинации и формирования иммунной прослойки населения.

Таким образом, тималин опосредованно способен оптимизировать процесс антителообразования, а также индуцировать формирование иммунологической памяти. Данные эффекты применения тималина могут быть успешно использованы при вакцинации населения, а также явиться ключом для скорейшего формирования адаптивного иммунитета у пациентов, инфицированных COVID-19.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Работа выполнена с соблюдением этических стандартов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Rokni M., Ghasemi V., Tavakoli Z. Immune responses and pathogenesis of SARS-CoV-2 during an outbreak in Iran: Comparison with SARS and MERS. *Rev. Med. Virol.* 2020;30(3):e2107. DOI: 10.1002/rmv.2107
- Leung D.T., Tam F.C., Ma C.H., Chan P.K., Cheung J.L.K., Niu H. et al. Antibody response of patients with severe acute respiratory syndrome (SARS) targets the viral nucleocapsid. *J. Infect. Dis.* 2004;190(2):379–86. DOI: 10.1086/422040
- Tan Y., Liu F., Xu X., Ling Y., Huang W., Zhu Z. et al. Durability of neutralizing antibodies and T-cell response post SARS-CoV-2 infection. *Front. Med.* 2020;14:746–751. DOI: 10.1007/s11684-020-0822-5
- Wu F., Wang A., Liu M., Wang Q., Chen J., Xia S. et al. Neutralizing antibody responses to SARS-CoV-2 in a COVID-19 recovered 2 patient cohort and their implications. *medRxiv.* 2020. DOI: 10.1101/2020.03.30.20047365
- Yiğenoğlu T.N., Hacıbekiroğlu T., Berber İ., Dal M.S., Baştürk A., Namdaroğlu S. et al. Convalescent plasma therapy in patients with COVID-19. *J. Clin. Apher.* 2020;35(4):367–373. DOI: 10.1002/jca.21806
- Krammer F., Simon V. Serology assays to manage COVID-19. *Science.* 2020;368(6495):1060–1061. DOI: 10.1126/science.abc1227

Оригинальные исследования

7. Wajnberg A., Amanat F., Firpo A., Altman D.R., Bailey M.J., Mansour M. et al. Robust neutralizing antibodies to SARS-CoV-2 infection persist for months. *Science*. 2020;370(6521):1227–1230. DOI: 10.1126/science.abd7728
8. Long Q. X., Tang X.-J., Shi Q.-L., Li Q., Deng H.-J., Yuan J. et al. Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. *Nat. Med.* 2020;26(8):1200–1204. DOI:10.1038/s41591-020-0965-6
9. Ripberger T.J., Uhrlaub J.L., Watanabe M., Wong R., Castaneda Y., Pizzato H.A. et al. Detection, prevalence, and duration of humoral responses to SARS-CoV-2 under conditions of limited population exposure. *medRxiv*. 2020. DOI: 10.1101/2020.08.14.20174490
10. Tillett R.L., Sevinsky J.R., Hartley P.D., Kerwin H., Crawford N., Gorzalski A. et al. Genomic evidence for reinfection with SARS-CoV-2: a case study. *Lancet Infect. Dis.* 2020;21(1):52–8. DOI: 10.1016/S1473-3099(20)30764-7
11. Хавинсон В.Х. Лекарственные пептидные препараты: прошлое, настоящее, будущее. *Клиническая медицина*. 2020;98(3):165–177. [Khavinson V.Kh. Peptide medicines: past, present, future. *Klinicheskaya Meditsina*. 2020;98(3):165–177. (in Russian)]. DOI: <http://dx.doi.org/10.30629/0023-2149-2020-98-3-165-177>
12. Хавинсон В.Х., Кузник Б.И. Осложнения у больных COVID-19. Предполагаемые механизмы коррекции. *Клиническая медицина*. 2020;98(4):256–5. [Khavinson V.Kh., Kuznik B.I. Complications in COVID-19 patients. Suggested mechanisms of correction. *Klinicheskaya Meditsina*. 2020;98(4):256–65. (in Russian)]. DOI: <http://dx.doi.org/10.30629/0023-2149-2020-98-4-256-265>
13. Хавинсон В.Х., Кузник Б.И., Рыжак Г.А. Пептидные геропротекторы — эпигенетические регуляторы физиологических функций организма. СПб.: РГПУ им. А.И. Герцена. 2014:271. [Khavinson V.Kh., Kuznik B.I., Ryzhak G.A. Peptide geroprotectors — epigenetic regulators of the physiological functions of the organism. *SPb.: RGPU im. A.I. Gertsena*. 2014:271. (in Russian)]
14. Белокрылов Г.А., Морозов В.Г., Хавинсон В.Х., Софронов Б.Н. Влияние низкомолекулярных экстрактов из гетерологичных тимуса, эпифиза и гипоталамуса на иммунный ответ у мышей. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 1976;2:202–4. [Belokrylov G.A., Morozov V.G., Khavinson V.Kh., Sofronov B.N. Influence of low molecular weight extracts from heterologous thymus, pineal gland and hypothalamus on the immune response in mice. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 1976;2:202–4. (in Russian)]
15. Белокрылов Г.А., Морозов В.Г., Хавинсон В.Х., Софронов Б.Н. Низкомолекулярная гомогенная фракция тимуса, стимулирующая иммуногенез. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 1977;7:56–8. [Belokrylov G.A., Morozov V.G., Khavinson V.Kh., Sofronov B.N. Low molecular weight homogeneous fraction of the thymus that stimulates immunogenesis. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 1977;7:56–8. (in Russian)]
16. Theel E.S., Harring J., Hilgart H., Granger D. Performance characteristics of four high-throughput immunoassays for detection of IgG antibodies against SARS-CoV-2. *J. Clin. Microbiol.* 2020;58(8):e01243–20. DOI: 10.1128/JCM.01243-20

Поступила 10.07.2020