

Изучение протективной активности препарата Тимоген®, спрей назальный дозированный, на модели экспериментальной гриппозной пневмонии у лабораторных животных

В. В. ЗАРУБАЕВ¹, А. В. ГАРШИНИНА¹, Я. Л. ЕСАУЛКОВА¹, М. Г. МИХАЛЬСКИЙ¹,
В. С. СМІРНОВ¹, *Т. А. КУДРЯВЦЕВА², С. В. ПЕТЛЕНКО³, В. А. ЗАПЛУТАНОВ⁴

¹ ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера», Санкт-Петербург, Россия

² ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

³ ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии им. академика С. Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург, Россия

⁴ АНО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии», Санкт-Петербург, Россия

Study of the Protective Activity of Thymogen® Dosed Nasal Spray on a Model of Experimental Influenza Pneumonia in Laboratory Animals

VLADIMIR V. ZARUBAEV¹, ANZHELIKA V. GARSHININA¹, YANA L. ESAULKOVA¹,
MIKHAIL G. MIHALSKIY¹, VYACHESLAV S. SMIRNOV¹, *TATIANA A. KUDRYAVTSEVA²,
SERGEY V. PETLENKO³, VASILIIY A. ZAPLUTANOV⁴

¹ Saint-Petersburg Pasteur Institute, Saint-Petersburg, Russia

² Institute of Experimental Medicine, Saint-Petersburg, Russia

³ Scientific and Clinical Center of Toxicology named after Academician S. N. Golikov of the Federal Medical and Biological Agency, Saint-Petersburg, Russia

⁴ Saint-Petersburg Institute of bioregulation and gerontology, Saint-Petersburg, Russia

Резюме

Введение. Из-за способности вируса гриппа мутировать необходимо осуществлять постоянный поиск новых лекарственных препаратов, обладающих профилактическим и прямым противовирусным действием. **Цель исследования** — изучение протективных противовирусных свойств препарата «Тимоген®», спрей назальный дозированный, на модели летальной гриппозной пневмонии у лабораторных животных. **Материал и методы.** Для эксперимента по изучению противовирусной активности тестируемых образцов лекарственных препаратов в отношении вируса гриппа H1N1 на белых половозрелых мышах были сформированы следующие группы (по 30 особей в каждой): две группы отрицательного контроля; две группы, получавшие Тимоген®, спрей (до и после заражения); одна группа животных, получавших Тамифлю®, и одна — Гексорал®. Оценивали летальность животных в ходе гриппозной пневмонии, а также проводили гистологический и морфометрический анализ. **Результаты и обсуждение.** Морфологическая картина лёгких животных коррелировала с их протективной активностью при анализе выживаемости животных. В наибольшей степени нормализация структуры ткани была выражена в группе животных, инфицированных вирусом, предварительно инкубированным с препаратом Тимоген®, спрей, назальный дозированный, и в группе с препаратом Тамифлю®. При этом в группе с препаратом Тимоген®, спрей вирусная нагрузка в лёгких была ниже на 1,5 и 1,2 порядка по сравнению с группой отрицательного контроля (3- и 6-е сутки опыта, соответственно), что соответствует снижению интенсивности вирусной репродукции в 31,6 и 15,8 раз.

Ключевые слова: Тимоген®; назальный спрей; грипп; противовирусное действие; вирусная пневмония; вирус гриппа; мыши; доклиническое исследование

Для цитирования: Зарубаев В. В., Гаршинина А. В., Есаулкова Я. Л., Михальский М. Г., Смирнов В. С., Кудрявцева Т. А., Петленко С. В., Заплутанов В. А. Изучение протективной активности препарата «Тимоген®», спрей назальный дозированный, на модели экспериментальной гриппозной пневмонии у лабораторных животных. *Антибиотики и химиотер.* 2023; 68 (9–10): 46–57. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-9-10-46-57>.

Abstract

Introduction. Due to the ability of the influenza virus to mutate, it is necessary to constantly search for new drugs with preventive and direct antiviral effects. **The aim of the study** is to investigate the protective antiviral properties of the drug Thy-

© Коллектив авторов, 2023

*Адрес для корреспонденции: ул. Мира, д. 14, СПб НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, г. Санкт-Петербург, Россия, 197101. E-mail: tatjana_ku@inbox.ru

© Team of Authors, 2023

*Correspondence to: 14 Mira st., Saint-Petersburg Pasteur Institute, Saint-Petersburg, 197101 Russia. E-mail: tatjana_ku@inbox.ru

mogen®, a dosed nasal spray, on a model of lethal influenza pneumonia in laboratory animals. **Material and methods.** White mature mice were selected for the experiment on the antiviral activity of the tested drug samples against H1N1 influenza virus; the mice were divided into the following groups (30 animals each): two negative control groups; two groups receiving Thymogen®, a dosed nasal spray (before and after infection); one group of animals received Tamiflu®, and one received Hexoral®. The mortality of animals with influenza pneumonia was assessed; histological and morphometric analyses were also carried out. **Results and discussion.** The morphological picture of the lungs of animals correlated with their protective activity when analyzing the survival of animals. The normalization of tissue structure was pronounced the most in the group of animals infected with the virus, pre-incubated with Thymogen®, a dosed nasal spray, and in the group receiving Tamiflu®. Moreover, the viral load in the lungs was lower by 1.5 and 1.2 orders of magnitude in the group receiving Thymogen®, dosed nasal spray, compared to the negative control group (the 3rd and the 6th days of the experiment, respectively), which corresponds to a decrease in the intensity of viral reproduction by 31.6 and 15.8 times.

Keywords: Thymogen; nasal spray; influenza; antiviral effect; viral pneumonia, influenza virus; mice; preclinical study

For citation: Zarubaev V. V., Garshina A. V., Esaulkova Y. L., Mihalskij M. G., Smirnov V. S., Kudryavtseva T. A., Petlenko S. V., Zaplutanov V. A. Study of the protective activity of Thymogen® dosed nasal spray on a model of experimental influenza pneumonia in laboratory animals. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2023; 68 (9–10): 46–57. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-9-10-46-57>.

Введение

Грипп является высококонтагиозным респираторным заболеванием человека. Ежегодно в мире регистрируется порядка 500 млн случаев заболевания, из которых около 2 млн заканчиваются летально. Грипп вызывает ежегодные эпидемии, а при резкой смене антигенного варианта вируса — пандемии, охватывающие все регионы Земли и приводящие к исключительно высоким показателям заболеваемости, госпитализации и смертности [1]. Наряду с сезонными подтипами вируса гриппа А (H1N1, H3N2), в человеческой популяции регистрируются вспышки заболеваемости, обусловленные вирусами подтипов H5N1, H7N7 и H7N9, проявляющими пандемические потенции благодаря отсутствию вакцин и иммунной прослойки населения, препятствующей распространению этих штаммов [2].

Для контроля гриппозной инфекции существуют препараты, относящиеся к четырём классам на основании различий в вирусной мишени и механизмах действия. Международно признанными являются производные адамантана (ремантадин и амантадин), блокирующие диссоциацию вирионов путём ингибирования активности вирусного протонного канала M2 [3]. Препараты второго поколения (осельтамивир, занамивир, ланинамивир и перамивир) блокируют вирусспецифический фермент нейраминидазу, препятствуя таким образом почкованию вирионов потомства от плазматической мембраны клетки [4–6]. Зарегистрированный в 2018 г. ингибитор вирусной эндонуклеазы — балоксавира марбоксил — препятствует процессам транскрипции вирусспецифической РНК в клетке [7]. Наконец, препарат умифеновир блокирует процесс слияния вирусной и клеточной мембран, связываясь с вирусспецифическим белком гемагглютинином [8].

Способность вируса гриппа к быстрой выработке лекарственной резистентности нивелирует противовирусную активность многих лекарственных препаратов. Это существенно снижает

эффективность противовирусной химиотерапии и придаёт особую актуальность разработке и внедрению новых средств профилактики и лечения гриппа, обладающих альтернативными механизмами активности и максимально широким спектром действия, в том числе за счёт его комплексного механизма действия. Ранее нами было показано противовирусное действие препарата Тимоген®, спрей назальный дозированный, в отношении широкого спектра респираторных вирусов человека в экспериментах *in vitro* [9]. Учитывая, что подобный дизайн эксперимента не может дать полную информацию об эффективности клинического использования препарата, актуальной задачей является оценка протективной активности препарата в опытах на животных. В этом случае есть возможность зафиксировать не только прямые, но и опосредованные, в том числе через иммунную систему, эффекты препаратов.

Цель исследования — изучение протективных противовирусных свойств препарата Тимоген®, спрей назальный дозированный, на модели летальной гриппозной пневмонии у лабораторных животных.

Материал и методы

Вирусы и клетки. В исследовании использовали вирус гриппа A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) из коллекции вирусных штаммов НИИЭМ им. Пастера. Вирус накапливали в клетках перmissive линии MDCK (ATCC CCL-34), делили на аликвоты и хранили при температуре –80°C до постановки соответствующих экспериментов.

Исследуемые препараты. В исследовании использовали альфа-глутамил-триптофан (Тимоген® спрей, назальный дозированный) производства АО «МБНПК «Цитомед» (Санкт-Петербург, Россия). В качестве препарата сравнения использовали осельтамивира фосфат (Тамифлю®, капсулы 75 мг, производства Hoffmann LaRoche, Швейцария) и гексэтидин — Гексорал®, аэрозоль для местного применения 0,2%, Делфарм Орлеан, Франция.

Лабораторные животные. Белых половозрелых мышей (самки) линии Balb/c массой 16–18 г (возраст 5–6 нед) получали из ООО «СМК СТЕЗАР» (Владимирская обл.). Содержание животных и манипуляции проводились в соответствии с «Guide for the care and use of laboratory animals. National Academy press (Washington, D. C. 1996).

В экспериментах по изучению противовирусной активности тестируемых образцов в отношении вируса гриппа H1N1 были сформированы следующие группы:

Группа 1 ($n=30$) — отрицательный контроль. Животные, инфицированные вирусом гриппа A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) в дозе 10^3 TCID₅₀ интраназально под эфирным наркозом в объёме 30 мкл и получавшие интраназально физиологический раствор (плацебо) в объёме 30 мкл в период 1–5 сут после инфицирования.

Группа 2 ($n=30$) — положительный контроль. Животные, инфицированные вирусом гриппа A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) в дозе 10^3 TCID₅₀ интраназально под эфирным наркозом в объёме 30 мкл и получающие препарат сравнения Тамифлю®, капсулы 75 мг, интрагастрально в объёме 200 мкл в дозе 25 мг/кг/сут в период 1–5 сут после инфицирования.

Группа 3 ($n=30$) — Тимоген®, спрей назальный, лечебно-профилактическая схема. Животные, инфицированные вирусом гриппа A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) в дозе 10^3 TCID₅₀ интраназально под эфирным наркозом в объёме 30 мкл и получающие Тимоген®, спрей, интраназально по лечебно-профилактической схеме в объёме 30 мкл в период 1–5 сут после инфицирования.

Группа 4 ($n=30$) — Гексорал®, аэрозоль. Животные, инфицированные вирусом гриппа A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) в дозе 10^3 TCID₅₀ интраназально под эфирным наркозом в объёме 30 мкл и получающие Гексорал®, аэрозоль, интраназально по лечебно-профилактической схеме в объёме 30 мкл в период 1–5 сут после инфицирования.

Группа 5 ($n=30$) — отрицательный контроль-2. Животные, инфицированные вирусом гриппа A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) в дозе 10^3 TCID₅₀ интраназально под эфирным наркозом в объёме 30 мкл и получающие физиологический раствор (плацебо) интрагастрально в объёме 200 мкл в период 1–5 сут после инфицирования.

Группа 6 ($n=30$) — Тимоген®, спрей назальный, вирулицидное действие. Животные, инфицированные вирусом гриппа A/Puerto Rico/8/34 (H1N1), предварительно инкубированным с препаратом Тимоген®, спрей, в течение 30 мин, в дозе 10^3 TCID₅₀ интраназально под эфирным наркозом в объёме 30 мкл.

В работе использовали две схемы применения препарата: вирулицидную и лечебно-профилактическую. При вирулицидной схеме применения вирус в дозе 10^3 TCID₅₀ предварительно инкубировали с препаратом Тимоген®, спрей, в течение 30 мин, после чего использовали для заражения животных. При лечебно-профилактической схеме применения препарата Тимоген®, спрей, вводили интраназально за 24 и за 3 ч до инфицирования и ежедневно раз в сутки в течение 5 дней после инфицирования животных.

Использование двух групп отрицательного контроля обусловлено особенностями интраназального применения профилактических и лечебных препаратов. Течение патологического процесса при гриппозной инфекции на фоне систематического интраназального введения жидкостей значительно отягощено по сравнению с группами инфицированных животных, получающих плацебо иными способами, и для достижения идентичных показателей гибели в первом случае требуется доза вируса приблизительно на 2 порядка меньше, чем во втором [10].

Животные были заражены вирусом гриппа A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) в дозе 10^3 TCID₅₀ (группы 2, 5, 6) или 10^4 TCID₅₀ (группы 1, 3, 4) интраназально под эфирным наркозом в объёме 30 мкл. Наблюдение за животными осуществляли в течение 14 дней, то есть срока, в течение которого при экспериментальной гриппозной пневмонии отмечается летальность животных. Ежедневно учитывали летальность животных в контрольных и опытных группах. На основании полученных данных о смертности в каждой группе рассчитывали процент летальности (M) — отношение число павших за 14 дней животных к общему числу заражённых животных в группе; и индекс

защиты (IP) — отношение разницы процентов смертности в контрольной и опытной группах к проценту смертности в контрольной группе в соответствии со следующими формулами:

$$M=M/Nt,$$

где M — число животных в группе, павших в течение 14 дней после заражения; Nt — общее число животных в группе.

$$IP=(M_c-M_e)/M_c \times 100\%,$$

где M_c и M_e — летальность в процентах в контрольной и опытной группах, соответственно.

На 3-и и 6-е сутки после заражения была проведена эвтаназия. Грудная клетка животных была вскрыта, и лёгкие 10 животных из каждой группы были изолированы. Лёгкие 5 животных были использованы для оценки вирусной нагрузки в ткани, оставшиеся 5 препаратов лёгких — для гистологического и морфометрического исследования.

Оценка вирусной нагрузки в ткани лёгких. Выделенные лёгкие были помещены в пробирки объёмом 2 мл. К ткани добавляли 9-кратное количество физиологического раствора, и затем готовили 10% гомогенаты при помощи автоматического гомогенизатора TissueLyser согласно инструкции производителя. Из каждого гомогената готовили серию 10-кратных разведений в среде для культивирования клеток MEM от 10^{-1} до 10^{-7} . Этими разведениями инфицировали клетки MDCK, предварительно рассеянные на 96-луночные планшеты для клеточных культур (NEST, Китай, кат. #701001). Планшеты инкубировали в течение 72 ч при 36°C и 5% CO₂. Наличие вируса определяли при помощи реакции гемагглютинации с 1% куриными эритроцитами. Для этого культуральную жидкость из лунок планшетов переносили в соответствующие лунки круглодонных планшетов (100 мкл на лунку), после чего к образцам добавляли по 100 мкл на лунку 1% суспензии куриных эритроцитов в физиологическом растворе. Результаты гемагглютинации учитывали через 1 ч инкубации планшетов при 20°C. За инфекционный титр вируса принимали величину, обратную десятичному логарифму максимального разведения исходного материала, способного вызвать положительную реакцию гемагглютинации.

Гистологический и морфометрический анализ. Для морфологического исследования лёгкие фиксировали 10% формалином на фосфатном буфере, отмывали в проточной воде в течение ночи, дегидратировали в этаноле нарастающих концентраций, после чего обрабатывали хлороформом в течение 1 мин, заливали в парафин и готовили из полученных блоков срезы толщиной 4 мкм. Срезы освобождали от парафина ксилолом, регидратировали в этаноле убывающей концентрации, окрашивали гематоксилин-эозином, дифференцировали в подкисленном спирте, окончательно обезживляли в спиртах нарастающей концентрации, дважды обрабатывали ксилолом и заключали в балзам. Полученные препараты исследовали под микроскопом Leica DM1000. Качественно оценивали интенсивность и клеточный состав воспалительного инфильтрата в очагах пневмонии, а также степень дегенеративных и пролиферативных процессов в ткани лёгких.

Для количественной оценки степени выраженности патологических процессов в лёгких гистологические срезы были подвергнуты морфометрическому анализу при помощи программы анализа изображений ImageJ (NIH, США). В качестве оцениваемого параметра использовали долю площади среза, занятую клеточными элементами, что коррелирует с тяжестью процесса при пневмонии любой, в том числе, вирусной этиологии.

Анализ данных. Для всех данных были рассчитаны элементы описательной статистики, которые представлены в итоговых таблицах. Результаты представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего ($M \pm SE$). Достоверность различий оценивали при помощи пакета программ GraphPad Prism (v.6.01). Достоверными считали различия между группами, если параметр p не превышал 0,05.

Результаты

Изучение противовирусной активности препаратов.

Влияние препарата Тимоген®, спрей назальный дозированный, на динамику гибели животных в ходе экспериментальной гриппозной пневмонии. На первом этапе опыта была изучена эффективность применения препарата Тимоген®, спрей назальный, дозированный как протективного средства при гриппозной пневмонии. Были исследованы две схемы применения препарата — интраназальная лечебно-профилактическая, а также вирулицидная, при которой перед инфицированием вирус был предварительно инкубирован с раствором препарата. Две группы отрицательного контроля были необходимы для обеспечения адекватного негативного контроля.

Известно, что при интраназальном и интра-трахеальном применении препаратов для лечения пневмонии их терапевтический эффект нивелируется, а зачастую полностью маскируется патологическими последствиями собственно интраназального применения препаратов. Это обусловлено тем, что систематическое поступление жидкости в дыхательные пути препятствует выводу вирусного потомства и продуктов клеточного распада, которые при обычном течении гриппа удаляются из организма при помощи механизмов мукоцилиарного клиренса. Это приводит к значительному возрастанию вирусной нагрузки, и для получения сопоставимых показателей тяжести процесса, в том числе смертности животных, требует инфицирующей дозы на 2–3 порядка меньшей, чем для модели с другими путями введения препаратов (внутривенным, оральным, внутрибрюшинным и др.).

В этой связи в нашей работе были использованы две негативные контрольные группы животных. Животные первой группы были инфицированы вирусом в дозе 10^3 TCID₅₀ и получали в качестве плацебо интраназально физиологический раствор в объеме 30 мкл. Эта группа животных служила контролем для экспериментальных групп, где животные получали препараты интраназально (3 и 4). Животные второй контрольной группы были заражены вирусом в дозе 10^3 TCID₅₀ и не получали интраназальных препаратов. Эта группа служила отрицательным контролем для группы 6, где животные были инфицированы той же дозой вируса, предварительно инкубированного с раствором препарата Тимоген®, спрей назальный дозированный.

Результаты анализа динамики смертности животных в ходе гриппозной пневмонии, вызванной вирусом гриппа A/Puerto Rico/8/34 (H1N1), приведены в табл. 1 и для наглядности представлены на рис. 1, 2.

Как видно из представленных результатов, инфицирование вирусом гриппа приводило к гибели животных начиная с 6-х суток после заражения. К окончанию эксперимента летальность в обеих группах отрицательного контроля составила 90%. Использование препарата сравнения Тамифлю® приводило к достоверному снижению смертности животных на 89% по сравнению с группой плацебо (группа 5, $p=0,0004$), что говорит о корректности использованной модели.

Применение препарата Тимоген®, спрей назальный дозированный, по лечебно-профилактической схеме также снижало специфическую смертность животных. Индекс защиты в этом случае со-

Таблица 1. Динамика гибели животных в ходе гриппозной пневмонии, вызванной вирусом гриппа A/Puerto Rico/8/34 (H1N1), в условиях применения лекарственных средств

Table 1. Dynamics of animal mortality during the course of influenza pneumonia caused by influenza A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) virus under the conditions of treatment with medications

Группа опыта	Животных в группе	Смертность по дням после инфицирования							Смертность, %	Индекс защиты, %
		5	6	7	8	9	10	11		
Группа 1 Отрицательный контроль	10		1	3	2	1		2	90	—
Группа 2 Тамифлю	10				1				10	89
Группа 3 Тимоген (лечебно-профилактическая)	10			3		2			50	44
Группа 4 Гексорал	10	1	4	2			1		70	22
Группа 5 Отрицательный контроль-2	10		2	4	1	1	1		90	—
Группа 6 Тимоген (вирулицидная)	10				1	2	1		40	56

ставил 44% ($p=0,0806$). При этом препарат сравнения Гексорал®, аэрозоль, в аналогичных условиях снижал уровень смертности животных лишь на 22% ($p=0,8828$). Возможно, такая низкая активность препарата является следствием его более выраженного повреждающего действия в отношении клеток респираторного эпителия, что приводит к более выраженным последствиям гриппозной инфекции на поздних стадиях её развития.

В то же время предварительная инкубация вируса с препаратом Тимоген®, спрей назальный дозированный, приводила к достоверному снижению инфекционной активности вируса, что выражалось в достоверном снижении смертности животных по сравнению с соответствующей группой отрицательного контроля (индекс защиты 56%, $p=0,0042$). Полученные данные свидетельствуют, что препарат Тимоген®, спрей назальный дозированный, при различных вариантах применения является эффективным средством профилактики гриппозной инфекции, снижая инфекционную активность вируса при совместной предварительной инкубации.

Оценка вирусной нагрузки в ткани лёгких.

Полученные данные были подтверждены при анализе вирусной нагрузки в ткани лёгких инфицированных животных. Результаты изучения уровня репродукции вируса в ткани лёгких суммированы в табл. 2 и проиллюстрированы на рис. 3, 4.

Как видно из представленных результатов, вирус гриппа эффективно реплицировался в лёгких лабораторных животных, достигая к 3-м суткам титра $5,9 \lg \text{TCID}_{50}/0,2 \text{ мл}$. С течением времени инфекционный титр вируса снижался и на 6-е сутки инфекции составлял $3,6 \lg \text{TCID}_{50}/0,2 \text{ мл}$. Применение референс-препарата Тамифлю® приводило к подавлению вирусной репродукции на 2,1 и 1,1 порядка на 3-и и 6-е сутки, соответственно, что соответствует примерно 126- и 13-кратному снижению интенсивности вирусной продукции.

Использование изучаемых препаратов влияло на уровень репродукции вируса гриппа в ткани лёгких в разной степени. Так, наиболее

достоверное снижение инфекционной активности вируса отмечалось в группе животных, инфицированных вирусом, предварительно инкубированным с препаратом Тимоген®, спрей назальный дозированный. В этом случае вирусная нагрузка в лёгких была ниже на 1,5 и 1,2 порядка по сравнению с группой отрицательного контроля (3-и и 6-е сутки опыта, соответственно), что соответствует снижению интенсивности вирусной репродукции в 31,6 и 15,8 раз. В то же время интраназальное применение как препарата Тимоген®, спрей назальный дозированный, так и препарата сравнения Гексорал® не приводило к статистически достоверному снижению вирусного титра в ткани лёгких инфицированных животных.

Гистологическое исследование ткани лёгких.

Полученные данные были подтверждены при помощи морфологического анализа ткани лёгких животных экспериментальных групп. Так, лёгкие интактных животных выглядели воздушными, просветы трахеи и бронхов были свободны от клеточного дебриса и клеток воспалительного инфильтрата, межалвеолярные перегородки не были утолщены, а сами альвеолы были свободны от экссудата и клеток воспаления (рис. 5).

Инфицирование животных вирусом гриппа приводило к развитию отёка лёгких, сопровождающегося появлением воспалительного экссудата в просветах бронхов, деструкцией бронхиального эпителия, значительным утолщением межалвеолярных перегородок, сокращением воздухообменного объёма альвеол, отёком интерстициальной ткани и формированием очагов воспалительной инфильтрации в лёгких. В ряде случаев просветы бронхов и альвеолярные полости полностью заполнялись клетками воспалительного экссудата, образуя очаги карнификации (рис. 6, 7).

Применение изучаемых препаратов влияло на морфологические показатели патологического процесса при гриппозной пневмонии в различной степени. Так, в группе животных, получавших препарат сравнения Тамифлю®, отмечалась нор-

Таблица 2. Репродукция вируса гриппа A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) в лёгких лабораторных животных в условиях применения лекарственных средств

Table 2. Reproduction of influenza A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) virus in the lungs of laboratory animals under the drug treatment conditions

Препарат	Титр вируса ($\lg \text{TCID}_{50}/0,2 \text{ мл}$)*		p (KB)**	
	3 сут	6 сут	3 сут	6 сут
Группа 1 Отрицательный контроль	$5,9 \pm 0,3$	$3,6 \pm 0,2$	1,0000	1,0000
Группа 2 Тамифлю	$3,8 \pm 0,3$	$2,5 \pm 0,3$	0,0079	0,0317
Группа 3 Тимоген (лечебно-профилактическая)	$5,0 \pm 0,2$	$3,1 \pm 0,2$	0,0714	0,1032
Группа 4 Гексорал	$4,9 \pm 0,4$	$3,0 \pm 0,2$	0,1429	0,1905
Группа 5 Отрицательный контроль-2	$6,2 \pm 0,2$	$3,6 \pm 0,2$	1,0000	1,0000
Группа 6 Тимоген (вирулицидная)	$4,7 \pm 0,3$	$2,4 \pm 0,2$	0,0159	0,0238

Примечание. KB — контроль вируса; * — $M \pm SE$; ** — значение p при сравнении по критерию Манна–Уитни с соответствующей группой плацебо.

Note. KB — virus control; * — $M \pm SE$; ** — P value when compared with the corresponding placebo group using the Mann–Whitney test.

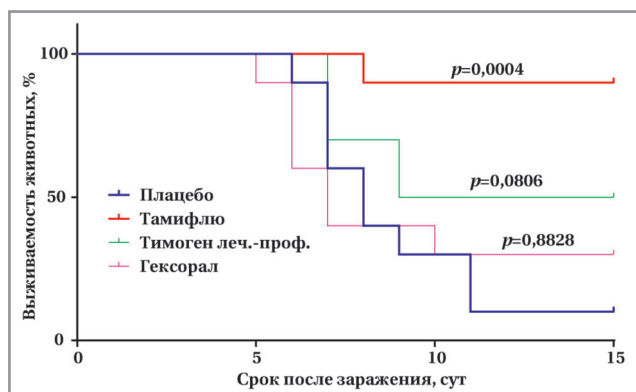


Рис. 1. Влияние лекарственных веществ, в том числе и при интраназальном применении, на динамику гибели животных в ходе экспериментальной гриппозной пневмонии, вызванной вирусом гриппа A/Puerto Rico/8/34 (H1N1), у белых мышей.

Fig. 1. The influence of medications, including intranasal use, on the dynamics of animal mortality during experimental influenza pneumonia caused by the influenza A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) virus in white mice.

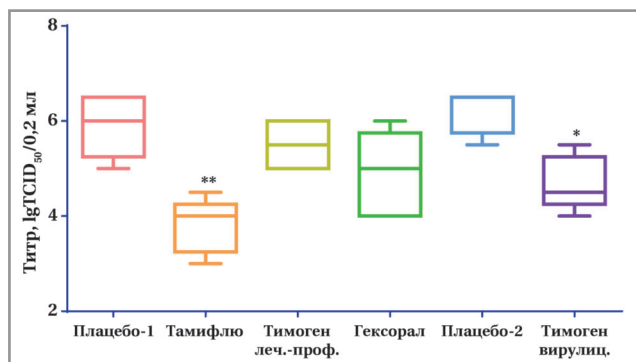


Рис. 3. Инфекционная активность вируса гриппа A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) в ткани лёгких животных на 3-и сутки после инфицирования в условиях применения лекарственных препаратов.

* — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$.

Fig. 3. Infectious activity of influenza A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) virus in animal lung tissue on the 3rd day after infection under the drug treatment conditions.

Note. * — $P < 0.05$; ** — $P < 0.01$.

мализация гистологической структуры ткани. Это выражалось в снижении степени экссудативных и инфильтративных процессов в ткани, уменьшении толщины межальвеолярных перегородок и повышении объёма воздухообменной зоны в респираторных отделах (рис. 8).

Морфологическая картина лёгких животных, получавших изучаемые препараты, коррелировала с их протективной активностью при анализе выживаемости животных. Так, в наибольшей степени нормализация структуры ткани была выражена в группе животных, инфицированных вирусом, предварительно инкубированным с препаратом Тимоген®, спрей назальный дозированный. В этом случае отмечалось снижение уровня отёка и вос-

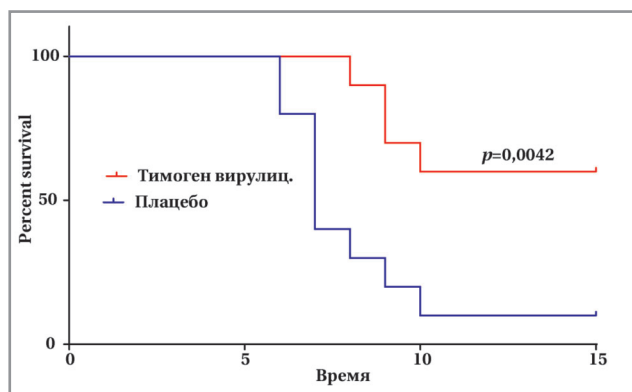


Рис. 2. Влияние препарата Тимоген®, спрей назальный дозированный, на динамику гибели животных в ходе экспериментальной гриппозной пневмонии, вызванной вирусом гриппа A/Puerto Rico/8/34 (H1N1), у белых мышей, в условиях предварительной инкубации вируса с препаратом.

Fig. 2. The effect of the drug Thymogen®, dosed nasal spray, on the dynamics of animal mortality during experimental influenza pneumonia caused by the influenza A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) virus in white mice, under the conditions of preliminary incubation of the virus with the drug.

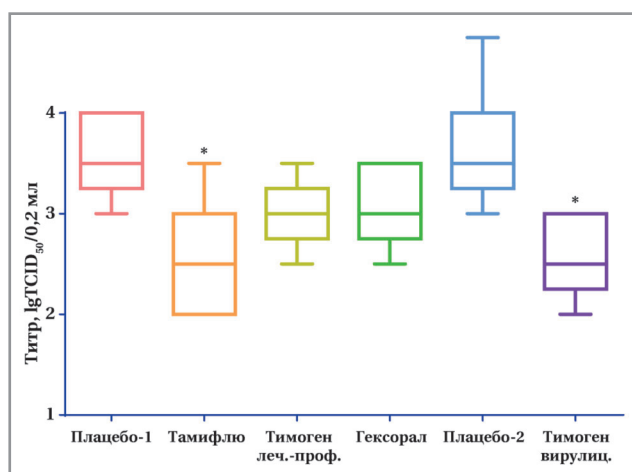


Рис. 4. Инфекционная активность вируса гриппа A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) в ткани лёгких животных на 3-и сутки после инфицирования в условиях применения лекарственных препаратов.

* — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$.

Fig. 4. Infectious activity of influenza A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) virus in animal lung tissue on the 6th day after infection under the drug treatment conditions.

Note. * — $P < 0.05$.

палительной инфильтрации лёгких, повышение степени воздушности ткани и уменьшение периваскулярных и перибронхиальных инфильтратов в лёгких (рис. 9).

Лёгкие животных, получавших интраназально Гексорал®, аэрозоль и препарат Тимоген®, спрей назальный дозированный, визуально были сходны с лёгкими животных из группы отрицательного контроля 1. Как и в контрольной группе, в них отмечались признаки отёка лёгких, сопровождаю-

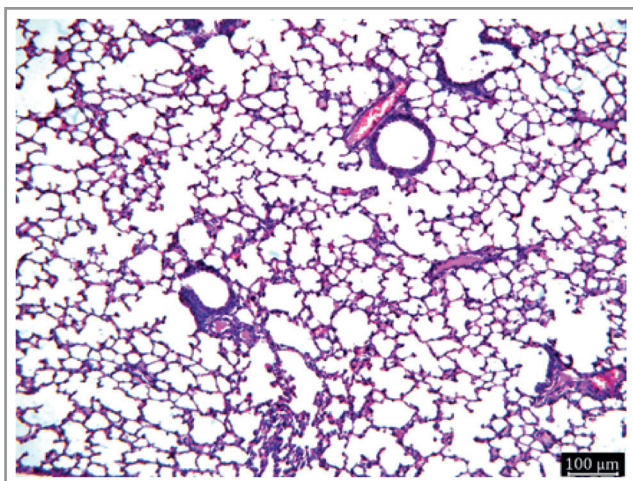


Рис. 5. Структура ткани лёгких intactной мыши.
Гематоксилин-эозин, ув. $\times 100$.

Fig. 5. Structure of the lung tissue of an intact mouse.
Note. Hematoxylin-eosin, magnification $\times 100$.

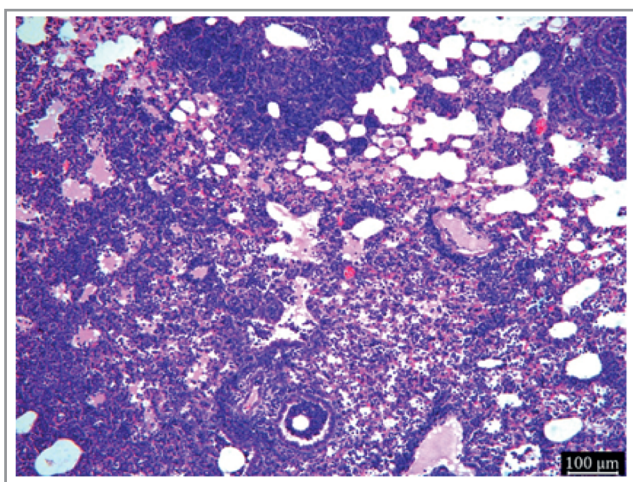


Рис. 6. Лёгкие мышей на 3-и сутки после инфицирования вирусом гриппа.

Отёк и воспалительная инфильтрация интерстиция, серозный экссудат в альвеолах. Гематоксилин-эозин, ув. $\times 100$.

Fig. 6. Lungs of mice on the 3rd day after infection with influenza virus.

Note. Edema and inflammatory infiltration of the interstitium, serous exudate in the alveoli. Hematoxylin-eosin, magnification $\times 100$.

щегося появлением воспалительного экссудата в просветах бронхов, деструкцией бронхиального эпителия, значительным утолщением межальвеолярных перегородок, сокращением воздухообменного объёма альвеол, отёком интерстициальной ткани и формированием очагов воспалительной инфильтрации в лёгких (рис. 10, 11).

На 6-е сутки после заражения в структуре лёгких экспериментальных животных прослеживались те же тенденции, что и на сроке 3 сут. Во всех случаях отмечалась структурная организация очагов воспаления, проявляющаяся регенера-

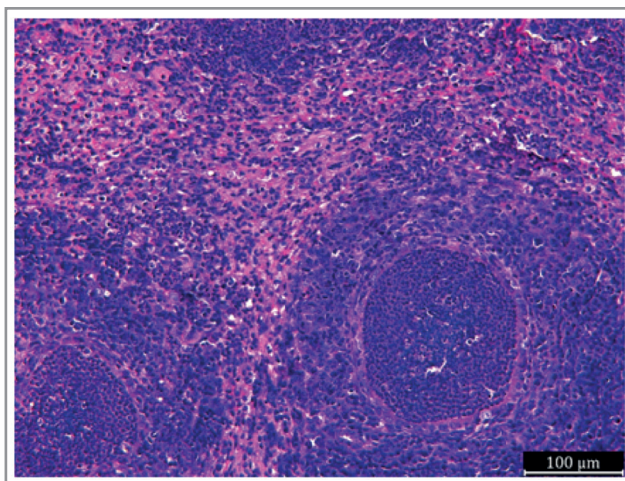


Рис. 7. Очаг карнификации в лёгком мыши на 3-и сутки после инфицирования вирусом гриппа.

Гематоксилин-эозин, ув. $\times 200$.

Fig. 7. Carnification locus in the lung of a mouse on the 3rd day after infection with the influenza virus.

Note. Hematoxylin-eosin, magnification $\times 200$.

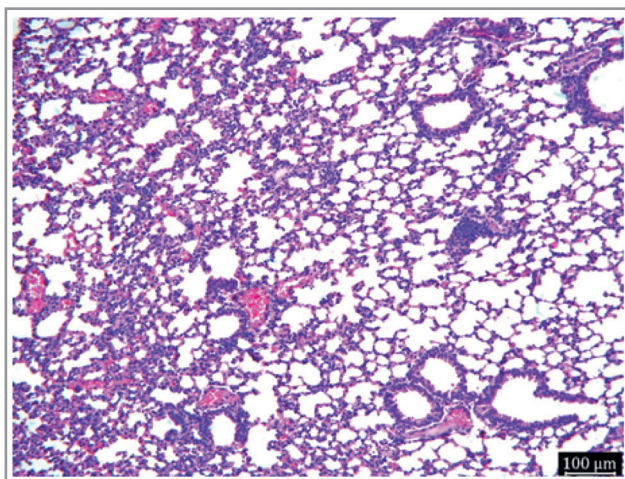


Рис. 8. Лёгкие мышей на 3-и сутки после инфицирования вирусом гриппа A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) в условиях применения Тамифлю®.

Умеренный отёк и воспалительная инфильтрация интерстиция, незначительные периваскулярные и перибронхиальные инфильтраты. Гематоксилин-эозин, ув. $\times 100$.

Fig. 8. Lungs of mice on the 3rd day after infection with influenza A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) virus under the conditions of treatment with Tamiflu®.

Note. Moderate edema and inflammatory infiltration of the interstitium, minor perivascular and peribronchial infiltrates. Hematoxylin-eosin, magnification $\times 100$

тивными процессами, выраженной инфильтрацией полиморфноядерными клеточными элементами и чётким отграничением пораженных участков от intactной ткани (рис. 12).

Описанные патологические изменения были выражены в гораздо меньшей степени в группе животных, инфицированных вирусом гриппа A/Puerto Rico/8/34 (H1N1), получавших проти-

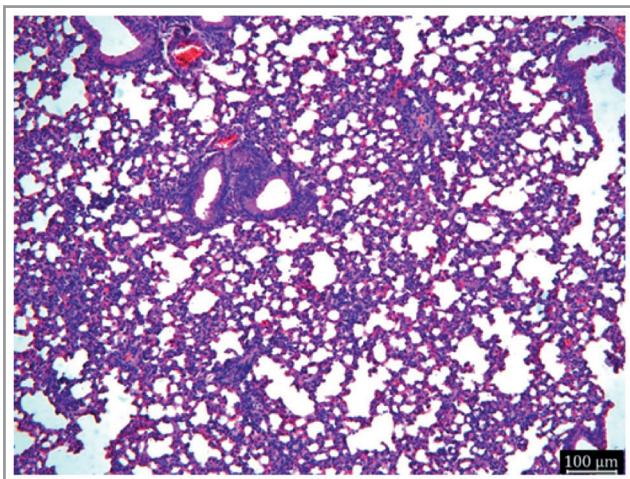


Рис. 9. Лёгкие мышей на 3-и сутки после инфицирования вирусом гриппа A/Puerto Rico/8/34 (H1N1), предварительно инкубированным с препаратом Тимоген®, спрей назальный дозированный.

Умеренный отёк и воспалительная инфильтрация интерстиция, незначительные периваскулярные и перибронхиальные инфильтраты. Гематоксилин-эозин, ув. $\times 100$.

Fig. 9. Lungs of mice on the 3rd day after infection with influenza A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) virus, pre-incubated with Thymogen®, dosed nasal spray.

Note. Moderate edema and inflammatory infiltration of the interstitium, minor perivascular and peribronchial infiltrates. Hematoxylin-eosin, magnification $\times 100$.

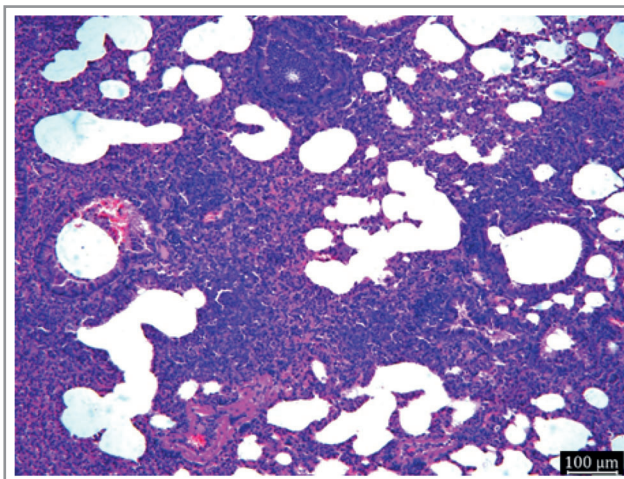


Рис. 11. Лёгкие мыши на 3-и сутки после инфицирования вирусом гриппа в условиях интраназального применения препарата Гексорал®.

Отёк и воспалительная инфильтрация интерстиция, серозный экссудат в альвеолах. Гематоксилин-эозин, ув. $\times 100$.

Fig. 11. Lungs of mice on the 3rd day after infection with influenza virus under the conditions of intranasal use of Hexoral®.

Note. Edema and inflammatory infiltration of the interstitium, serous exudate in the alveoli. Hematoxylin-eosin, magnification $\times 100$.

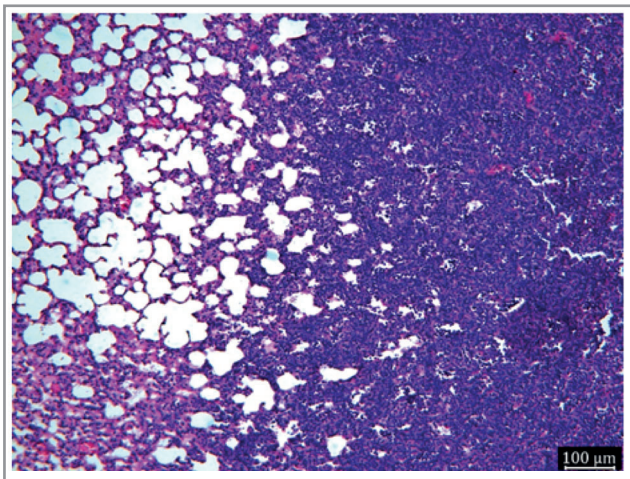


Рис. 10. Лёгкие мышей на 3-и сутки после инфицирования вирусом гриппа в условиях интраназального применения препарата Тимоген®, спрей назальный дозированный.

Отёк и воспалительная инфильтрация интерстиция, серозный экссудат в альвеолах. Гематоксилин-эозин, ув. $\times 100$.

Fig. 10. Lungs of mice on the 3rd day after infection with the influenza virus under the conditions of intranasal use of Thymogen®, dosed nasal spray.

Note. Edema and inflammatory infiltration of the interstitium, serous exudate in the alveoli. Hematoxylin-eosin, magnification $\times 100$.

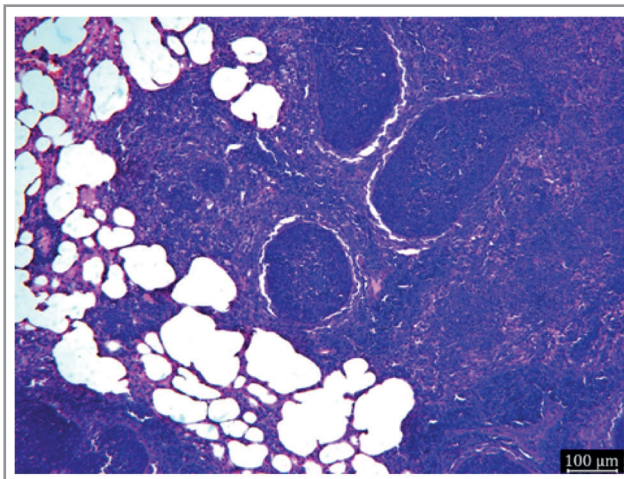


Рис. 12. Лёгкие мышей на 6-е сутки после инфицирования вирусом гриппа.

Отёк и нейтрофильная инфильтрация интерстиция, серозный экссудат в альвеолах. Гематоксилин-эозин, ув. $\times 100$.

Fig. 12. Lungs of mice on the 6th day after infection with influenza virus.

Note. Edema and neutrophilic infiltration of the interstitium, serous exudate in the alveoli. Hematoxylin-eosin, magnification $\times 100$.

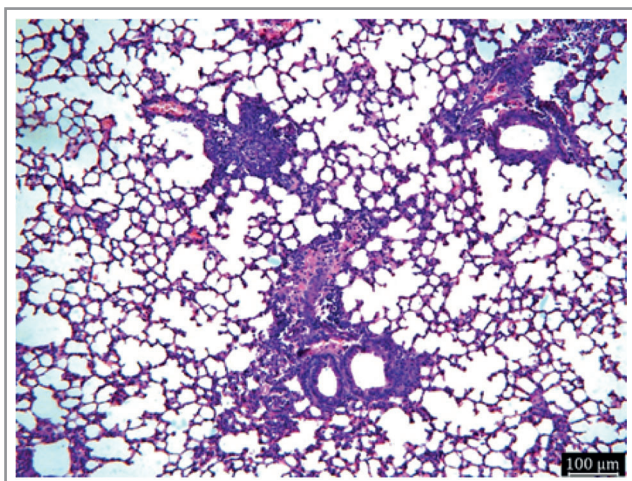


Рис. 13. Лёгкие мыши на 6-е сутки после инфицирования вирусом гриппа A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) в условиях применения Тамифлю®.

Умеренный отёк и воспалительная инфильтрация интерстиция, незначительные периваскулярные и перибронхиальные инфильтраты. Гематоксилин-эозин, ув. $\times 100$.

Fig. 13. Lungs of mice on the 6th day after infection with influenza A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) virus under the conditions of Tamiflu® use.

Note. Moderate edema and inflammatory infiltration of the interstitium, minor perivascular and peribronchial infiltrates. Hematoxylin-eosin, magnification $\times 100$.

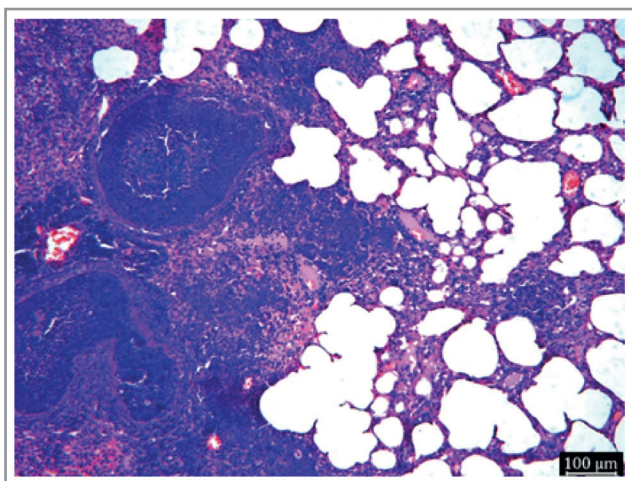


Рис. 14. Лёгкие мышей на 6-е сутки после инфицирования вирусом гриппа в условиях интраназального применения препарата Тимоген®, спрей назальный дозированный.

Отёк и воспалительная инфильтрация интерстиция, клеточный дебрис и нейтрофильный экссудат в просветах бронхов. Гематоксилин-эозин, ув. $\times 100$.

Fig. 14. Lungs of mice on the 6th day after infection with the influenza virus under the conditions of intranasal use of the drug Thymogen®, dosed nasal spray.

Note. Edema and inflammatory infiltration of the interstitium, cellular debris and neutrophilic exudate in the lumens of the bronchi. Hematoxylin-eosin, magnification $\times 100$.

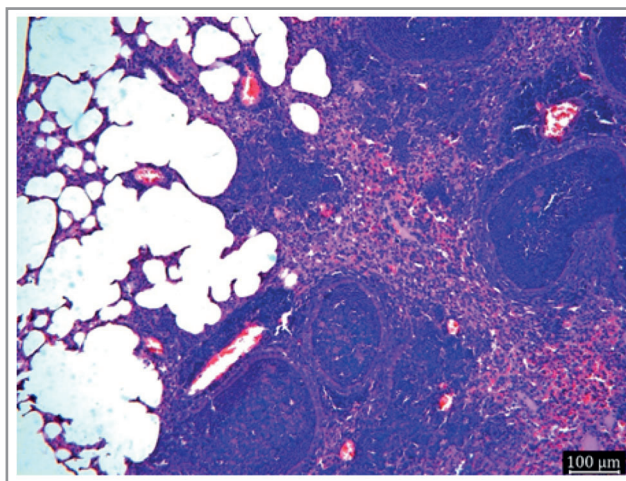


Рис. 15. Лёгкие мыши на 6-е сутки после инфицирования вирусом гриппа в условиях интраназального применения препарата Гексорал®.

Отёк и воспалительная инфильтрация интерстиция, обильный клеточный дебрис и нейтрофильный экссудат в просветах бронхов. Гематоксилин-эозин, ув. $\times 100$.

Fig. 15. Lungs of mice on the 6th day after infection with influenza virus under the conditions of intranasal use of Hexoral®.

Note. Edema and inflammatory infiltration of the interstitium, abundant cellular debris and neutrophilic exudate in the lumens of the bronchi. Hematoxylin-eosin, magnification $\times 100$.

вогриппозный препарат Тамифлю®, а также в группе животных, инфицированных вирусом гриппа A/Puerto Rico/8/34, предварительно инкубированным с препаратом Тимоген®, спрей назальный дозированный. Отмечалось существенное снижение степени экссудативных и инфильтративных процессов в ткани, уменьшение толщины межальвеолярных перегородок и повышение объёма воздухообменной зоны в респираторных отделах (рис. 13).

Лёгкие животных, получавших интраназально Гексорал® аэрозоль и препарат Тимоген®, спрей назальный дозированный, визуально были сходны с лёгкими животных из группы отрицательного контроля. Как и в контрольной группе, в них отмечались признаки отёка лёгких, сопровождающегося присутствием обильного воспалительного экссудата в просветах бронхов, значительным утолщением межальвеолярных перегородок, сокращением воздухообменного объёма альвеол, отёком интерстициальной ткани и формированием очагов воспалительной инфильтрации в лёгких (рис. 14, 15).

Количественная оценка степени отёка лёгких при помощи морфометрического анализа. Для количественной оценки степени отёка лёгких гистологические срезы были подвергнуты морфометрическому анализу при помощи программы анализа изображений ImageJ (НИН, США). В качестве оцениваемого параметра использовали долю площади среза, занятую клеточными элементами, что

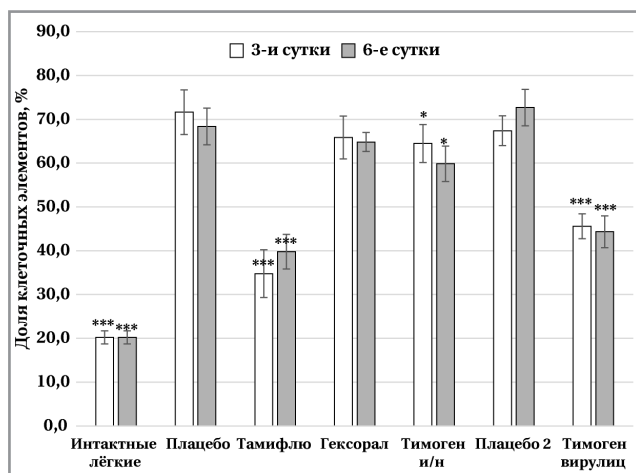


Рис. 16. Протективная активность лекарственных препаратов на модели гриппозной пневмонии у белых мышей.

* — $p < 0,05$; *** — $p < 0,0001$ при сравнении с группой плацебо.

Fig. 16. Protective activity of drugs in a model of influenza pneumonia in white mice.

Note. * — $P < 0.05$; *** — $P < 0.0001$ when compared with the placebo group.

коррелирует с тяжестью процесса. Результаты морфометрического анализа суммированы в табл. 3 и для наглядности представлены на рис. 16.

Как видно из представленных результатов, репликация вируса гриппа в лёгких лабораторных животных в условиях интраназального применения препаратов приводила к достоверному снижению воздухообменного пространства в лёгких

с 79,8 до 28,4 и 31,6% на 3-и и 6-е сутки, соответственно ($p < 0,0001$ для обоих сроков). В группах, где препараты не вводили животным интраназально (группы 3, 5 и 6) воздухообменный объём лёгких сокращался с 79,8 до 32,6 и 27,3% на 3-и и 6-е сутки, соответственно ($p < 0,0001$ на обоих сроках). Применение препарата сравнения Тамифлю® приводило к достоверному повышению этого показателя до 65,2 и 60,2%, на 3-и и 6-е сутки, соответственно ($p < 0,0001$ для обоих сроков).

Изучаемые препараты также в некоторой степени снижали степень отёка и воспалительной клеточной инфильтрации ткани лёгких. В наибольшей степени это было выражено в группе животных, инфицированных вирусом, предварительно инкубированным с препаратом Тимоген®, спрей назальный дозированный. В этой группе воздушность ткани лёгких повышалась с 32,6 до 54,4% и с 27,3 до 55,7% на 3-и и 6-е сутки, соответственно ($p < 0,0001$ для обоих сроков).

Интраназальное применение препарата Тимоген®, спрей назальный дозированный, приводило к статистически достоверному снижению степени отёка лёгких при гриппозной инфекции. В этой группе воздушность ткани лёгких повышалась с 28,4 до 35,5% и с 31,6 до 40,1% на 3-и и 6-е сутки, соответственно ($p = 0,0453$ и $0,0114$, соответственно). В то же время интраназальное использование препарата сравнения Гексорал® не приводило к статистически значимым изменениям морфометрических показателей гриппозной пневмонии.

Таблица 3. Степень отёка и клеточной инфильтрации лёгких белых мышей при инфицировании вирусом гриппа A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) в условиях применения противовирусных препаратов

Table 3. The degree of edema and cellular infiltration of the lungs of white mice during infection with the influenza A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) virus under the conditions of treatment with antiviral drugs

Препарат	3-и сутки			6-е сутки		
	Доля клеточных элементов, %	Доля свободного пространства лёгких, %	p (KB)*	Доля клеточных элементов, %	Доля свободного пространства лёгких, %	p (KB)*
Интактные животные	20,2±1,5	79,8±1,5	<0,0001	20,2±1,5	79,8±1,5	<0,0001
Группа 1						
Отрицательный контроль	71,6±5,1	28,4±5,1	1,0000	68,4±4,2	31,6±4,2	1,0000
Группа 2						
Тамифлю	34,8±5,4	65,2±5,4	<0,0001	39,8±4,0	60,2±4,0	<0,0001
Группа 3						
Тимоген (леч./проф.)	64,5±4,3	35,5±4,3	0,0453	59,9±4,0	40,1±4,0	0,0114
Группа 4						
Гексорал	65,9±4,9	34,1±4,9	0,1062	64,8±2,2	35,2±2,2	0,1428
Группа 5						
Отрицательный контроль-2	67,4±3,4	32,6±3,4	1,0000	72,7±4,2	27,3±4,2	1,0000
Группа 6						
Тимоген (вирулицид.)	45,6±2,9	54,4±2,9	<0,0001	44,3±3,6	55,7±3,6	<0,0001

Примечание. KB — контроль вируса; * — значение p при сравнении при помощи критерия Стьюдента с группой плацебо (группа 2) для групп интактных животных, групп 3 и 4. Значение p при сравнении при помощи критерия Стьюдента с группой плацебо-2 для групп 2 и 6.

Note. KB — virus control; * — P value of groups of intact animals, groups 3 and 4, when compared with the placebo group (group 2) using Student's t -test. P value of groups 2 and 6 when compared with placebo-2 group using Student's t -test.

Обсуждение

В настоящем исследовании показано протективное действие препарата Тимоген®, спрей назальный дозированный, при гриппозной инфекции в экспериментах *in vivo*. Применение препарата по лечебно-профилактической схеме снижало специфическую смертность животных. Индекс защиты в этом случае составил 44%. Предварительная инкубация вируса с препаратом также приводила к снижению смертности животных по сравнению с соответствующей группой отрицательного контроля (индекс защиты 56%). В этой группе животных вирусная нагрузка в лёгких была ниже на 1,5 и 1,2 порядка по сравнению с группой отрицательного контроля (3-и и 6-е сутки опыта, соответственно), что соответствует снижению интенсивности вирусной репродукции в 31,6 и 15,8 раз. Отмечалась также нормализация морфологической структуры ткани лёгких и снижение степени воспалительной инфильтрации и отёка, что подтверждалось данными морфометрического анализа.

Таким образом, комплексное воздействие на звенья патогенеза гриппозной инфекции [9–11] позволяет рассматривать Тимоген®, спрей назальный дозированный, как перспективный препарат для профилактики и контроля гриппозной инфекции при местном применении.

Литература/References

1. Viasus D., Revuelta J.A.O., Martinez-Montauti J., Carratala J. Influenza A(H1N1)pdm09-related pneumonia and other complications. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2012; 4: 43–48. doi: 10.1016/S0213-005X(12)70104-0.
2. Philippon D.A.M., Wu P., Cowling B.J., Lau E.H.Y. Avian Influenza Human Infections at the Human-Animal Interface. *J Infect Dis*. 2020; 222 (4): 528–537. doi: 10.1093/infdis/jiaa105.
3. Bright R.A., Shay D.K., Shu B., Cox N.J., Klimov A.I. Adamantane resistance among influenza A viruses isolated early during the 2005–2006 influenza season in the United States. *JAMA*. 2006; 295 (8): 891–894. doi: 10.1001/jama.295.8.joc60020.
4. Feng E., Ye D., Li J., Zhang D., Wang J., Zhao E., Hilgenfeld R., Zheng M., Jiang H., Liu H. Recent advances in neuraminidase inhibitor development as anti-influenza drugs. *ChemMedChem*. 2012; 7 (9): 1527–1536. doi: 10.1002/cmdc.201200155.
5. Scott L.J. Peramivir: A review in uncomplicated influenza. *Drugs*. 2018; 78 (13): 1363–1370. doi: 10.1007/s40265-018-0981-8.
6. Kashiwagi S., Yoshida S., Yamaguchi H., Niwa S., Mitsui N., Tanigawa M., Shiosakai K., Yamanouchi N., Shiozawa T., Yamaguchi F. Safety of the long-acting neuraminidase inhibitor laninamivir octanoate hydrate in post-marketing surveillance. *Int J Antimicrob Agents*. 2012; 40 (5): 381–388. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2012.06.017.
7. Hayden F.G., Sugaya N., Hirotsu N., Lee N., de Jong M.D., Hurt A.C., Ishida T., Sekino H., Yamada K., Portsmouth S. et al. Baloxavir marboxil

Информация об авторах

Зарубаев Владимир Викторович — д. б. н., заведующий лабораторией экспериментальной вирусологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия. ORCID ID: 0000-0002-5224-3771. Researcher ID: H-1534-2018. eLIBRARY SPIN-код: 7030-1541. Scopus Author ID: 6602439930

Гаршинина Анжелика Валерьевна — старший научный сотрудник лаборатории экспериментальной вирусологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия. Researcher ID: 36469952700. eLIBRARY SPIN-код: 9992-1424. AuthorID: 1001224. Scopus AuthorID: 36469952700

Дополнительная информация

Участие авторов. В. В. Зарубаев — дизайн и проведение исследования, написание публикации, статистическая обработка; А. В. Гаршинина — проведение исследования, редактирование публикации; Я. Л. Есаулкова — проведение исследования, редактирование публикации; М. Г. Михальский — проведение исследования, редактирование публикации; В. С. Смирнов — дизайн исследования, редактирование публикации; Т. А. Кудрявцева — дизайн исследования, статистическая обработка, написание публикации; С. В. Петленко — дизайн исследования, редактирование публикации; В. А. Заплутанов — дизайн исследования, написание публикации.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках научно-исследовательской работы в ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» (г. Санкт-Петербург, РФ) по заказу и финансовой поддержке АО «Медико-биологический научно-производственный комплекс «Цитомед» (г. Санкт-Петербург, РФ).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

- for uncomplicated influenza in adults and adolescents. *N Engl J Med*. 2018; 379 (10): 913–923. doi: 10.1056/NEJMoa1716197.
8. Blaising J., Polyak S.J., Pecheur E.I. Arbidol as a broad-spectrum antiviral: an update. *Antiviral Res*. 2014; 107: 84–94. doi: 10.1016/j.antiviral.2014.04.006.
9. Зарубаев В.В., Смирнов В.С., Кудрявцева Т.А., Петленко С.В., Слута А.В., Мин Х., Заплутанов В.А. Изучение механизма противовирусной активности препарата Цитовир®-3 в отношении респираторных вирусов *in vitro*. Антибиотики и химиотер. 2023; 68 (3–4): 4–10. doi: https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-3-4-4-10. [Zarubaev V. V., Smirnov V. S., Kudryavtseva T. A., Petlenko S. V., Slita A. V., Minh H., Zaplutanov V. A. Study of the mechanism of antiviral activity of Cytovir-3 against respiratory viruses *in vitro*. Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy. doi: https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-3-4-4-10. (in Russian)]
10. Smeets D.E., von Itzstein M., Bhatt B., Tarbet E.B. Exacerbation of influenza virus infections in mice by intranasal treatments and implications for evaluation of antiviral drugs. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012; 56 (12): 6328–6333. doi: 10.1128/AAC.01664-12.
11. Golovacheva E.G., Starikova E.A., Kudryavtseva T.A., Apryatina V.A. The effect of drugs with α -glutamyl-tryptophan for cytokine secretion and level of surface molecule icam-1 *in vitro*. *Cell tissue biol*. 2023; 17 (2): 146–152. doi: 10.1134/S1990519X23020050.

About the authors

Vladimir V. Zarubaev — D. Sc. in Biology, Head of the Laboratory of Experimental Virology, Saint-Petersburg Pasteur Institute, Saint-Petersburg, Russia ORCID ID: 0000-0002-5224-3771. Researcher ID: H-1534-2018. eLIBRARY SPIN-код: 7030-1541. Scopus Author ID: 6602439930

Anzhelika V. Garshinina — Senior Researcher at the Laboratory of Experimental Virology, Saint-Petersburg Pasteur Institute, Saint-Petersburg, Russia. Researcher ID: 36469952700. eLIBRARY SPIN-код: 9992-1424. AuthorID: 1001224. Scopus AuthorID: 36469952700

Есаулкова Яна Леонидовна — младший научный сотрудник лаборатории экспериментальной вирусологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия. ORCID ID: 0000-0002-3645-8342. Researcher ID: ABC-8028-2020. eLIBRARY SPIN-код: 6725-9435. AuthorID: 1097313. Scopus AuthorID: 57201794409

Михальский Михаил Геннадьевич — студент I курса магистратуры СПбГУ по направлению биология; препаратор лаборатории экспериментальной вирусологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия. ORCID ID: 0009-0009-1784-2611. Researcher ID: JMQ-7401-2023

Смирнов Вячеслав Сергеевич — д. м. н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия. ORCID ID: 0000-0002-2723-1496. Researcher ID: T-9205-2017. eLIBRARY SPIN-код: 6276-2918. Scopus Author ID: 5719865301

Кудрявцева Татьяна Анатольевна — к. б. н., научный сотрудник лаборатории нанотехнологии и синтеза лекарственных веществ отдела нейрофармакологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия. ORCID ID: 0000-0003-4997-9830. Researcher ID: HLH-6614-2023. eLIBRARY SPIN-код: 6902-3750. Scopus Author ID: 57222550468

Петленко Сергей Викторович — д. м. н., ведущий научный сотрудник лаборатории биохимической токсикологии и фармакологии ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии им. академика С. Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства» Санкт-Петербург, Россия. ORCID ID: 0000-0002-2752-4598. Researcher ID: ABC-6263-2022. eLIBRARY SPIN-код: 407034. Scopus Author ID: 6508391789

Заплутанов Василий Андреевич — научный сотрудник лаборатории пептидов, Автономная некоммерческая организация научно-исследовательский центр «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии», Санкт-Петербург, Россия. ORCID ID: 0000-0001-5294-6533. Researcher ID: F-1215-2015. eLIBRARY SPIN-код: 6067-5480. Scopus Author ID: 55312771400

Yana L. Esaulkova — Junior Researcher at the Laboratory of Experimental Virology, Saint-Petersburg Pasteur Institute, Saint-Petersburg, Russia. ORCID ID: 0000-0002-3645-8342. Researcher ID: ABC-8028-2020. eLIBRARY SPIN-код: 6725-9435. AuthorID: 1097313. Scopus AuthorID: 57201794409

Mikhail G. Mihalskij — first-year master's student, preparator at the Laboratory of Experimental Virology, Saint-Petersburg Pasteur Institute, Saint-Petersburg, Russia. ORCID ID: 0009-0009-1784-2611. Researcher ID: JMQ-7401-2023

Vyacheslav S. Smirnov — D. Sc. in Medicine, Professor, Leading Researcher at the Laboratory of Molecular Immunology, Saint-Petersburg Pasteur Institute, Saint-Petersburg, Russia. ORCID ID: 0000-0002-2723-1496. Researcher ID: T-9205-2017. eLIBRARY SPIN-код: 6276-2918. Scopus Author ID: 5719865301

Tatiana A. Kudryavtseva — Ph. D. in Biology, research scientist, researcher at the Laboratory of Nanotechnology and Synthesis of Medicinal Substances, Department of Neuropharmacology, Institute of Experimental Medicine, Saint-Petersburg, Russia. ORCID ID: 0000-0003-4997-9830. Researcher ID: HLH-6614-2023. eLIBRARY SPIN-код: 6902-3750. Scopus Author ID: 57222550468

Sergey V. Petlenko — D. Sc. in Medicine, Leading Researcher at the Laboratory of Biochemical Toxicology and Pharmacology, Scientific and Clinical Center of Toxicology named after Academician S. N. Golikov of the Federal Medical and Biological Agency, Saint-Petersburg, Russia. ORCID ID: 0000-0002-2752-4598. Researcher ID: ABC-6263-2022. eLIBRARY SPIN-код: 407034. Scopus Author ID: 6508391789

Vasiliy A. Zaplutanov — Senior Researcher at the Laboratory of Pharmacology of Peptides, Saint-Petersburg Institute of bioregulation and gerontology, Saint-Petersburg, Russia. ORCID ID: 0000-0001-5294-6533. Researcher ID: F-1215-2015. eLIBRARY SPIN-код: 6067-5480. Scopus Author ID: 55312771400