

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 615.281.8.03:616.98:578.825.11 + 578.828.6] = 092:612.017.1.064

Мальдов Д.Г.¹, Андропова В.Л.², Калнина Л.Б.², Ильичев А.В.¹, Носик Д.Н.², Галегов Г.А.²

ДЕЙСТВИЕ ПРЕПАРАТА СТИМФОРТЕ НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНУЮ ГЕРПЕСВИРУСНУЮ ИНФЕКЦИЮ СОВМЕСТНО С АЦИКЛОВИРОМ И ВИЧ-ИНФЕКЦИЮ СОВМЕСТНО С РЕТРОВИРОМ

¹ЗАО «СКАЙ ЛТД», 129301, г. Москва;²Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва

При изучении сочетанного действия иммуностимулирующего препарата Стимфорте с базовым, широко применяемым для лечения герпесвирусных инфекций этиотропным химиопрепаратом Ацикловир, на модели экспериментальной летальной инфекции мышей BALB/c, инфицированных вирусом простого герпеса (ВПГ) 1-го типа, было установлено, что взаимодействие этих лекарств носит аддитивный характер. Показано также, что стимфорте подавляет инфекцию, вызванную штаммом вируса, глубоко резистентного к ацикловиру. Установлена достоверная антиретровирусная активность стимфорте при введении за 24 ч до заражения лимфобластоидных клеток человека MT-4 ВИЧ-1, максимально выраженная на ранних сроках инфекции (3 сут). На 6-е сутки наблюдения эффект практически полностью утрачивался. При комбинированном применении стимфорте в дозе 50—100 мкг/мл с субпороговыми дозами ретровируса (0,03 мкг/мл) обнаружен синергидный противовирусный эффект. Таким образом, препарат Стимфорте, обладающий, с одной стороны, противовирусной активностью в отношении вирусов разных семейств, а с другой — иммуномодулирующими свойствами, может быть перспективен как этиопатогенетическое средство, способствующее нормализации как неспецифического, так и специфического иммунитета, одновременно с этиотропными противовирусными химиопрепаратами в составе комплексной терапии генерализованной герпетической инфекции в условиях иммунодефицита. Возможно также использование стимфорте в случае развития лекарственной резистентности у ВПГ, в том числе у ВИЧ-инфицированных пациентов.

Ключевые слова: *Стимфорте; иммуностимулятор; вирус простого герпеса; ацикловир; вирус иммунодефицита человека; ретровир; антивирусная активность.*

Для цитирования: Мальдов Д.Г., Андропова В.Л., Калнина Л.Б., Ильичев А.В., Носик Д.Н., Галегов Г.А. Действие препарата Стимфорте на экспериментальную герпесвирусную инфекцию совместно с ацикловиром и ВИЧ-инфекцию совместно с ретровирусом. *Вопросы вирусологии.* 2017; 62(5): 211-218.

DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2017-62-5-211-218>

Maldov D.G.¹, Andronova V.L.², Kalnina L.B.², Ilyichev A.V.¹, Nosik D.N.², Galegov G.A.²

INFLUENCE OF IMMUNOMODULATORY DRUG STIMFORTE ON THE EXPERIMENTAL HERPES VIRUS INFECTION IN COMBINATION WITH ACYCLOVIR AND ON HIV-INFECTION IN COMBINATION WITH RETROVIR

¹ZAO SKY LTD, Moscow, 129301, Russian Federation;²D.I. Ivanovsky Institute of Virology «Federal Research Center of Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya», Moscow, 123098, Russian Federation

The combined action of the immunostimulatory drug Stimforte and the basic etiotropic drug acyclovir commonly used to treat herpes infections was studied using the model of lethal experimental infection of mice BALB/c with herpes simplex virus type 1. It was found that the interaction of these drugs is additive. In addition, Stimforte inhibits infection caused by a strain of virus, which is highly resistant to acyclovir.

When administered 24 hours prior to HIV-1 infection of human lymphoblastoid cells MT-4, Stimforte exhibited reliable antiretroviral activity best expressed during the early period of infection (the 3rd day). On the 6th day of observation the effect was almost completely lost. Combined use of Stimforte at a dose of 50-100 µg/ml with a subthreshold dose of retrovir (0.03 µg/ml) had a synergistic antiviral effect.

Thus, Stimforte, which exhibits, on the one hand, antiviral activity against viruses of different families and, on the other hand, the immunomodulatory properties, could be promising as an etiopathogenic tool in helping to normalize both nonspecific and specific immunity. It may be used simultaneously with etiotropic antiviral chemotherapy in treatment of generalized herpes infection in patients with immunodeficiency. Furthermore, Stimforte can be used in the case of development of drug resistance in HSV, in particular, in HIV-infected patients.

Keywords: *Stimforte; herpes simplex virus; immunostimulant; acyclovir; human immunodeficiency virus; retrovir; antiviral action.*

Для корреспонденции: Мальдов Дмитрий Григорьевич, канд. биол. наук, зав. лабораторией фармакологии ЗАО «СКАЙ ЛТД», 129301, г. Москва. E-mail: maldov-dg@yandex.ru

For citation: Maldov D.G., Andronova V.L., Kalnina L.B., Ilyichev A.V., Nosik D.N., Galegov G.A. Influence of immunomodulatory drug Stimforte on the experimental herpes virus infection in combination with acyclovir and on HIV-infection in combination with retrovir. *Voprosy Virusologii (Problems of Virology, Russian journal)*. 2017; 62(5): 211-218. (In Russ.).

DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2017-62-5-211-218>

For correspondence: Dmitriy G. Maldov, Ph.D., Head of the Laboratory of Pharmacology, ZAO SKY LTD, Moscow, 129301, Russian Federation. E-mail: maldov-dg@yandex.ru

Information about authors:

Maldov D.G., <http://orcid.org/0000-0002-8214-0538>;

Kalnina L.B., <http://orcid.org/0000-0002-2702-8578>;

Nosik D.N., <http://orcid.org/0000-0001-5757-5671>;

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

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

Contribution. All authors contributed equally to this work.

Received 14 February 2017

Accepted 25 April 2017

Andronova V.L., <http://orcid.org/0000-0002-2467-0288>;

Ilyichev A.V., <http://orcid.org/0000-0003-4675-0766>;

Galegov G.A., <http://orcid.org/0000-0001-6162-1650>

Введение

Вирус простого герпеса (ВПГ) является одним из самых распространенных патогенов человека. В соответствии с последними данными ВОЗ ВПГ 1-го типа (ВПГ-1) инфицированы более 3,7 млрд человек в возрасте до 50 лет (67% населения), более 530 млн человек имеют ВПГ 2-го типа [1, 2]. ВПГ высококонтагиозен, после первичного инфицирования обеспечивает пожизненную латентную инфекцию с периодическим рецидивированием, способен поражать практически все органы и ткани человека. Основными заболеваниями, ассоциированными с ВПГ-1/2, являются лабиальный герпес, герпес кожи и слизистых оболочек, в том числе генитальный герпес, неонатальный герпес, офтальмогерпес.

Постепенное разрушение иммунной системы организма вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) приводит к развитию синдрома приобретенного иммунодефицита (СПИД) и повышает риск развития оппортунистических инфекций (ОИ), так как возможность возникновения рецидивов ОИ и их частота в значительной степени определяются иммунным статусом организма. Герпетические инфекции (ГИ) относят к наиболее распространенным ВИЧ/СПИД-ассоциированным ОИ. Около 95% пациентов с ВИЧ/СПИД-инфекцией имеют антитела к ВПГ-1 и/или ВПГ-2. В последние годы роль ГИ возросла в связи с эпидемическим подъемом заболеваемости ВИЧ-инфекцией: по оценкам ВОЗ и ЮНЭЙДС, к середине 2016 г. общее число ВИЧ-инфицированных во всем мире достигло 36,7 млн и продолжает увеличиваться [3], а также возросла доля больных с поздними стадиями ВИЧ-инфекции (4Б, 4В, 5), сопровождающимися развитием тяжелых форм ОИ, в том числе ГИ [4]. У пациентов с иммунодефицитом ВИЧ-этиологии (при уровне CD4⁺-лимфоцитов менее 200 в 1 мкл) реактивация герпесвирусов из латентного состояния происходит значительно чаще; ГИ, как правило, характеризуются тяжелым клиническим течением, поражения более обширные (зостериформный простой герпес, герпетическая экзема Капоши, язвенно-некротическая форма), дольше заживляющиеся; возможно развитие генерализованной формы ГИ с поражением внутренних органов (эзофагит, пневмония, гепатит, поперечный миелит, некротическая миелопатия), ЦНС (менингит, энцефалит) и диссеминированных инфекций, которые могут стать непосредственной причиной смерти больных СПИДом [4, 5]. Для современного здравоохранения повышается значимость поиска способов оптимизации путей воздействия на ГИ прежде всего у лиц с иммунодефицитными состояниями.

Этиотропные противовирусные препараты Аци-

кловир (АЦВ), Валацикловир (препарат АЦВ) и Фамцикловир, относящиеся к классу модифицированных нуклеозидов, являются препаратами выбора (препаратами первого ряда) для лечения и профилактики ВПГ-инфекций, в том числе у ВИЧ-инфицированных пациентов в стадии СПИДа [5, 6]. Однако феномен развития лекарственной устойчивости ВПГ к этой группе ингибиторов, особенно на фоне выраженного иммунодефицита, может существенно снизить эффективность проводимых химиотерапевтических мероприятий. Частота выделения таких изолятов у лиц со сниженным иммунным статусом достаточно велика. Так, у ВИЧ-инфицированных пациентов резистентность ВПГ к АЦВ отмечается в 5—7% случаев [7].

Ранее на модели летальной ГИ мышей BALB/c нами было показано, что препарат Стимфорте (лиофилизированный порошок водной вытяжки из органов и тканей ушей, оказывающий иммуностимулирующее действие; разработан в ЗАО «СКАЙ ЛТД») ингибирует репродукцию ВПГ-1 в головном мозге и снижает смертность инфицированных животных. Была установлена способность стимфорте влиять на течение хронической ГИ морских свинок [8]. Препарат показал хорошие результаты в клинических испытаниях при использовании в составе комбинированной терапии рецидивирующей ГИ [9] и в настоящее время рекомендован к использованию при вторичных иммунодефицитных состояниях, вызванных острыми и хроническими бактериальными и вирусными инфекциями (в стадии обострения и ремиссии), в том числе генитального герпеса (регистрационный номер ЛСР-005240/08, производитель — Опытное биотехнологическое производство Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН).

В настоящем исследовании проведено изучение эффекта препарата Стимфорте в комбинации с АЦВ (на модели экспериментальной летальной ГИ мышей) и ретровирусом (на модели ВИЧ-инфекции *in vitro*) с целью оценки перспективности его использования для лечения ГИ в составе комплексной терапии, в том числе у ВИЧ-инфицированных пациентов.

Материал и методы

Препараты. В работе использовали препарат Стимфорте (ЗАО «СКАЙ ЛТД»), полученный на Опытном биотехнологическом производстве Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, ацикловир (АЦВ, зовиракс, ациклогуанозин, 9-[(2-гидрокси-этокси)метил]гуанин) про-

изводства компании «Wellcome Foundation Ltd.» (Великобритания) и ретровир (зидовудин, азидотимидин, 3'-азидо-3'-дезокситимидин; АЗТ) производства компании «Glaxo Operations UK, Limited» (Великобритания).

Вирусы и клетки. В работе использовали культуру клеток почек зеленой марышки Vero E6 (ростовая питательная среда: среда Игла (производства ФГБУ «НИИ полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова»), соединенная с эмбриональной сывороткой телят (ЭТС, 5%) производства «ПанЭко» (Россия) с добавлением бензилпенициллина 100 ЕД/мл). Клетки инкубировали при 37°C в атмосфере с 5% CO₂ в течение 24 ч. Полученную монослойную культуру клеток использовали для работ с ВПГ.

Перевиваемые лимфобластоидные клетки человека МТ-4 и лейкоциты периферической крови доноров культивировали в концентрации 3,0—5,0 • 10⁶ клеток в 1 мл среды RPMI 1640 (производство ФГБУ «НИИ полиомиелита и вирусных энцефалитов») с 10% ЭТС (производство ФГБУ «НИИ полиомиелита и вирусных энцефалитов»), 100 мкг/мл гентамицина («Фармахим», Болгария). Жизнеспособность клеток определяли окраской 0,4% раствором трипанового синего («Сигма», США).

Эталонный штамм ВПГ-1 L₂ (ВПГ-1/L₂(ТК⁺)) получен из Государственной коллекции вирусов Института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России. Штамм ВПГ-1/L₂/R^{АЦВ} (ТК⁻), резистентный к действию АЦВ, получен нами путем серийного пассирования ВПГ-1/L₂(ТК⁺) в градиенте концентраций АЦВ с последующим трехкратным клонированием [10]. Свойства и механизм формирования резистентности к АЦВ варианта ВПГ-1/L₂/R^{АЦВ}(ТК⁻) были подробно изучены и описаны в ряде наших публикаций [11, 12].

ВИЧ 1-го типа (ВИЧ-1) штамма ВИЧ-1_{BRU} из коллекции штаммов вирусов иммунодефицита человека Института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России инкубировали в культуре лимфобластоидных Т-клеток. Инкубацию инфицированных клеток проводили при 37°C в атмосфере с 5% CO₂ и 98% влажности 5—7 дней. Учет результатов: световая микроскопия — исследование цитопатического эффекта вируса (ЦПЭ) и определение уровня антигена ВИЧ в культуральной жидкости методом ИФА, как описано ранее [13].

Животные. В исследовании использовали самцов белых линейных мышей BALB/c массой 12 г, полученных из питомника Научного центра биомедицинских технологий ФМБА России, филиал «Столбовая» (Московская область, Чеховский район, пос. Столбовая). Животные были здоровы, имели ветеринарный сертификат качества и состояния здоровья. Все процедуры выполняли строго в соответствии с требованиями, изложенными в «Правилах проведения работ с использованием экспериментальных животных за № 755 от 12.08.1977». В опытных и контрольных группах было по 15 животных. Инфекционный материал с титром вируса 3,0 • 10⁵ БОЕ/мл (5,48 Ig БОЕ/мл) вводили внутривентрально (в/б). Доза вируса 6,0 • 10⁴ БОЕ/0,2 мл на мышью обеспечивала 50% гибель животных в контроле.

Схема введения препаратов инфицированным животным. Препараты перед употреблением растворяли в стерильном физиологическом растворе и вводили животным в/б в объеме 0,2 мл. Разовая доза стимуфорте составляла 100 мг/мышью, препарат вводили двукратно

— через 24 ч после заражения животных, затем вторично через 48 ч. Курсовая доза препарата была равна 200 мг/мышью. АЦВ вводили в разовой дозе 25 мг/кг (0,3 мг/мышью) 2 раза в день в течение 5 дней (первое введение через 2 ч после инфицирования). Курсовая доза препарата составляла, таким образом, 3 мг/мышью. При изучении комбинации АЦВ со стимуфорте (2-й и 2-й дни инфекции) последний вводили через 1 ч после введения АЦВ. Схема введения, разовые и курсовые дозы препаратов не отличались от таковых при проведении монотерапии. Срок наблюдения за животными составлял 21 сут.

Для определения влияния препаратов на репродукцию ВПГ в органном материале по 3 мыши из каждой группы забивали через 4 сут после заражения, органнй материал (головной мозг, легкие) гомогенизировали при 4°C и готовили 10% суспензию в физиологическом растворе. Суспензию центрифугировали при 5000 об/мин в течение 10 мин при 4°C. Полученный таким образом супернатант хранили при -25°C. Инфекционный титр вируса в супернатанте определяли путем титрования в культуре клеток, как описано ниже.

Инфекционный титр ВПГ определяли методом бляшкообразования. Для этого монослойные культуры клеток Vero E6, выращенные в 24-луночных пластиковых планшетах («Costar», США), заражали 10-кратными разведениями вируса. Через 1 ч клеточный монослой отмывали от неадсорбированного вируса физиологическим раствором, вносили среду покрытия по 2 мл/луночку и инкубировали при 37°C в атмосфере 5% CO₂. Среда покрытия состояла из среды Игла и 199 (производство НИИ полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова), соединенных в соотношении 1:1, 5% ЭТС, 0,4% агарозы («Сигма», США). Через 48 ч среду покрытия удаляли, инфицированные культуры фиксировали 10% нейтральным формалином, окрашивали 0,5% раствором генианового фиолетового и подсчитывали бляшки [14].

Результаты

При изучении эффективности препаратов Стимуфорте, АЦВ и их комбинации на модели летальной ГИ мышей, инфицированных эталонным вирусом ВПГ-1/L₂(ТК⁺), параметрами защитной активности соединений служили показатели снижения смертности инфицированных животных и увеличения средней продолжительности жизни (СПЖ) в опытных группах, получавших препараты, по сравнению с контрольной инфицированной, но не леченой группой животных. О противовирусной активности препаратов судили также по снижению величины инфекционного титра вируса в органном материале, полученном от животных, опытной группы по сравнению с контрольной группой. Результаты приведены в табл. 1.

Смертность в контрольной группе животных, зараженных ВПГ-1, по результатам двух независимых опытов составила 54,5% (12/22), СПЖ — 11,82 сут. Показатели смертности в опытных группах животных, получавших стимуфорте или АЦВ, в обоих случаях были снижены на 21,2%, а СПЖ увеличена на 4,01 и 4,18 сут соответственно.

При использовании комбинации препаратов, сохранив ту же их дозировку и схему введения, что и при использовании по отдельности, удалось существенно оптимизировать их защитный эффект: смертность в группе снизилась в 4 раза, а СПЖ увеличилась почти на 4 сут

Таблица 1

Действие стимфорте и АЦВ на экспериментальную инфекцию ВПГ-1 у мышей BALB/c

Препарат	Смертность		Защита, %	Средняя продолжительность жизни, сут	Инфекционный титр вируса в органном материале (на 4-е сутки после заражения), Ig	
	A/B*	%			головной мозг	легкие
Стимфорте 100 мкг/мышь	8/24	33,3	21,2	15,83 ± 2,21	2,44 ± 0,07	1,27 ± 0,13
АЦВ 25 мг/кг	8/24	33,3	21,2	16,00 ± 2,14	2,43 ± 0,09	1,10 ± 0,05
Стимфорте + АЦВ 100 мкг/мышь + 25 мг/кг	2/24	8,3	46,2	19,75 ± 1,22	1,14 ± 0,09	0,23 ± 0,23
Вирусный контроль	12/22	54,5	—	11,82 ± 2,67	3,75 ± 0,03	1,86 ± 0,24

Примечание. *A — число погибших животных/B — общее число животных в группе. Здесь и в табл. 2: приведены результаты двух независимых опытов.

по сравнению с АЦВ и стимфорте, используемыми по отдельности. В соответствии с приведенными показателями полученный эффект комбинации можно оценить как синергидный.

Результаты изучения влияния стимфорте, АЦВ и их комбинации на репродукцию ВПГ-1 в органном материале также приведены в табл. 1. Величины инфекционных титров вируса при применении препаратов по отдельности были хорошо сопоставимы, и их разница с показателем контрольной группы составила 1,3 lg БОЕ/мл, а при использовании комбинации препаратов титр вируса в головном мозге был снижен на 2,6 lg БОЕ/мл. Результаты титрования материала легочной ткани также дали близкие результаты — снижение величин инфекционного титра в группах животных, получавших стимфорте или АЦВ, составило 0,6 и 0,8 lg БОЕ/мл соответственно, а в группе, получавшей комбинацию препаратов, — 1,6 lg БОЕ/мл. Тот факт, что в группе животных, получавших комбинацию препаратов, наблюдалось гораздо более глубокое ингибирование репродукции ВПГ как в головном мозге, так и в легких животных, указывает на синергидный характер взаимодействия препаратов при сочетанном использовании.

При проведении сравнительного анализа активности стимфорте на модели ГИ мышей, инфицированных ВПГ-1/L₂(ТК⁺) или ВПГ-1/L₂/R^{АЦВ}(ТК⁻), показано, что при введении животным стимфорте в концентрации 50 и 100 мкг/мышь значительно снижался титр вируса в головном мозге и легких (табл. 2). Противовирусная активность носила дозозависимый характер.

Чтобы установить потенциальную возможность воздействия стимфорте на патогенез ВИЧ-инфекции, изучено его влияние на ВИЧ-инфекцию *in vitro* — на модели ВИЧ-инфицированных клеток. Установлено, что стимфорте не оказывает заметного цитотоксического действия на незараженные лимфобластоидные Т-клетки в концентрациях до 100 мкг/мл. В концентрации

100 мкг/мл наблюдалось антипролиферативное действие препарата — на 5-е сутки после добавления препарата в культуральную жидкость количество клеток в опытной культуре снизилось в 4 раза по сравнению с контрольной (табл. 3). При этом жизнеспособность лимфобластов изменилась незначительно.

При исследовании противовирусной активности стимфорте в отношении ВИЧ-инфицированных клеток обнаружено уменьшение количества вирусиндуцированных синцитиев — конгломератов нескольких клеток с общей клеточной оболочкой, образовавшейся в результате слияния их мембран. Наибольший эффект отмечен при использовании препарата в дозе 100 мкг/мл. Однако количество клеток было заметно ниже, чем в контрольной культуре, что, по-видимому, связано с антипролиферативным эффектом стимфорте (см. табл. 3).

При внесении препарата одновременно с вирусом (табл. 4) количество живых клеток, обработанных препаратом, было несколько выше, чем в контроле зараженных клеток, однако при этом скорость и степень развития ЦПЭ в клетках были сходны с соответствующими показателями в контроле вируса. В культурах инфицированных клеток, обработанных антиретровирусным референс-препаратом Ретровир (концентрация 0,267 мкг/мл), ЦПЭ отсутствовал (см. табл. 4; 5).

В результате исследования динамики развития противовирусного эффекта при профилактической схеме

Таблица 3

Исследование противовирусной активности стимфорте на модели лимфобластоидных клеток человека, инфицированных ВИЧ-1 (внесение препарата за 24 ч до инфицирования клеток)

Условия опыта (концентрация, мкг/мл)	Жизнеспособность клеток, %*	Количество клеток, %**	ЦПЭ/синцитии, %		
			3-и сутки	5-е сутки	6-е сутки
Контроль клеток	100	100	0	0	0
Контроль вируса	20	13,0	87,5	100,0	100,0
Ретровир 0,267	98,0	95,0	0	0	0
Стимфорте 50,0	85,0	54,0	6,25	37,5	75,0
Стимфорте 100,0	97,0	25,0	0	12,5	62,5

Примечание. * — жизнеспособность клеток по отношению к интактному контролю клеток на 5-е сутки; ** — количество клеток на 5-е сутки.

Таблица 2

Действие стимфорте на экспериментальную инфекцию у мышей BALB/c, инфицированных эталонным штаммом ВПГ-1 или резистентным к АЦВ штаммом ВПГ-1

Разовая/курсовая доза	ВПГ-1/L ₂ (ТК ⁺)		ВПГ-1/L ₂ /R ^{АЦВ} (ТК ⁻)	
	головной мозг	легкие	головной мозг	легкие
0	3,62 ± 0,09	1,76 ± 0,06	2,97 ± 0,02	1,12 ± 0,06
50 мкг/мышь	2,92 ± 0,70	1,40 ± 0,07	2,19 ± 0,06	0,47 ± 0,23
100 мкг/мышь	2,01 ± 0,04	0,90 ± 0,10	1,45 ± 0,02	0,23 ± 0,23

Таблица 4

Исследование противовирусной активности стимфорте при сочетанном применении с ретровирусом на модели лимфобластоидных клеток человека, инфицированных ВИЧ-1 (внесение препарата одновременно с инфицированием клеток)

Условия опыта (концентрация, мкг/мл)	Цитотоксичность (без вируса)		ВИЧ-инфекция			
	жизнеспособность клеток, %	количество клеток, % *	жизнеспособность клеток, %	количество клеток, %*	ЦПЭ/синцитии, %	снижение уровня антигена вируса, %**
Контроль клеток	93,0 ± 2,6	100,0	—	—	—	—
Контроль вируса	—	—	15,0 ± 1,2	2,6	100,0	0,0
Ретровир 0,3	89,0 ± 1,4	53,8	88,0 ± 1,5	57,6	0,0	80,0
Ретровир 0,03	90,0 ± 2,6	80,7	51,0 ± 1,2	22,9	50,0	10,5
Ретровир 0,003	91,0 ± 2,5	84,6	16,0 ± 1,1	3,8	87,5	0,0
Стимфорте 100	90,0 ± 2,5	80,7	29,0 ± 0,8	11,4	75,0	22,5
Стимфорте 50	92,0 ± 2,7	80,7	18,0 ± 1,4	10,3	87,5	24,0
Ретровир 0,3 + стимфорте 100	90,0 ± 2,5	73,1	89,0 ± 2,7	69,2	12,5	83,4
Ретровир 0,3 + стимфорте 50	91,0 ± 2,5	80,7	86,0 ± 3,2	53,8	12,5	82,1
Ретровир 0,03 + стимфорте 100	91,0 ± 2,5	80,7	77,0 ± 4,1	27,8	37,5	41,0
Ретровир 0,03 + стимфорте 50	91,0 ± 2,6	80,7	82,0 ± 3,6	53,8	50,0	16,3
Ретровир 0,003 + стимфорте 100	92,0 ± 2,6	84,6	27,0 ± 1,5	7,0	87,5	0,0
Ретровир 0,003 + стимфорте 50	91,0 ± 2,5	80,7	22,0 ± 1,5	6,5	100,0	6,6

Примечание. Здесь и в табл. 5: * — количество клеток по отношению к интактному контролю клеток; ** — снижение количества вирусного антигена по отношению к уровню антигена в контроле вируса; результаты относительно жизнеспособности, количества клеток и ЦПЭ получены на 6-й день наблюдения.

введения стимфорте установлено наибольшее защитное действие препарата на ранних сроках инфекции (3 сут) и практически полное исчезновение эффекта на 6-е сутки наблюдения (см. табл. 3).

При сочетанном применении стимфорте с ретровирусом в культуре незараженных лимфоцитов не отмечено увеличения цитотоксического действия комбинации препаратов (см. табл. 4, 5). При исследовании противовирусной активности комбинации стимфорте в дозе 50—100 мкг/мл с ретровирусом в дозе 0,3 мкг/мл в условиях внесения препаратов одновременно с инфицированием клеток не было выявлено заметного увеличения уровня защиты клеток по сравнению с ретровирусом при его индивидуальном использовании.

В ходе сравнительной оценки средних показателей жизнеспособности с помощью двухвыборочного *T*-критерия Стьюдента в профилактической схеме внесения обоих препаратов в комбинации 100 мкг/мл стимфорте и 0,3 мкг/мл ретровируса отмечено небольшое (7%), но достоверное (при уровне значимости $p < 0,05$) увеличение количества живых клеток по сравнению с индивидуальным применением ретровируса (см. табл. 5).

При 10-кратном снижении дозы ретровируса в комбинации (до 0,03 мкг/мл) показан потенцирующий противовирусный эффект препаратов, выразившийся в увеличении количества и жизнеспособности клеток, замедленной динамике развития ЦПЭ, а также в снижении уровня антигена вируса в культуральной жидкости и соответственно повышении защиты клеток от цитопатического действия ВИЧ при сочетанном применении препаратов в этих дозах (см. табл. 4, 5). Изучаемые показатели в данном случае достоверно различались (между сочетанным и индивидуальным применением препаратов) при уровне значимости $p < 0,05$.

При использовании низкой дозы ретровируса (0,003 мкг/мл) противовирусный эффект комбинации препаратов оставался на уровне их индивидуального применения.

Очевидно, при комбинированном применении стимфорте в дозе 50—100 мкг/мл с субпороговыми дозами ретровируса (0,03 мкг/мл) профилактическая схема применения препаратов дает более высокий уровень защиты от действия вируса (см. табл. 5).

Обсуждение

Известно, что для проявления противогерпетической активности АЦВ должен фосфорилироваться с образованием трифосфата АЦВ, который является ингибитором вирусной ДНК-полимеразы, а при включении в элонгирующуюся цепь ДНК ингибирует ее синтез по терминаторному механизму. Высокий уровень селективности действия АЦВ в значительной степени определяется тем, что первый этап его фосфорилирования до монофосфата катализируется герпесвирусной тимидинкиназой (ТК) [15]. Соответственно развитие у ВПГ устойчивости к АЦВ в 95% случаев связано с мутациями по ТК-гену и в 5% случаев — с мутациями по *rol*-гену [16]. Очевидно, такие АЦВ-резистентные мутанты будут кросс-резистентны к валацикловиру (L-валиновому эфиру АЦВ), представляющему собой метаболический предшественник АЦВ, а также в большинстве случаев к фамцикловиру, механизм действия которого близок таковому АЦВ, чем и определяется сходство путей формирования резистентности к этим препаратам [17].

Таким образом, формирование лекарственной резистентности ВПГ к АЦВ является фактором, лимитирующим применение всех противогерпетических препаратов первого ряда. В связи с этим было важно показать, что стимфорте сохраняет противовирусную активность на модели ВИЧ, резистентной к АЦВ. Мы использовали штамм ВПГ-1/L₂/R^{АЦВ} (ТК-), ТК-активность которого была полностью утрачена [11, 12]. Такие штаммы ВПГ с утраченной или в значительной степени сниженной ТК-активностью составляют подавляющее большинство

Исследование противовирусной активности стимфорте при сочетанном применении с ретровирусом на модели лимфобластоидных клеток человека, инфицированных ВИЧ-1 (внесение препарата за 24 ч до инфицирования клеток)

Условия опыта (концентрация, мкг/мл)	Цитотоксичность (без вируса)		ВИЧ-инфекция			
	жизнеспособность клеток, %	количество клеток, %*	жизнеспособность клеток, %	количество клеток, %*	ЦПЭ/синцитии, %	снижение уровня антигена вируса, %**
Контроль клеток	93 ± 5,4	100,0	—	—	—	—
Контроль вируса	—	—	20 ± 1,5	8,0	100,0	0,0
Ретровир 0,3	89 ± 3,5	56,7	87 ± 2,5	91,9	0,0	81,6
Ретровир 0,03	88 ± 1,6	70,4	54 ± 1,8	32,4	50,0	50,1
Ретровир 0,003	90 ± 4,5	73,0	37 ± 2,4	73,0	87,5	0,0
Стимфорте 150	86 ± 4,2	32,4	37 ± 2,8	14,2	75,0	50,5
Стимфорте 100	97 ± 3,6	92,0	34 ± 1,8	17,8	75,0	4,4
Стимфорте 50	85 ± 3,8	89,1	20 ± 1,1	16,9	75,0	13,9
Ретровир 0,3 + стимфорте 100	94 ± 5,5	100,0	94 ± 2,7	90,0	0,0	81,6
Ретровир 0,3 + стимфорте 50	89 ± 1,2	73,0	94 ± 4,9	79,5	0,0	76,0
Ретровир 0,03 + стимфорте 150	86 ± 4,3	62,1	63 ± 3,5	43,2	12,5	64,8
Ретровир 0,03 + стимфорте 100	92 ± 3,8	60,0	90 ± 3,9	46,0	18,75	78,8
Ретровир 0,03 + стимфорте 50	80 ± 1,9	75,7	87 ± 4,0	86,5	43,75	69,3
Ретровир 0,003 + стимфорте 100	91 ± 4,5	81,1	69 ± 4,0	48,6	56,25	4,8
Ретровир 0,003 + стимфорте 50	82 ± 2,4	67,6	55 ± 2,1	30,0	68,75	0,0

(96%) всех АЦВ-резистентных клинических изолятов с мутациями по ТК-гену [16].

Независимость противовирусной активности стимфорте от чувствительности ВПГ к АЦВ, а также синергидный характер взаимодействия стимфорте и АЦВ на модели ГИ *in vivo* определяются принципиальным различием механизмов действия этих препаратов. На фоне часто рецидивирующих ГИ вследствие длительной персистенции вируса развивается ряд глубоких изменений состояния иммунной системы (вторичные иммунодефициты). Прежде всего блокируется продукция и секреция интерферонов (ИФН- α и ИФН- γ), ограничивающих внутриклеточную репродукцию ВПГ, значительно снижается функциональная активность НК-клеток (англ. natural killer cells — клеток естественных киллеров), снижается продукция сывороточных интерлейкинов (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-12), фактора некроза опухоли α (ФНО- α), снижается количество моноцитов, экспрессирующих TLR-2 (англ. toll like receptor — толл-подобный рецептор, индуцирует гуморальный иммунный ответ, стимулирует пролиферацию и дифференцировку В-лимфоцитов), наблюдаются различные нарушения Т-клеточного и гуморального звеньев иммунной системы [18]. Ранее было установлено, что противовирусная активность Стимфорте связана с его комплексным воздействием на систему противовирусного иммунитета, позволяющим корректировать деятельность ряда дефектных звеньев как клеточного, так и гуморального иммунитета и повышающим, таким образом, иммунный статус организма. При введении стимфорте мышам с индуцированной иммуносупрессией увеличивается количество мононуклеарных лейкоцитов, индуцируется продукция цитокинов ИЛ-10, ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α). Показаны его интерферогенная активность (в присутствии препарата повышается уровень сывороточных ИФН- α , ИФН- β и

ИФН- γ) и иммуностимулирующая активность, направленная на реакции врожденного иммунитета (повышается количество F4/80⁺-клеток) и адаптивного иммунитета (повышается количество CD4⁺, CD19⁺-клеток), препарат позитивно влияет на продукцию специфических антител [19—21]. Благодаря иммуномодулирующему действию препарата можно не только обеспечить усиление терапевтической эффективности этиотропных противовирусных лекарственных средств, но и снизить вероятность развития лекарственной резистентности ВПГ, находящейся в прямой зависимости от иммунного статуса пациента.

Как отмечено выше, одной из основных причин иммунодефицитов у людей является ВИЧ-инфекция. На модели ВИЧ-инфицированных клеток показано, что стимфорте проявляет достоверную антиретровирусную активность, а при комбинированном его применении с субпороговыми дозами ретровируса обнаружен синергидный противовирусный эффект.

Взаимоусиление анти-ВИЧ-действия стимфорте и ретровируса при сочетанном использовании, по-видимому, является следствием различий в механизмах их воздействия на ВИЧ-инфекцию, которые реализуются в разных стадиях жизненного цикла вируса. Наиболее вероятно, что ингибирование репродукции ВИЧ стимфорте связано с его способностью как активатора TLR-4 ингибировать проникновение ВИЧ в клетки в стадии перехода эндосома/лизосома [22].

При смешанной инфекции клеток ВИЧ-1 и ВПГ-1, как нами было показано ранее, заметно усилился процесс синцитийобразования и клеточной деструкции, а также увеличения продукции антигенов ВИЧ-1 в 1,4—2,1 раза, а уровень ВПГ-1 в 1,3—1,8 раза (в зависимости от вида клеток) [23]. Сходная картина наблюдалась при одновременном заражении клеток ВИЧ-1 и ВПГ-2. Поэтому применение препаратов, способных

действовать одновременно на несколько вирусов, весьма актуально.

Многочисленные клинические исследования показали, что супрессивная терапия инфекции ВПГ-2 с использованием АЦВ или валацикловира у ВИЧ-1/ВПГ-2-инфицированных пациентов замедляет прогрессирование ВИЧ-инфекции и развитие СПИДа, снижает вирусную нагрузку ВИЧ-1 и увеличивает выживаемость пациентов [24, 25]. Механизм воздействия АЦВ на ВИЧ-1 состоит в следующем. АЦВ в форме трифосфата узнается обратной транскриптазой (ОТ), и последующее его включение в синтезирующуюся цепь ДНК приводит к подавлению репликации вируса (ИД₅₀ 3,11 мкМ). Однако ВИЧ не имеет фермента, способного обеспечить инициацию кинирования АЦВ с образованием монофосфата АЦВ. Для этого необходима герпетическая ТК. В условиях коинфекции ВПГ-2/ВИЧ-1 АЦВ в клинически значимых концентрациях (3 мкМ и более) ингибирует *in vitro* репликацию изолятов ВИЧ-1, в том числе устойчивых к используемым в настоящее время лекарственным средствам (азидотимидину, ламивудину, невирапину, комбинации нуклеозидных ингибиторов ОТ (НИОТ) и ингибиторам протеазы) [26, 27]. Мутация V75I в ОТ ВИЧ-1 приводит к резистентности ВИЧ-1 к АЦВ и не связана с развитием резистентности к утвержденным в настоящее время НИОТ [28].

Препараты, фармакологическая эффективность которых сочетает в себе как ингибирующее воздействие на инфекционные агенты, так и благоприятное воздействие на иммунную систему организма путем восстановления нарушенных функций иммунного ответа и/или мобилизации резервных механизмов защиты, представляют особый интерес для лечения хронических инфекционно-воспалительных заболеваний.

Стимфорте активирует пролиферацию и дифференцировку как лейкоцитов, так и лимфоцитов *in vivo*, что ведет, по данным литературы, к восстановлению иммунной системы пациента, пораженного ВИЧ-инфекцией, и способствует активации ВИЧ внутри гематопозитических клеток [29, 30] с тем, чтобы он мог быть обнаружен и уничтожен иммунной системой человека.

Таким образом, препарат Стимфорте, обладающий с одной стороны, противовирусной активностью в отношении вирусов разных семейств, а с другой — иммуномодулирующими свойствами, может быть перспективен как этиопатогенетическое средство, способствующее нормализации как неспецифического, так и специфического иммунитета, одновременно с этиотропными противовирусными химиопрепаратами в составе комплексной терапии генерализованной ГИ в условиях иммунодефицита. Возможно также использование стимуфорте в случае развития лекарственной резистентности у ВПГ, в том числе у ВИЧ-инфицированных пациентов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Определение авторства. Участие авторов в написании статьи является равнодолевым.

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 2, 6, 7, 14—18, 22, 24—30 см. REFERENCES)

- ВОЗ. Инфекции, передаваемые половым путем (ИППП). Информационный бюллетень ВОЗ №110. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs110/ru/>
- ВОЗ. ВИЧ/СПИД. Информационный бюллетень ВОЗ № 360. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs360/ru/>
- Леонова О.Н., Виноградова Т.Н., Сизова Н.В., Степанова Е.В. Проблемы лечения больных с тяжелыми формами ВИЧ-инфекции. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. 2013; 5(2): 58—65.
- Ерамова И., Матич С., Мюнз М. Тактика ведения пациентов с оппортунистическими инфекциями и общими симптомами ВИЧ/СПИДа. Клинический протокол для Европейского региона ВОЗ. Available at: http://aids.belmapo.by/downloads/protocols/dl/protocol02_ru_w2003-edit-final16feb28.pdf.
- Мальдов Д.Г., Григорян С.С., Галегов Г.А., Андропова В.Л., Бельков А.П., Ильичев А.В. Действие иммуномодулирующего препарата Стимфорте на герпесвирусную инфекцию. *Иммунология*. 2011; 32(5): 250—6.
- Зуйкова И.Н., Шульженко А.Е., Мальдов Д.Г., Ильичев А.В., Пинегин Б.В. Применение препарата «Стимфорте» в комплексной терапии рецидивирующей герпес-вирусной инфекции. *Герпес*. 2009; (2): 30—6.
- Андропова В.Л., Галегов Г.А., Ясько М.В., Куханова М.К., Скоблов Ю.С. Сравнительное изучение лекарственной устойчивости вируса простого герпеса к ациклоганозину и Н-фосфонату ациклоганозина. *Вопросы вирусологии*. 2010; 55(1): 31—4.
- Андропова В.Л., Гроховский С.Л., Суравая А.Н., Дерябин П.Г., Гурский Г.В., Галегов Г.А. Подавление репродукции вируса простого герпеса с лекарственной устойчивостью сочетанием 15Lys-Nt с некоторыми противогерпетическими препаратами. *Вопросы вирусологии*. 2014; 59(1): 36—41.
- Коровина А.Н., Гуськова А.А., Скоблов М.Ю., Андропова В.Л., Галегов Г.А., Кочетков С.Н. и др. Анализ мутаций в генах ДНК-полимераз и тимидинкиназ клинических изолятов вируса простого герпеса, резистентных к антигерпетическим препаратам. *Молекулярная биология*. 2010; 44(3): 488—96.
- Носик Д.Н., Носик Н.Н., Каплина Е.Н., Калнина Л.Б., Киселева Л.А., Кондрашина Н.Г. и др. Активность препарата «Ферровир» в отношении РНК и ДНК вирусов. *Вопросы вирусологии*. 2002; 47(3): 21—3.
- Бельков А.П., Муругин В., Григорян С.С., Ильичев А.В., Чубарова Г.Д., Мальдов Д.Г. Активность веществ Стимфорте и их физико-химическая характеристика. *Фармация*. 2012; 61(4): 39—42.
- Мальдов Д.Г., Андропова В.Л., Балакина А.А., Ильичев А.В., Галегов Г.А. Влияние иммуномодулирующего препарата Стимфорте на гуморальный иммунный ответ при экспериментальной герпесвирусной инфекции. *Вопросы вирусологии*. 2016; 61(4): 172—5.
- Мальдов Д.Г., Ильичев А.В., Лебединская Е.А., Фадеева Е.В., Лебединская О.В., Ахматова Н.К. и др. Действие Стимфорте на мононуклеарные лейкоциты и лимфоидные органы мышей на фоне введения циклофосфана. *Медицинская иммунология*. 2011; 13(2—3): 133—8.
- Баринский И.Ф., Носик Д.Н., Кальнов С.Л., Никитина А.А., Львов Н.Д., Петрова М.С. и др. Активация репродукции вирусов при смешанной инфекции вирусом иммунодефицита человека и герпес-вирусами. *Вопросы вирусологии*. 1994; 39(5): 223—6.

REFERENCES

- WHO. Sexually transmitted infections (STIs). Fact sheet of WHO №110. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs110/en/>
- Looker K.J., Magaret A.S., May M.T., Turner K.M.E., Vickerman P., Gottlieb S.L., et al. Global and Regional Estimates of Prevalent and Incident Herpes Simplex Virus Type 1 Infections in 2012. *PLoS ONE*. 2015; 10(10): e0140765.
- WHO. HIV/AIDS. Fact sheet of WHO №360. Available at: <http://www.who.int/features/qa/71/en/>
- Leonova O.N., Vinogradova T.N., Sizova N.V., Stepanova E.V. Problems in the therapeutic treatment of patients having severe forms of HIV infection. *VICH-infektsiya i immunosupressii*. 2013; 5(2): 58—65. (in Russian)
- Eramova I., Matic S., Munz M. Management of opportunistic

- infections and general symptoms of HIV / AIDS. Clinical protocol for WHO Regional Office for Europe. Available at: http://www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/0007/78118/E90840_Chapter_2.pdf
6. De Clercq E. Antiviral drugs in current clinical use. *J Clin Virol.* 2004; 30(2): 115—33.
 7. Frobert E., Burrell S., Ducastelle-Lepretre S., Billaud G., Ader F., Casalegno J.S. et al. Resistance of herpes simplex viruses to acyclovir: an update from a ten-year survey in France. *Antiviral Res.* 2014; 111: 36—41.
 8. Mal'dov D.G., Grigoryan S.S., Galegov G.A., Andronova V.L., Bel'kov A.P., Il'ichev A.V. Action of immunomodulatory drug Stimforte for herpesvirus infection. *Immunologiya.* 2011; 32(5): 250—6. (in Russian)
 9. Zuykova I.N., Shul'zhenko A.E., Mal'dov D.G., Il'ichev A.V., Pinegin B.V. Use of the drug «Stimforte» in the combined treatment of recurrent herpes infections. *Gerpes.* 2009; (2): 30—6. (in Russian)
 10. Andronova V.L., Galegov G.A., Yas'ko M.V., Kukhanova M.K., Skoblov Yu.S. Comparative study of drug resistance to acycloguanosine and acycloguanosine H-phosphonate in herpes simplex virus. *Voprosy virusologii.* 2010; 55(1): 31—4. (in Russian)
 11. Andronova V.L., Grokhovskiy S.L., Surovaya A.N., Deryabin P.G., Gurskiy G.V., Galegov G.A. Research of suppression of the herpes simplex virus reproduction with drug resistance using a combination 15-Lys-bis-Nt with some antiherpetic drugs. *Voprosy virusologii.* 2014; 59(1): 36—41. (in Russian)
 12. Korovina A.N., Gus'kova A.A., Skoblov M.Yu., Andronova V.L., Galegov G.A., Kochetkov S.N. et al. Analysis of mutations in DNA polymerase and Thymidine Kinase genes of Herpes Simplex Virus clinical isolates resistant to antiherpetic drugs. *Molekulyarnaya biologiya.* 2010; 44(3): 488—96. (in Russian)
 13. Nosik D.N., Nosik N.N., Kaplina E.N., Kalnina L.B., Kiseleva L.A., Kondrashina N.G. et al. Activity of «Ferrovir» preparation towards RNA and DNA viruses. *Voprosy virusologii.* 2002; 47(3): 21—3. (in Russian)
 14. Sarisky R.T., Nguyen T.T., Duffy K.E., Wittrock R.J., Leary J.J. Difference in incidence of spontaneous mutations between herpes simplex virus types 1 and 2. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2000; 44(6): 1524—9.
 15. Elion G.B. Mechanism of action and selectivity of acyclovir. *Am. J. Med.* 1982; 73(1A): 7—13.
 16. Gaudreau A., Hill E., Balfour H.H. Jr., Erice A., Boivin G. Phenotypic and genotypic characterization of acyclovir-resistant herpes simplex viruses from immunocompromised patients. *J. Infect. Dis.* 1998; 178(2): 297—303.
 17. Sauerbrei A., Bohn K., Heim A., Hofmann J., Weissbrich B., Schnitzler P., et al. Novel resistance-associated mutations of thymidine kinase and DNA polymerase genes of herpes simplex virus type 1 and type 2. *Antivir. Ther.* 2011; 16(8): 1297—308.
 18. Melchjorsen J., Matikainen S., Paludan S.R. Activation and evasion of innate antiviral immunity by Herpes Simplex Virus. *Viruses.* 2009; 1(3): 737—59.
 19. Bel'kov A.P., Murugin V., Grigoryan S.S., Il'ichev A.V., Chubarova G.D., Mal'dov D.G. Activity of substances of Stimforte and their physicochemical characteristics. *Farmatsiya.* 2012; 61(4): 39—42. (in Russian)
 20. Mal'dov D.G., Andronova V.L., Balakina A.A., Il'ichev A.V., Galegov G.A. Influence of the immunomodulatory drug Stimforte on the humoral immune response in the experimental Herpes Simplex Virus infection. *Voprosy virusologii.* 2016; 61(4): 172—5. (in Russian)
 21. Mal'dov D.G., Il'ichev A.V., Lebedinskaya E.A., Fadeeva E.V., Lebedinskaya O.V., Akhmatova N.K. et al. Effect of Stimforte upon murine mononuclear leukocytes and lymphoid organs during Cyclophosphan treatment. *Meditinskaya immunologiya.* 2011; 13(2—3): 133—8. (in Russian)
 22. Shiratsuchi A., Watanabe I., Takeuchi O., Akira S., Nakanishi Y. Inhibitory effect of Toll-like receptor 4 on fusion between phagosomes and endosomes/lysosomes in macrophages. *J. Immunol.* 2004; 172(4): 2039—47.
 23. Barinskiy I.F., Nosik D.N., Kal'nov S.L., Nikitina A.A., L'vov N.D., Petrova M.S., et al. Activation of virus reproduction in mixed infection caused by HIV and Herpesviruses. *Voprosy virusologii.* 1994; 39(5): 223—6. (in Russian)
 24. Delany S., Mlaba N., Clayton T., Akpomiemie G., Capovilla A., Legoff J. et al. Impact of aciclovir on genital and plasma HIV-1 RNA in HSV-2/HIV-1 co-infected women: a randomized placebocontrolled trial in South Africa. *AIDS.* 2009; 23(4): 461—9.
 25. Lingappa J.R., Baeten J.M., Wald A., Hughes J.P., Thomas K.K., Mujugira A. et al. Daily acyclovir for HIV-1 disease progression in people dually infected with HIV-1 and herpes simplex virus type 2: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet.* 2010; 375(9717): 824—33.
 26. Lisco A., Vanpouille C., Tchesnokov E.P., Grivel J.C., Biancotto A., Brichacek B. et al. Acyclovir is activated into a HIV-1 reverse transcriptase inhibitor in herpesvirus-infected human tissues. *Cell Host Microbe.* 2008; 4(3): 260—70.
 27. Vanpouille C., Lisco A., Introini A., Grivel J.C., Munawwar A., Merbah M. et al. Exploiting the anti-HIV-1 activity of acyclovir: suppression of primary and drug-resistant HIV isolates and potentiation of the activity by ribavirin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2012; 56(5): 2604—11.
 28. Tchesnokov E.P., Obikhod A., Massud I., Lisco A., Vanpouille C., Brichacek B. et al. Mechanisms Associated with HIV-1 Resistance to Acyclovir by the V75I Mutation in Reverse Transcriptase. *J. Biol. Chem.* 2009; 284(32): 21496—504.
 29. Alexaki A., Liu Y., Wigdahl B. Cellular reservoirs of HIV-1 and their role in viral persistence. *Curr. HIV Res.* 2008; 6(5): 388—400.
 30. Carter C.C., Onafuwa-Nuga A., McNamara L.A., Riddell J. 4th, Bixby D., Savona M.R. et al. HIV-1 infects multipotent progenitor cells causing cell death and establishing latent cellular reservoirs. *Nat. Med.* 2010; 16(4): 446—51.

Поступила 14.02.17

Принята в печать 25.04.17