ДОКЛАДЫ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК. НАУКИ О ЖИЗНИ, 2021, том 496, с. 94–98

УДК 578

ТЕРМОВАКЦИНАЦИЯ – ТЕРМОГЕЛИОКС КАК СТИМУЛЯТОР ИММУННОГО ОТВЕТА. КИНЕТИКА СИНТЕЗА АНТИТЕЛ И С-РЕАКТИВНОГО БЕЛКА ПРИ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

© 2021 г. Член-корреспондент РАН С. Д. Варфоломеев[1,5], С. В. Журавель[2], А. А. Панин[3], Л. В. Шогенова[4], В. И. Быков[5], С. Б. Цыбенова[5,*], А. М. Рябоконь[5,6], И. И. Уткина[2], П. В. Гаврилов[2], А. Г. Чучалин[4]

Поступило 06.10.2020 г.
После доработки 15.10.2020 г.
Принято к публикации 16.10.2020 г.

Показана высокая эффективность использования термогелиокса (ингаляции высокотемпературной смесью гелия и кислорода) при лечении пациентов, пораженных COVID-19. Экспериментально исследована динамика накопления IgG, IgM и С-реактивного белка (СРБ) у больных с коронавирусной инфекцией в “рабочей” и контрольной группах. Показано, что термогелиокс интенсифицирует синтез антител IgG, IgM и СРБ, при этом элиминирует период индукции на кинетических кривых синтеза специфических антител в форме IgG и переводит в быструю фазу синтез СРБ. Результаты эксперимента подтверждают полученные ранее данные на основе анализа кинетической модели развития коронавирусной инфекции в организме человека.

Ключевые слова: коронавирус, кинетическая модель, термогелиокс, иммуноглобулин G, иммуноглобулин M, С-реактивный белок, термовакцинация

DOI: 10.31857/S2686738921010248

Борьба с коронавирусной инфекцией – чрезвычайно острая проблема, требующая разработки новых методов, расширяющих диапазон возможностей современной терапии и профилактики [1]. Применяемые в настоящее время антивирусные и общеукрепляющие терапевтические средства зачастую недостаточно эффективны и приводят к глубокому поражению многих систем организма и часто к смерти пациента [2]. Большие надежды возлагаются на создание синтетических вакцин, действующих на уровне синтеза антител, специфически взаимодействующих с теми или иными белками вируса.

Нами разработана новая методика борьбы с коронавирусным поражением организма, основанная на использовании термогелиокса (ингаляции высокотемпературной смесью гелия и кислорода). Проведены клинические испытания на базе отделения реанимации и интенсивной терапии НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского. В клинику поступали пациенты средней и высокой тяжести поражения коронавирусом (20–50% поражения легких). Подавляющее большинство больных имеют сопутствующие заболевания: артериальная гипертония различной степени, хронический обструктивный бронхит, ХОБЛ, ишемическая болезнь сердца, атеросклероз нижних конечностей, бронхиальная астма, язвенная болезнь желудка и др. Результаты клинических испытаний в высшей степени положительны. Как правило, на 2–3-и сутки использования термогелиокса с применением медицинского аппарата “Гелиокс-экстрим” (ООО “Медтехинновации”) у пациента не обнаруживается вирус, определяемый по стандартной методике полимеразной цепной реакции (ПЦР), и возникает устойчивый антительный ответ. Эти эффекты были предсказаны на основе кинетической модели, включаю-

[1] *Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Институт физико-химических основ функционирования сети нейронов и искусственного интеллекта, Москва, Россия*

[2] *Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, Москва, Россия*

[3] *ООО “Медтехинновации”, Москва, Россия*

[4] *Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия*

[5] *Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук, Москва, Россия*

[6] *Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Химический факультет, Москва, Россия*

**e-mail: s.tsybenova@gmail.com*

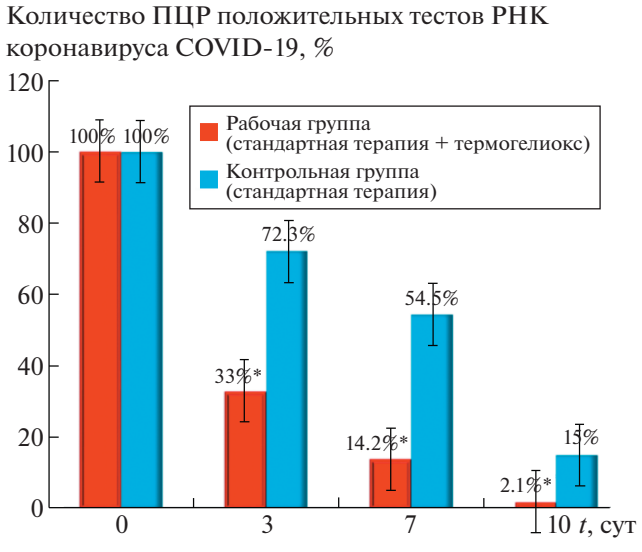

Рис. 1. Количество ПЦР положительных тестов в контрольной и “рабочей” группах (*$p \le 0.05$).

щей динамику роста и размножения вируса в организме, динамику поражения вирусом клеток-реципиентов, эффекты термодеструкции вирусов и динамику антительного ответа. Теоретический анализ предсказывает потенциальные эффекты термовакцинации – выработку антител на белки разрушенных вирусных частиц [3–5].

На основе изучения белкового состава конденсата выдыхаемого воздуха пациента показана безопасность применения термогелиокса [6, 7]. Нами проведено экспериментальное исследование кинетики накопления специфических антител (IgG, IgM) у пациентов, пораженных коронавирусом. В исследование были включены 60 пациентов с COVID-19, поделенные на две равные группы. В первую (“рабочую”) группу ($N = 30$) вошли пациенты, которым в стандартный протокол лечения COVID-19 была включена терапия термогелиоксом, во вторую (контрольную) группу 2 ($N = 30$) – пациенты, получавшие стандартную терапию согласно временным методическим рекомендациям Минздрава России.

Из 60 пациентов, включенных в исследование, 28 (46.7%) были медицинскими работниками. В “рабочей” группе соотношение мужчины/женщины – 17/13, а в контрольной группе – 16/14 соответственно. В обеих группах пациенты были сопоставимы по полу, $p - 0, 403$ – точный критерий Фишера. Средний возраст пациентов в исследовании составлял 56.7 года (45 лет; 61 год). При этом в “рабочей” группе – 58 лет (45 лет; 59.5 года), а в контрольной – 55 лет (46 лет; 66 лет). Пациенты были сопоставимы по возрасту, $p - 0.537$ (критерий Манна–Уитни). Объем поражения легких на момент включения в исследование составлял: в “рабочей” группе – 25.2% (21%, 42.5%), в контрольной – 26% (25%, 41.7%). При этом средняя длительность заболевания в “рабочей” группе составляла 2 дня (1 и 4), в контрольной – 3 дня (1 и 5). Общая характеристика клинических симптомов пациентов обеих групп включала в себя: ощущение потери обоняния и вкуса, насморк, чувство нехватки воздуха, одышку, слабость, повышение температуры, головную боль, боль в мышцах и в горле, сухой кашель.

Лечение пневмонии, вызванной вирусом SARS – CoV 2, проводили всем пациентам, включенным в протокол исследования № 11–20 от 20.04.2020, одобренный этическим комитетом по биомедицинской этике НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ, в период с 21 апреля по июнь 2020 года включительно.

Всем пациентам проводили забор мазка со слизистой полости носа и ротоглотки для выявления РНК коронавируса SARSCoV-2 методом ПЦР (детектирующий амплификатор CFX-96 “REAL TIME” (Bio-Rad, США)) [8–10]; компьютерная томография (КТ) легких [11]; забор венозной крови для анализа содержания иммуноглобулинов IgG (п/кол.) и IgM (п/кол.) к шиповому S-белку поверхности коронавируса SARS-CoV-2 по стандартной методике иммуноферментного анализа (ИФА) (иммунохемилюминесцентный анализатор, Mindray 6000, США) [10]. ИФА-тестирование на наличие IgG помогает детектировать контакт иммунной системы организма с вирусом, если с момента заражения прошло 2 нед.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием программного пакета SPSS 17.0 (SPSS Inc., USA). Использовались методы непараметрической статистики с применением U-критерия Манна–Уитни (сравнение 2 независимых переменных), точный критерий Фишера. Различия считались статистически значимыми при $p < 0.05$.

На рис. 1 представлена динамика изменения количества пациентов в контрольной и “рабочей” группах с положительным тестом РНК коронавируса SARSCoV-2 по времени. В “рабочей” группе отмечалось статистически достоверное снижение количества пациентов с положительным тестом РНК коронавируса SARSCoV-2. По нашим наблюдениям, в “рабочей” группе больных COVID-19, получавшей ингаляции термогелиоксом, отрицательный результат ПЦР определялся на третий день, а у некоторых больных отрицательный результат определялся уже в первые сутки после начала терапии. На фоне стандартной терапии в контрольной группе положительная реакция на РНК коронавируса выявлялась от семи дней до четырех недель с начала заболевания, в отдельных случаях и дольше (рис. 1).

Полученные результаты демонстрируют, что использование термогелиокса эффективно сти-

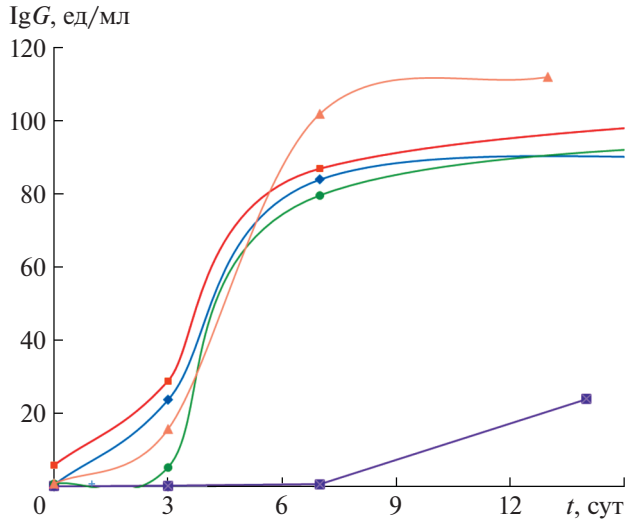

Рис. 2. Динамика накопления IgG к шиповому S-белку поверхности коронавируса SARS-CoV-2 в контрольной группе при стандартном лечении (приведены типичные кривые).

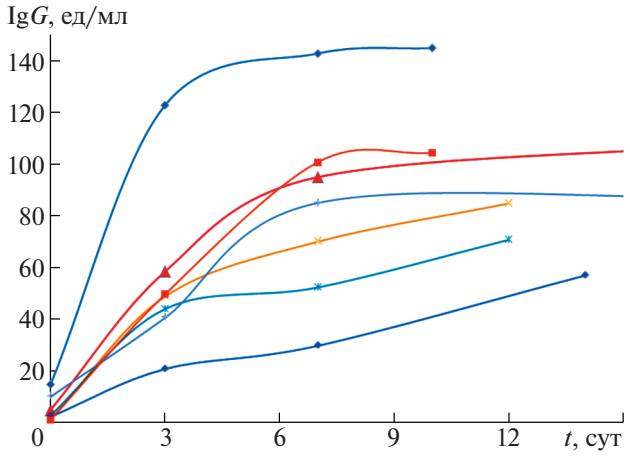

Рис. 3. Динамика накопления IgG к шиповому S-белку поверхности коронавируса SARS-CoV-2 в "рабочей" группе при лечении термогелиоксом (приведены типичные кривые).

мулирует синтез антител, как типа иммуноглобулина G, так и типа иммуноглобулина M. В клинику поступает часть больных с уже сформировавшимся высоким уровнем IgG и IgM. Как в "рабочей", так и в контрольной группе таких больных около 25%. Для кинетического анализа оказались пригодны данные с полным набором измерения уровня антител (4 измерения: при поступлении, на 3-и, 7-е сутки и при выписке). На рис. 2 и 3 приведены экспериментальные данные по динамике накопления IgG в контрольной (рис. 2) и "рабочей" группе (рис. 3). Видно принципиальное различие в кинетике иммунного ответа.

При лечении пациентов контрольной группы без использования ингаляций термогелиоксом в течение первых трех суток синтез антител IgG практически блокирован (период индукции на кинетической кривой накопления IgG). Использование термогелиокса (4 ингаляционных процедур по 15 мин с 15-минутным перерывом) пациентам "рабочей" группы элиминирует период индукции и включает синтез иммуноглобулина G с первого момента применения процедуры. Следует отметить, что приблизительно 30% пациентов поступают в клинику с уже завершенным этапом активации иммунного ответа (на кинетических кривых накопления IgG не наблюдается период индукции).

Термогелиокс также стимулирует образование IgM. Различия в кинетике накопления IgM в "рабочей" и контрольной группе не столь значительны, как в случае IgG. Термогелиокс заметно стимулирует накопление IgM на начальном этапе развития процесса. Например, среднее значение IgM(3)/IgM(0) для всей совокупности данных для пациентов, прошедших ингаляцию термогелиоксом, равно 4.1, а для контрольной группы – 3.2.

Полученные результаты по динамике синтеза иммуноглобулинов IgG и IgM однозначно демонстрируют, что применение термогелиокса при лечении поражения коронавирусной инфекцией приводит к активации иммунной системы и стимулирует образование специфических антител.

Иммунный ответ организма имеет сложный характер, при этом включаются различные биохимические системы организма [12, 13]. В частности, С-реактивный белок (СРБ) рассматривается как один из компонентов сложной цепи биохимических процессов, одним из первых реагирующих на бактериальную и вирусную инфекцию. Синтез СРБ индуцируется цитокинами и разрушением легочных тканей [14, 15]. Нами исследована сравнительная динамика накопления и уменьшения СРБ в процессе стандартного лечения и лечения с участием ингаляций термогелиоксом. Обнаружено принципиальное отличие в динамике ответа (рис. 4).

Видно, что при "нормальном" течении болезни в контрольной группе в большинстве случаев происходит относительно медленное накопление СРБ, достигающее максимального значения на 2–4-е сутки лечения (рис. 4, кривые выше пунктирной линии). Последующий процесс лечения в динамике характеризуется уменьшением СРБ до нуля. Ингаляция термогелиоксом в "рабочей" группе стимулирует быстрое накопление СРБ с переходом системы с самого начального периода к экспоненциальному уменьшению уровня СРБ (рис. 4, кривые ниже пунктирной линии). Среднестатистически применение термогелиокса

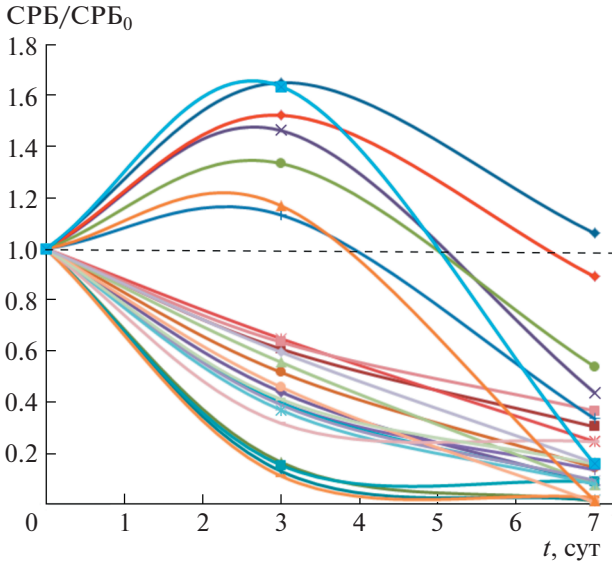

Рис. 4. Динамика изменения содержания СРБ в крови пациентов контрольной (кривые с максимумом) и "рабочей" (экспоненциальное падение) групп (результаты эксперимента нормированы на показатель СРБ$_0$ при поступлении пациента ($t = 0$)).

уменьшает время пребывания пациента в больнице на 2–2.5 дня.

Стимулирование иммунного ответа термогелиоксом можно определить термином "термовакцинация". Нами экспериментально показано, что на 2–3-и сутки использования термогелиокса в большинстве случаев организм освобождается от вирусных частиц по результатам ПЦР анализа. Мы предполагаем, что ускоренная выработка антител происходит, по-видимому, на белки-продукты термодеструкции вирусных частиц в легких пациентов. Таким образом, в обсуждаемом нами случае имеет место "классическая" вакцинация ослабленным или разрушенным антигеном. Принципиально положительное отличие заключается в том, что процесс идет *in vivo* с участием естественных вирусных белков, и "термовакцинация" может иметь широкий спектр специфичности.

Механизм наблюдаемого нами эффекта стимуляции иммунного ответа термогелиоксом требует дальнейшего исследования. Развитая и исследованная нами кинетическая модель [3–5] объясняет наблюдаемые эффекты увеличением концентрации антигена при термодеструкции вируса.

Впервые обнаруженные и описанные нами эффекты "термовакцинации" при лечении коронавирусного поражения – стимуляция иммунного ответа термогелиоксом – могут иметь общий характер и быть применены при лечении поражения вирусами другой природы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Zhou P., Yang X.L., Wang X.G., et al.* A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin // Nature. 2020. V. 579. № 7798. P. 270–273. https://doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7
2. *Martinez M.A.* Clinical trials of repurposed antivirals for SARS-CoV-2 // Antimicrob. Agents Chemother. 2020. V. 64, № 9. e01101-20. https://doi.org/10.1128/AAC.01101-20
3. *Варфоломеев С.Д., Панин А.А., Быков В.И., и др.* Кинетическая модель развития острой вирусной инфекции в организме человека. Критические условия, механизмы управления, термогелиокс // Известия РАН, Серия химическая. 2020. Т. 69. № 6. С. 1179–1184. https://doi.org/10.1007/s11172-020-2886-4
4. *Варфоломеев С.Д., Панин А.А., Быков В.И., и др.* Термовакцинация, термогелиокс как стимулятор иммунного ответа. Кинетическая модель развития процесса. // Известия РАН, Серия химическая. 2020. Т. 69. № 9. С. 1811–1815. https://doi.org/10.1007/s11172-020-2966-5
5. *Varfolomeev S.D., Panin A.A., Bykov V.I., et al.* Chemical kinetics of the development of coronaviral infection in the human body: Critical conditions, toxicity mechanisms, "thermoheliox", and "thermovaccination" // Chemico-Biological Interactions. 2020. V. 329. P. 109209. https://doi.org/10.1016/j.cbi.2020.109209
6. *Варфоломеев С.Д., Панин А.А., Рябоконь А.М., и др.* Протеом конденсата выдыхаемого воздуха при воздействии высокотемпературного термогелиокса // Известия РАН, Серия химическая. 2020. Т. 69. № 9. С. 1816–1818. https://doi.org/10.1007/s11172-020-2967-4
7. *Варфоломеев С.Д., Панин А.А., Рябоконь А.М., и др.* Протеом термического гелиокса. Высокотемпературный гелиокс не вызывает разрушение клеток дыхательной системы человека // Терапевтический архив. 2020. Т. 92. № 6. С. 69–72.
8. *Zhu H., Zhang H., Xu Y., et al.* PCR past, present and future // BioTechniques. 2020, https://doi.org/10.2144/btn-2020-0057
9. *Heid C.A., Stevens J., Livak K.J., et. al.* Real time quantitative PCR // Genome Res. 1996. Vol. 6, № 10. P. 986–994. https://doi.org/10.1101/gr.6.10.986
10. *Wilson D.D.* McGraw-Hill Manual of Laboratory and Diagnostic Tests. New-York: McGraw-Hill Medical; 2007.
11. *Li Y., Xia L.* Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): Role of chest CT in diagnosis and management // AJR. Am. J. Roentgenol. 2020. V. 214. № 6. P. 1280–1286. https://doi.org/10.2214/AJR.20.22954
12. *Long Q., Liu B., Deng H. et al.* Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19 // Nat. Med. 2020. V. 26. P. 845–848. https://doi.org/10.1038/s41591-020-0897-1
13. *Catanzaro M., Fagiani F., Racchi M., et al.* Immune response in COVID-19: addressing a pharmacological challenge by targeting pathways triggered by SARS-CoV-2 // Signal Transduct. Target. Ther. 2020. V. 5.

P. 84.
https://doi.org/10.1038/s41392-020-0191-1

14. *McGonagle D., Sharif K., O'Regan A., et al.* The role of cytokines including Interleukin-6 in COVID-19 induced pneumonia and macrophage activation syndrome-like disease // Autoimmun. Rev. 2020. V. 19. № 6. P. 102537.
https://doi.org/10.1016/j.autrev.2020.102537

15. *Potempa L.A., Rajab I.M., Hart P.C., et al.* Insights into the use of C-reactive protein as a diagnostic index of disease severity in COVID-19 infections // Am. J. Trop. Med. Hyg. 2020. V. 103. № 2. P. 561–563.
https://doi.org/10.4269/ajtmh.20-0473

THERMOVACCINATION – THERMOHELIOX AS AN IMMUNE RESPONSE STIMULATOR. KINETICS OF ANTIBODIES AND C-REACTIVE PROTEIN SYNTHESIS IN CORONAVIRAL INFECTION

Corresponding Member of the RAS S. D. Varfolomeev[a,e], S. V. Zhuravel[b], A. A. Panin[c], L. V. Shogenova[d], V. I. Bykov[e], S. B. Tsybenova[e,#], A. M. Ryabokon[e,f], I. I. Utkina[b], P. V. Gavrilov[b], and A. G. Chuchalin[d]

[a] *Institute of Physicochemical Foundations of the Functioning of Neural Network and Artificial Intellegence, Moscow State University, 119991, Moscow, Russian Federation*

[b] *N.V. Sklifosovsky Federal Research Institute of Emergency Medicine, Moscow, Russian Federation*

[c] *OOO "MedTechInnovations", Moscow, Russian Federation*

[d] *N.I. Pirogov Russian State National Research Medical University, Moscow, Russian Federation*

[e] *Emanuel Institute of Biochemical Physics of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation*

[f] *Department of Chemistry, M. V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation*

[#] *e-mail: s.tsybenova@gmail.com*

The high efficiency of using thermogeliox (inhalation with a high-temperature mixture of helium and oxygen) in the treatment of patients affected by COVID-19 is shown. The dynamics of accumulation of IgG, IgM and C-reactive protein (CRP) in patients with coronavirus infection in the "working" and control groups was experimentally studied. It is shown that thermogeliox intensifies the synthesis of IgG, IgM antibodies and CRP, while eliminating the induction period on the kinetic curves of the synthesis of specific antibodies in IgG form and transfers the synthesis of CRP to a fast phase. The experiment results confirm the previously obtained data based on the analysis of the kinetic model of the development of coronaviral infection in the human body.

Keywords: coronavirus, kinetic model, thermogeliox, immunoglobulin G, immunoglobulin M, C-reactive protein, thermovaccination