

На правах рукописи

ЮРЛОВ КИРИЛЛ ИВАНОВИЧ

**РОЛЬ ГЕРПЕСВИРУСОВ В ТЕЧЕНИИ И ИСХОДЕ
ХРОНИЧЕСКИХ ГЕПАТИТОВ, ПРОСТАТИТОВ И COVID-19**

1.5.10 Вирусология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Москва - 2024

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России)

Научный руководитель:

Куш Алла Александровна - доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной инженерии ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России.

Официальные оппоненты:

Карганова Галина Григорьевна – доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией биологии арбовирусов федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

Туполева Татьяна Алексеевна – доктор медицинских наук, заведующая отделом вирусологии, заведующая отделением инфекционной безопасности трансфузий федерального государственного бюджетного учреждения "Национальный медицинский исследовательский центр гематологии" Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова".

Защита диссертации состоится «17» марта 2025 года в 12.00 часов на заседании Диссертационного совета 21.1.018.02 при ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава РФ по адресу: 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 16.

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава РФ (123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 18) и на сайте Центра www.gamaleya.org.

Автореферат разослан « ____ » _____ 202 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук

Е.И. Бурцева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы и степень её разработанности.

Герпесвирусы человека (ГВЧ) – представители семейства *Orthoherpesviridae*, широко распространены в человеческой популяции, антитела к ГВЧ определяют у 40-100% населения, в зависимости от региона и социально-экономического статуса страны. У большинства иммунокомпетентных лиц герпесвирусные инфекции (ГВИ) протекают бессимптомно, в то время как у лиц, имеющих сниженный иммунитет, они приводят к системным заболеваниям с тяжелыми осложнениями и высокой смертностью [Plotkin S.A. et al., 2019; Cole S. et al., 2020]. Данных о роли ГВИ в течении и исходе хронических воспалительных заболеваний (ХВЗ) недостаточно, а имеющиеся результаты противоречивы. В связи с этим в работе изучено присутствие ДНК ГВЧ (вируса Эпштейна-Барр (ВЭБ), цитомегаловируса (ЦМВ), вирус герпеса человека 6 типа (ВГЧ-6)) у пациентов с двумя широко распространенными и социально значимыми ХВЗ – хроническими гепатитами и хроническим простатитом, и проведен анализ возможной ассоциация ГВЧ с тяжестью заболевания.

Основными этиологическими агентами хронических гепатитов являются вирусы гепатитов (А, В, С, D, E). Согласно опубликованным данным, парентеральными гепатитами, вызываемыми вирусом гепатита В (ВГВ) и вирусом гепатита С (ВГС), страдают приблизительно 400 млн человек во всем мире, и от 1 до 4 млн человек ежегодно умирают [Zarrin A. et al., 2023]. Задача, поставленная ВОЗ – «ликвидация гепатитов к 2030 г.», пока далека от решения. Это связано с недостаточно эффективным лечением гепатита В и с отсутствием вакцин против гепатита С. Количество пациентов с хроническими гепатитами увеличивается, и это создает условия для развития цирроза печени и гепатоклеточной карциномы. При воспалительных заболеваниях печени нередко обнаруживают ГВЧ [Bunchorntavakul C. et al., 2020; Villar L.M. et al., 2024], однако вопрос о том, могут ли ГВИ влиять на течение гепатитов, остается спорным [Li M. et al., 2024; Bouare N., 2022]. В связи с этим изучение распространения и количественный анализ ГВЧ у пациентов с хроническими гепатитами, а также оценка влияния ГВЧ на тяжесть заболевания и его исходы является актуальной проблемой.

Серьезной медицинской и социальной проблемой являются ХВЗ уrogenитального тракта (УГТ), в том числе – хронический простатит (ХП), следствием которого может быть мужское бесплодие [Доста Н.И. и др., 2014]. За последние десятилетия заболеваемость ХП увеличилась на 30,3%, мужским бесплодием – на 38,5%

[Аполихин О.И. и др., 2019]. Однако этиология бесплодия остается неопределенной более чем у 50% пациентов [Cannarella R. et al., 2020; Sharma A. et al., 2021]. Лечение ХП и мужского бесплодия крайне затруднено и часто неэффективно, особенно при абактериальном хроническом простатите/синдроме хронической тазовой боли ША (ХП/СХТБ ША), составляющем 90% всех случаев ХП. Для оценки влияния ГВИ на ХП и мужское бесплодие в работе изучено распространение и вирусная нагрузка ГВЧ (ВЭБ, ЦМВ, ВГЧ-6) в эякуляте, секрете предстательной железы и в уретре у пациентов с ХП/СХТБ ША. Выяснение ассоциации мужского бесплодия с ГВИ является актуальной задачей, так как открывает перспективы разработки противовирусных схем лечения, направленных на восстановление мужской фертильности, повышение качества жизни населения и улучшение демографической ситуации в стране.

Появление нового коронавируса SARS-CoV-2 вызвало пандемию острого респираторного воспалительного заболевания – COVID-19 и унесло жизни около 7 миллионов человек. Особенно опасен SARS-CoV-2 для пожилых людей и пациентов с сопутствующими заболеваниями. В ряде работ описано обнаружение ГВЧ у пациентов с COVID-19 [Narasimhan M. et al., 2023; Barakat E.F. et al., 2023]. Однако влияние коинфекции SARS-CoV-2 и ГВЧ на течение и исход COVID-19 остается недостаточно изученным. В связи с этим анализ ГВЧ в аутопсийных материалах от пациентов с летальным исходом COVID-19 может помочь оценить вклад ГВИ в развитие острых респираторных заболеваний и разработать комплексное лечение тяжелых форм заболевания.

Лечебные препараты против ГВИ характеризуются рядом недостатков: относительно высокой токсичностью, широким спектром побочных действий. В настоящее время ведется разработка новых препаратов против ГВИ, среди которых производные фуллерена C_{60} и недавно полученный дисперсный фуллерен dC_{60} . Изучение противовирусных свойства и механизмов действия dC_{60} в инфицированных клетках покажет возможность использования этих наночастиц в медицине. Показано, что ЦМВ часто реактивируется при ВИЧ-1 инфекции, и коинфекция может вызывать тяжелые последствия [Yindom L.M. et al., 2019], а также – смерть [Pavlinac P.V. et al., 2022]. В связи с этим, актуальной является разработка терапевтических средств, которые одновременно направлены на подавление обоих патогенов. Такие соединения позволят уменьшить тяжесть течения болезни, повысить эффективность терапии и снизить риск смертельных исходов.

Цель исследования. Оценить роль герпесвирусных инфекций при хронических гепатитах, воспалительных заболеваниях

урогенитального тракта мужчин и при COVID-19, а также изучить противовирусные свойства дисперсного фуллерена C_{60} и гетеродимеров в отношении ЦМВИ.

Задачи исследования:

1. Изучить влияние герпесвирусов ВЭБ, ЦМВ, ВГЧ-6 на течение хронических гепатитов.

2. Провести анализ распространения и уровень ДНК ГВЧ в клинических материалах из уrogenитального тракта (УГТ) мужчин с абактериальным ХП и нарушениями фертильности и оценить действие противовирусной терапии на проявление симптомов ХП и фертильность.

3. Определить частоту встречаемости и концентрацию ДНК ГВЧ в аутопсийных материалах из органов пациентов, умерших с подтверждённым диагнозом COVID-19.

4. Изучить действие дисперсного фуллерена dC_{60} и производных фуллерена C_{60} в отношении ЦМВИ и влияние dC_{60} на жизненный цикл ЦМВ в фибробластах человека, инфицированных ЦМВ *in vitro*.

5. Определить способность гетеродимеров проявлять противовирусную активность в отношении ЦМВ в клеточных культурах.

Научная новизна. Обнаружено присутствие ДНК ГВЧ в биоптатах печени пациентов с вирусными гепатитами В и С, а также в печени пациентов с неустановленной причиной хронического гепатита. Показано ухудшение клинического состояния и более частое развитие цирроза печени у больных с гепатитами в сочетании с инфекцией ГВЧ по сравнению с пациентами без ГВЧ.

Показана высокая частота распространения ДНК ГВЧ в УГТ пациентов с абактериальным хроническим простатитом (ХП/СХТБ ША), в том числе ассоциированным с бесплодием. Впервые установлено, что противовирусные препараты валацикловир и интерферон альфа-2b значительно снижают концентрацию или вызывают элиминацию ДНК ГВЧ из УГТ и восстанавливают фертильность у значительной части больных ХП/СХТБ ША.

Впервые обнаружены ГВЧ: ВЭБ, ЦМВ и ВГЧ-6, а также вирус простого герпеса (ВПГ) и вирус Варицелла-Зостер (ВЗВ) в аутопсийных материалах из 5 органов (печень, легкие, лимфоузлы, селезенка и головной мозг) у пациентов с летальным исходом COVID-19. Установлена высокая концентрация ДНК ГВЧ в аутопсийных материалах, что указывает на возможную роль реактивации ГВЧ в исходе COVID-19.

Впервые показаны противовирусные свойства дисперсного фуллерена dC_{60} и изучены механизмы противовирусного действия dC_{60} в модельной клеточной системе ЦМВИ *in vitro*.

Впервые установлена противовирусная активность гетеродимеров в отношении ЦМВ *in vitro*.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Теоретическая значимость работы заключается в том, что обнаруженная высокая частота встречаемости и высокое содержание ДНК герпесвирусов у пациентов с острыми и хроническими воспалительными заболеваниями разной этиологии указывает на возможную реактивацию герпесвирусов, ассоциацию с более тяжелым течением болезни и с риском развития летальных исходов.

Результаты диссертационной работы свидетельствуют о необходимости включения в алгоритмы обследования пациентов с гепатитами разной этиологии, пациентов с хроническими простатитами ХП/СХТБ ША и пациентов с тяжелым течением острого респираторного заболевания COVID-19 количественного анализа ДНК ГВЧ и, в случае обнаружения ДНК в высоких концентрациях, использования противовирусной терапии.

Показана перспективность дисперсного фуллерена dC_{60} , а также гетеродимеров для разработки на их основе новых препаратов для терапии ЦМВИ.

Внедрение полученных результатов в практику. Результаты работы внедрены в диагностический и терапевтический алгоритм ведения пациентов с хронической герпесвирусной инфекцией в Медицинском научном центре общества с ограниченной ответственностью "Скрин Доктор" (ООО МНЦ «Скрин Доктор»). Работа проводится в соответствии со стандартами оказания медицинской помощи Департамента здравоохранения г. Москвы.

Основные научные положения, выводы и рекомендации диссертационной работы внесены в учебный курс аспирантов, обучающихся по направлению подготовки «1.5.10. Вирусология» в Федеральном государственном бюджетном учреждении "Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи" министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России).

Оптимизирован и внедрен в лабораторную практику ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России метод определения цитотоксичности производных фуллерена C_{60} . Значения трех параметров цитотоксичности внесены в базу данных РФ (свидетельство о государственной регистрации базы данных № RU2019620936, 2019).

Методология и методы исследования. Методологической основой исследования послужили современные подходы к анализу теоретических и прикладных проблем вирусологии и применение комплекса экспериментальных методов вирусологии. В работе использованы также методы иммунологии, иммуноцитохимии, актуальные методы молекулярной биологии и методы прикладной статистики.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. ГВЧ увеличивают тяжесть течения гепатитов разной этиологии по клиническим, гистологическим, вирусологическим и биохимическим показателям, а также усложняет лечение гепатитов.

2. ГВЧ могут быть этиологическими факторами, в том числе единственными, хронического абактериального простатита ХП/СХТБ ША. Препараты, специфичные в отношении ГВИ, улучшают качество жизни и повышают фертильность мужчин с ХП/СХТБ ША, инфицированных ГВЧ.

3. ГВЧ обнаружены в аутопсийных материалах из печени, легких, лимфоузлов, селезенки и головного мозга у большинства пациентов, скончавшихся с подтверждённым диагнозом COVID-19, что может указывать на негативное влияние ГВЧ на исход заболевания у больных COVID-19.

4. Дисперсный фуллерен dC₆₀ характеризуется низкой цитотоксичностью по сравнению со стандартными препаратами против ГВИ и обладает противовирусными свойствами в отношении ЦМВИ в микробицидной, профилактической и терапевтической схемах воздействия в модельной системе ЦМВИ in vitro.

5. Гетеродимерные конъюгаты, состоящие из производных азидотимидина (AZT) и 1-[ω-(фенокси)алкил]урацила, эффективно подавляют инфекционную активность ЦМВ в культуре клеток человека.

Степень достоверности результатов. Достоверность полученных результатов обусловлена использованием достаточного объема фактического материала, применением адекватных поставленным задачам методов исследования и использованием современных методов статистической обработки экспериментальных данных. Надежность результатов была обеспечена статистической обработкой полученных результатов при уровне значимости <0,05.

Апробация результатов. Апробация диссертации состоялась 6 февраля 2024 года на научной конференции Совета по предварительной экспертизе диссертационных работ по проблемам «Молекулярная биология» и «Общая вирусология и инфекционные болезни» подразделения «Институт вирусологии им. Д.И.

Ивановского» ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России (Протокол №49).

Основные результаты работы были представлены на следующих научных мероприятиях: «Конгресс с международным участием Гармонизация подходов в фармацевтической разработке» – Москва, Российский университет дружбы народов, 2018, «Молекулярная диагностика и биобезопасность 2022», – Москва, 2022, «XVI Всероссийский съезд национального альянса дерматовенерологов и косметологов» – Москва, 2023, «XV Ежегодный Всероссийский Конгресс по инфекционным болезням имени академика В.И. Покровского» – Москва, 2023.

Декларация личного участия автора. Основной объем исследований выполнены автором лично. Материалы для исследования предоставлялись сотрудниками Государственного бюджетного учреждения здравоохранения города Москвы «Инфекционная клиническая больница № 1 Департамента здравоохранения города Москвы» (ГБУЗ «ИКБ №1 ДЗМ») д.м.н. Кистенёвой Л.Б., к.м.н. Хлоповой И.Н. и сотрудником Академии постдипломного образования Федерального государственного бюджетного учреждения «Федерального научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико биологического агентства» (Академия постдипломного образования ФГБУ ФНКЦ ФМБА России) д.м.н. Ковальком В.П. Электронномикроскопические исследования сперматозоидов проведены сотрудницей Федерального государственного бюджетного научного учреждения "Медико-генетического научного центра имени академика Н.П. Бочкова" (ФГБНУ «МГНЦ») д.б.н. Брагиной Е.Е.. Дифференциальная диагностика вирусных гепатитов и генотипирование вирусов были выполнены сотрудником ФГБУ "НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи" Минздрава РФ Самохваловым Е.И. Оценка степени фиброза печени у больных хроническим гепатитами была проведена сотрудницей ГБУЗ «ИКБ №1 ДЗМ» Келли Е.И. Самостоятельно проведен анализ и интерпретация полученных результатов; лично или при непосредственном участии автора подготовлены публикации по материалам исследования. Суммарное личное участие автора в работе составляет не менее 70%.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Основные научные положения диссертации соответствуют пунктам 6, 10, 11 паспорта научной специальности 1.5.10. «Вирусологии».

Публикации. По результатам диссертационной работы опубликовано 14 работ: 9 статей, в том числе 6 статей в журналах,

рекомендуемых ВАК, 5 статей в scopus, 3 статьи в зарубежных журналах, 4 тезисов докладов в сборниках материалов российских и международных конференций, а также оформлено свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2019620936 «Цитотоксические свойства производных фуллерена C₆₀», дата государственной регистрации в Реестре баз данных 03 июня 2019 г.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 154 страницах и включает: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты собственных исследований, обсуждение, выводы, перечень условных обозначений, библиографический список литературы, включающий 178 источников, в том числе 17 отечественных и 161 зарубежных, а также 1 приложение. Работа иллюстрирована 14 таблицами и 34 рисунками.

СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалы и методы. Дизайн исследования. Пациенты. Работа состоит из четырех частей. На Рисунке 8 схематически представлены сведения о каждой из четырех частей. Первая часть (I) направлена на выяснение инфицированности ГВЧ больных гепатитами и определение связи герпесвирусных инфекций с состоянием больных. Вторая часть (II) посвящена изучению вклада ГВЧ в хронические воспалительные заболевания урогенитального тракта мужчин – хронические простатиты/синдром хронических тазовых болей ПА и оценке результатов специфического противовирусного лечения. Третья часть (III) содержит данные сравнительного количественного анализа ДНК ГВЧ в органах пациентов с летальным исходом COVID-19 и в органах пациентов, скончавшихся от неинфекционных заболеваний для определения роли ГВЧ в исходе COVID-19.

Проведение исследования влияния ГВЧ на течение и прогноз вирусных гепатитов и гепатитов неуточнённой этиологии было одобрено локальным этическим комитетом ГБУЗ «ИКБ №1 ДЗМ» в 2017 г, протокол от 15 декабря 2021 г. №6. Исследование влияния ГВЧ на заболевания урогенитального тракта мужчин было одобрено локальным этическим комитетом Академии постдипломного образования ФГБУ ФНКЦ ФМБА России, протокол от 25 декабря 2020 г. № 21. Проведение исследования влияния ГВЧ на течение COVID-19 было одобрено локальным этическим комитетом ГБУЗ «ИКБ №1 ДЗМ» в 2017 г, протокол от 15 декабря 2021 г. №6.

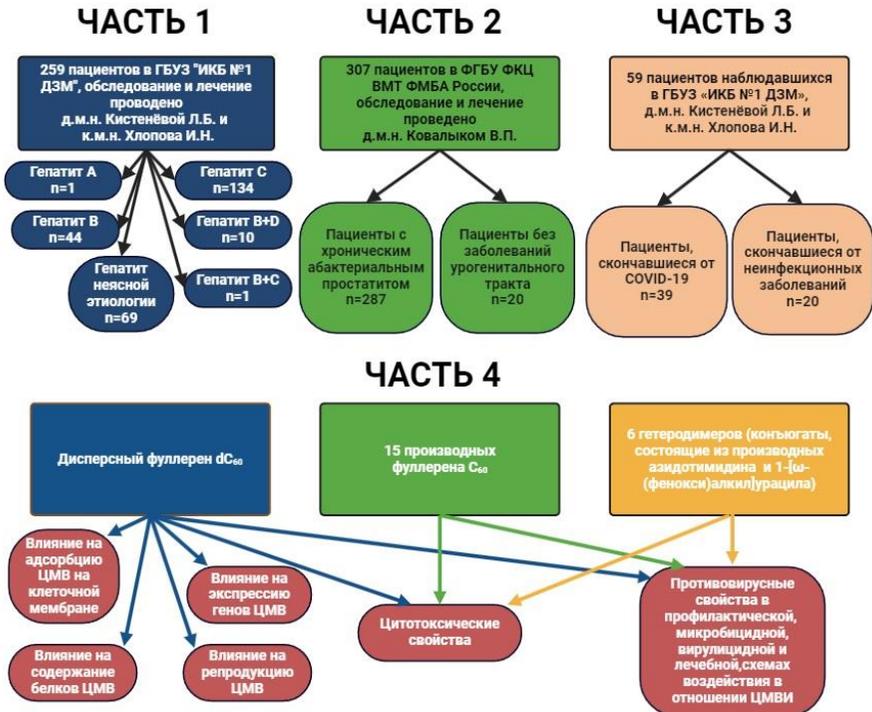


Рисунок 1 – Дизайн исследования.

Клинические материалы. Образцы периферической крови (ПК) после забора от больных с ХГС и ОГС сразу доставлялись в лабораторию. Мононуклеарные клетки периферической крови (МКПК), выделяли в градиенте фиколла (Ficoll-Paque, "Pharmacia", Швеция). Архивные материалы (МКПК и образцы пункционной биопсии печени), полученные из коллекции лаборатории, хранились при -20°C без повторных циклов замораживания-размораживания. Все пациенты были обследованы стандартными клинико-биохимическими и инструментальными методами.

Пробы из УГТ мужчин (СПЖ, мазки из уретры, эякулят) и цельная кровь сразу после отбора доставлялись в лабораторию. Выделение ДНК и постановка ПЦР в реальном времени выполнялись сразу при поступлении проб.

Аутопсийные материалы были получены из головного мозга, печени, селезёнки, лимфоузлов и лёгких от 39 пациентов с летальным исходом COVID-19. Сходным образом были получены аутопсийные образцы от 20 пациентов, умерших без COVID-19 (группа

сравнения). Образцы сразу замораживались и хранились при -70°C без размораживания до исследования.

Определение ДНК герпесвирусов методом ПЦР. ДНК выделяли из клинического материала с использованием наборов реагентов «ДНК-сорб-В» или «РИБО ПРЕП» (Интерлабсервис, Москва). Использовали наборы реагентов для качественного выявления ДНК ВПГ-1,2 и ВЗВ, а также наборы для количественного определения ДНК ВЭБ, ЦМВ и ВГЧ-6 (Интерлабсервис, Москва). Аналитическая чувствительность тест-системы составляла 5 копий/ 10^5 клеток (цельная кровь, МКПК, образцы биоптатов) или 400 копий/мл (эякулят, соскоб из уретры, СПЖ, сыворотка). Ген β -глобина использовали в качестве внутреннего контроля.

Дифференциальная диагностика вирусных гепатитов осуществлялась на основании общепринятых эпидемиологических, вирусологических и клинико-лабораторных критериев, а также исключения других этиологических факторов согласно национальным стандартам и рекомендациям ВОЗ. Серологическое определение маркеров вирусных гепатитов проводили методами иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием тест-систем (Roche Cobas e8000 602, Roche Diagnostics, Швейцария). ДНК ВГВ и РНК ВГС определяли методом ПЦР в соответствии с инструкциями производителя (Интерлабсервис, Москва).

Спектр антител к отдельным белкам ВГС в ПК больных с хроническим гепатитом С (ХГС) определяли с помощью тест-системы "ИФА-анти-ВГС-спектр" ("Диагностические системы", Нижний Новгород).

Концентрацию core-белка в сыворотке крови определяли с использованием Roche Cobas e8000 602 ("Roche Diagnostics", Швейцария).

Белки ВГС в гепатоцитах выявляли в криостатных срезах печени путем иммунопероксидазного окрашивания с использованием смеси моноклональных антител (МКА) к белкам ВГС. Подсчитывали количество окрашенных клеток и определяли их долю в общей популяции клеток.

Функциональную активность печени оценивали по уровню аминотрансфераз АЛТ и АСТ в сыворотке крови. Индекс гистологической активности (ИГА) и индекс фиброза (ИФ) оценивали в баллах по системе METAVIR.

Клеточная культура фибробластов лёгкого эмбриона человека (ФЛЭЧ) была получена из банка клеточных культур ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» МЗ РФ.

Вирус. ЦМВ штамм AD169 был получен из Государственной коллекции вирусов ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» МЗ РФ.

Определение инфекционной активности ЦМВ выполняли методом «чёрных» бляшек [Klimova R. et al., 2019].

Цитотоксические свойства соединений определяли методом исключения витального красителя трипанового синего. Острую цитотоксичность (ОЦД₅₀) оценивали спустя 24 часа после внесения веществ, хроническую цитотоксичность (ЦД₅₀) – на третьи сутки (72 ч), максимально переносимую дозу – спустя семь суток после внесения веществ. Определяли отношение жизнеспособных (не окрашенных) клеток к количеству всех клеток и выражали в %.

Активность соединений против ЦМВ инфекции изучали в четырех схемах воздействия *in vitro*: в микробицидной (имитирующей экстренную профилактику), в классической профилактической, в терапевтической и в вирулицидной (характеризующей нейтрализующую активность вируса) как описано [Klimova R. et al., 2019].

Определяли 50% ингибирующие дозы (ИД₅₀) для каждого соединения, приводящие к уменьшению количества клеток, содержащих вирусные белки, на 50% по отношению к контрольным клеткам. Химиотерапевтический индекс (ХТИ), другое название – индекс селективности, рассчитывали, как отношение ЦД₅₀ к ИД₅₀.

Влияние dC₆₀ на адсорбцию ЦМВ на клеточной мембране и на проникновение в клетку изучали как описано [Paeschke R. et al., 2011].

Белки ЦМВ выявляли методом иммуноблоттинга как описано [Fedorova N.E. et al., 2019].

мРНК вирусных генов определяли методом ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) как описано [Klimova R. et al., 2019].

Статистический анализ проведен с использованием теста Манна-Уитни, парного теста Уилкоксона, точных тестов χ^2 и Фишера, двухстороннего t-критерия Стьюдента, а также теста нормальности Колмагорова. Для подсчетов использовали пакет STATISTIKA 12.6 (StatSoft Inc., Tulsa, США). Различия считали значимыми при $p < 0,05$. Для создания графиков использовалось программное обеспечение Prism 7 (GraphPad7, SanDiego, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние ГВЧ на течение и прогноз гепатитов разной этиологии было изучено совместно с сотрудниками клинического отдела ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» МЗ РФ д.м.н. Кистенёвой Л.Б. и к.м.н. Хлоповой И.Н. ДНК ВЭБ, ЦМВ и ВГЧ-6 определяли методом ПЦР в реальном времени в периферической крови.

Герпесвирусы были обнаружены у 31/259 (12%) пациентов, более часто встречался ВЭБ – у 19/31 пациентов (61%). При гепатите неясной этиологии ГВЧ были определены в ПК у 7/69 пациентов, что по частоте встречаемости (10,1%) не отличалось от таковой при вирусных гепатитах: 15,9% при гепатите В и 12,7% при гепатите С ($p > 0,05$).

Анализ клинико-лабораторных данных проведен у 85 пациентов, поступивших в 2020 году с гепатитами. У 8 пациентов были обнаружены ГВЧ (группа 1), у 77 пациентов отсутствовали маркёры ГВИ (группа 2). Все пациенты с вирусными гепатитами получали базовое и противовирусное лечение. В результате курса терапии признаки улучшения состояния (нормализация уровня ферментов печени, билирубина, купирование астенического синдрома и нормализация размеров печени и селезенки) были отмечены у 2/8 (25%) пациентов в группе 1 и у 33/77 (42,8%) в группе 2 ($p > 0,05$). Ухудшение состояния (усиление симптомов некроза печени и печеночной недостаточности, повышение уровня ферментов печени) наблюдалось у 25% пациентов с коинфекцией ГВЧ и только у 1,3% без ГВЧ ($p < 0,05$). Цирроз печени (серьезное и часто неизлечимое следствие хронических гепатитов) был диагностирован у каждого второго пациента с гепатитом в сочетании с ГВЧ и реже – у 15,6% пациентов без ГВЧ ($p < 0,05$) (Рисунок 2).

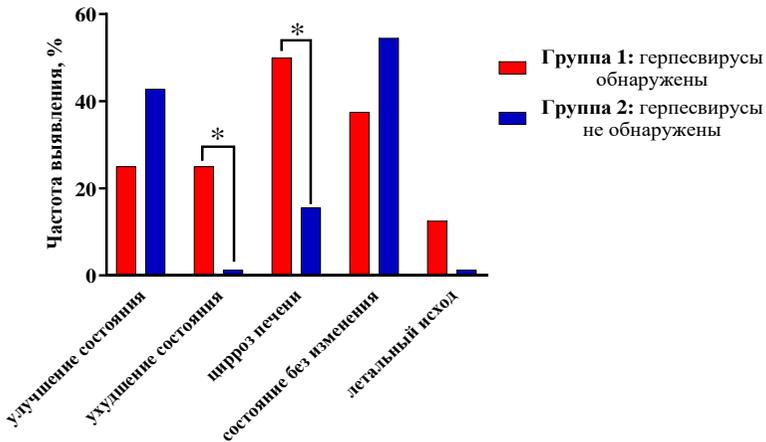


Рисунок 2 – Изменения клинического состояния у пациентов с вирусными гепатитами и гепатитом неустановленной этиологии в результате терапии при коинфекции герпесвирусами и без неё. * – $p < 0,05$.

Пациенты с ХГС, составлявшие 51,7% (134/259), были обследованы более подробно. Кроме того, были изучены архивные материалы от 118 пациентов с ХГС: образцы МКПК и биопсии печени, которые длительно хранились при -20°C .

Герпесвирусы реже выявлялись в сыворотке крови (у 6/55 пациентов, 10,9%) по сравнению с биоптатами печени (у 24/62 пациентов, 38,7% ($p < 0,05$)). Печень является основным органом-мишенью ВГС, геном ВГС может длительно сохраняться в гепатоцитах и реплицироваться [Machlin E.S. et al., 2011]. В образцах печени превалировал ВГЧ-6. Важно отметить, что концентрации ДНК ВГЧ-6 составляли от 237 до 43575 копий на 10^5 клеток, причем в 14/21 проб (67%) концентрации превышали 1000 копий на 10^5 клеток, что оценивается как клинически значимые величины. ВГЧ-6 инфицирует в основном Т клетки, в том числе резидентные, способен интегрироваться в хромосомы человека и реактивироваться, вызывая различные заболевания [Pantry S.N. et al., 2017; Gabrielli L. et al., 2023]. Для оценки участия ГВЧ в развитии гепатита изучали показатели обследованных пациентов.

Демографические и вирусологические показатели. Пациенты с ГВЧ (группа 1) и без ГВЧ (группа 2) не различались по возрасту, длительности заболевания и внутривенному употреблению наркотиков. Статистически значимые различия обнаружены по полу: среди пациентов с ГВЧ (группа 1) было больше мужчин 23/30 (76,7%) по сравнению с группой 2: 35/67 (52,2%) ($p < 0,05$). У пациентов с ГВЧ частота встречаемости геномной (+) РНК ВГС в сыворотке крови превышала частоту встречаемости у пациентов без ГВЧ в 1,6 раз ($p < 0,05$) (Рисунок 3); антитела к белку NS5A выявлялись в 1,5 раза чаще, чем в группе без конфекции ($p < 0,05$) (Рисунок 3). Показано, что антитела к этой области вирусного генома ассоциируются с более тяжелым течением ХГС [Масалова О.В. и др., 2003]. Концентрация core-белка ВГС в сыворотках крови пациентов с ХГС оказалась в 3 раза выше у пациентов группы 1 по сравнению с группой 2 (Рисунок 3). Выявление повышенных концентраций core-белка в циркуляции свидетельствует об активной ВГС инфекции и может использоваться в диагностике активного гепатита С [Sepúlveda-Crespo D. et al., 2023].

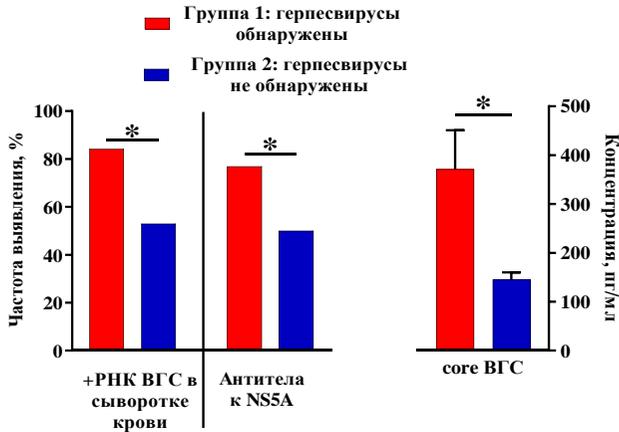


Рисунок 3 – Частота выявления геномной (+) РНК ВГС, антител к белку ВГС NS5A, концентрация core-белка ВГС в сыворотке крови пациентов в зависимости от выявления ДНК ГВЧ. * – $p < 0,05$.

Показатели активности гепатита у больных хроническим гепатитом С, инфицированных герпесвирусами. Сравнение уровней ферментов печени показало, что пациентов с постоянно нормальным уровнем АЛТ (< 40 U/L) в группе 2 было в два раза больше 35/67 (52,2%), чем в группе 1 – 8/30 (26,7%), $p < 0,05$. Количество пациентов с показателем индекса фиброза, составляющим 3 и более, в присутствии ГВЧ в 2 раза превышало таковой у пациентов без ГВЧ, хотя различие не достигало статистической значимости ($p > 0,05$). Эти данные указывают на негативное влияние ГВЧ на показатель активности печени. Изучена частота выявления белков ВГС в гепатоцитах пациентов с ХГС. Иммуногистохимический анализ криостатных срезов печени показал статистически значимое увеличение количества клеток, содержащих белки ВГС в печени пациентов, коинфицированных ГВЧ (15,1%) по сравнению с неинфицированными ГВЧ (4,6%) ($p < 0,05$) (Рисунок 4). Белки ВГС могут вызывать гибель клеток [Masalova O.V. et al., 2017] и повреждение печени [Wang K., 2015], Обнаруженное нами увеличение содержания белков ВГС в гепатоцитах при коинфекции ВГС и ГВЧ, свидетельствует о вкладе ГВЧ в воспаление печени и прогрессирование хронического гепатита С.

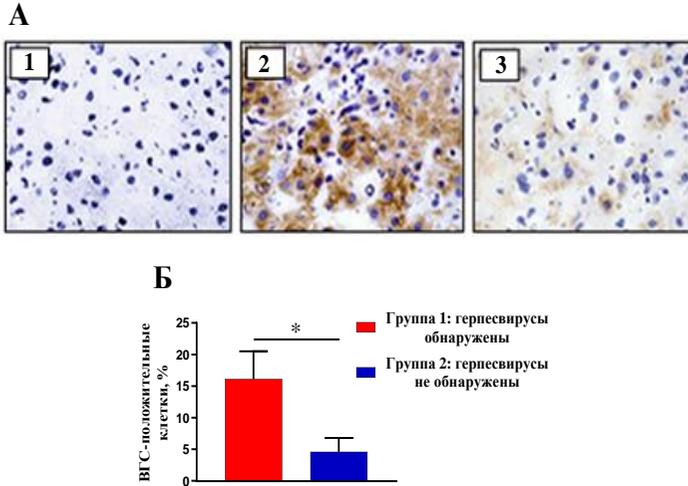


Рисунок 4 – Сравнительный анализ частоты выявления белков ВГС в гепатоцитах пациентов с ХГС и коинфекцией ГВЧ и без ГВЧ. А. Иммуногистохимическое выявление белков ВГС в криостатных срезах печени смесью МКА к белкам ВГС. 1 – МКА к НВsAg (отрицательный контроль); 2 – пациент с ХГС, инфицированный ГВЧ; 3 – пациент с ХГС, не инфицированный ГВЧ. Коричневое окрашивание – локализация белков ВГС, синее окрашивание – ядра клеток. (Б) Количество клеток печени, содержащих белки ВГС, у пациентов с ХГС, в зависимости от выявления ГВЧ. * – $p < 0,05$.

Полученные данные позволяют заключить, что ГВЧ негативно влияют на состояние пациентов с хроническими гепатитами и исход заболевания. Об этом свидетельствуют: 1 – повышенная частота обнаружения геномной РНК ВГС в ПК; 2 – значительное увеличение концентрации core-белка ВГС в ПК; 3 – увеличенное количество гепатоцитов, содержащих белки ВГС; 4 – повышенный уровень антител к NS5A ВГС; 5 – снижение доли пациентов с нормальными уровнями АЛТ; 6 – ухудшение состояния у пациентов с ГВЧ по сравнению с пациентами без ГВЧ на фоне терапии; 7 – количество пациентов с показателем индекса фиброза, составляющим не менее 3, в присутствии ГВЧ в 2 раза превышало таковой у пациентов без ГВЧ; 8 – развитие цирроза печени в 3 раза чаще наблюдалось у пациентов с гепатитами, коинфицированных ГВЧ.

Полученные результаты указывают на необходимость включения анализа маркёров ГВЧ в обследование пациентов с

вирусными гепатитами и гепатитами неуточнённой этиологии, а при положительных результатах - на целесообразность применения специфической противогерпесвирусной терапии. Это может улучшить эффективность лечения пациентов с хроническими гепатитами и значительно снизить количество летальных исходов.

Оценка роли герпесвирусов при хроническом простатите / синдроме хронической тазовой боли (ХП/СХТБ ША). Работа проводилась совместно с сотрудником Академии постдипломного образования ФМБА России д.м.н. Ковальком В.П. В исследование было включено 287 пациентов с диагнозом ХП/СХТБ ША. Методом ПЦР в реальном времени выявляли ДНК ВЭБ, ЦМВ и ВГЧ-6 в трех пробах из УГТ тракта каждого пациента: эякулят (сперма), СПЖ и соскоб из уретры. У 103/287 (35,9%) пациентов хотя бы в одном клиническом материале были обнаружены ГВЧ. Анализ трех проб от каждого из 103 ГВЧ-положительных пациентов показал, что частота определения ГВЧ составила в пробах эякулята 11,6%, в СПЖ – 22%, в соскобе из уретры – 24%. Концентрации ДНК ГВЧ, превышавшие клинически значимые 1000 копий на 10^5 клеток, обнаружены у 29% пациентов. Это свидетельствует о реактивации ГВЧ в УГТ части мужчин с ХП. В качестве контроля обследовали 20 здоровых мужчин. Ни у одного из мужчин ДНК ГВЧ в эякуляте не была обнаружена.

Для оценки роли ГВЧ при ХП и при мужском бесплодии важны результаты изучения параметров спермы. Показано, что присутствие ЦМВ в мужских половых клетках и в сперме оказывает прямое гаметотоксическое действие [Науменко В.А. и др., 2013]. Обследование 1460 пациентов с бесплодием [Yas A. et al., 2023] установило ассоциацию ГВЧ со снижением основных показателей спермы. Имеющиеся данные ставят вопрос о целесообразности использовании противовирусного лечения ХП/СХТБ ША. В настоящей работе проведено сравнение результатов лечения пациентов с ХП/СХТБ ША, инфицированных ГВЧ, специфическими препаратами против герпесвирусов, с результатами стандартной терапии, включающей антибиотики.

Пациентов, разделили на 2 группы: группа 1 – 64 пациентов с абактериальным ХП, инфицированных ГВЧ, получавших валацикловир и интерферон альфа-2b; группа 2 – 184 пациентов с абактериальным ХП без ГВЧ, получавших стандартную терапию – антибиотик левофлоксацин, тамсулозин и диклофенак.

От пациентов первой группы были получены 131 образцов из УГТ, содержащих вирусную ДНК. В результате терапии валацикловиром и интерфероном альфа-2b количество образцов с ДНК ГВЧ снизилось в группе 1 на 66,4% ($p < 0,05$). Наибольшие

концентрации вирусных ДНК обнаруживались в соскобе из уретры (более 3500 копий/ 10^5 клеток). В результате терапии вирусная нагрузка в группе 1 в эякуляте, СПЖ и уретре уменьшилась в 80, 75 и 180 раз соответственно. Изменения вирусной нагрузки статистически значимы до- и после- лечения ($p < 0,05$) (Рисунок 5).

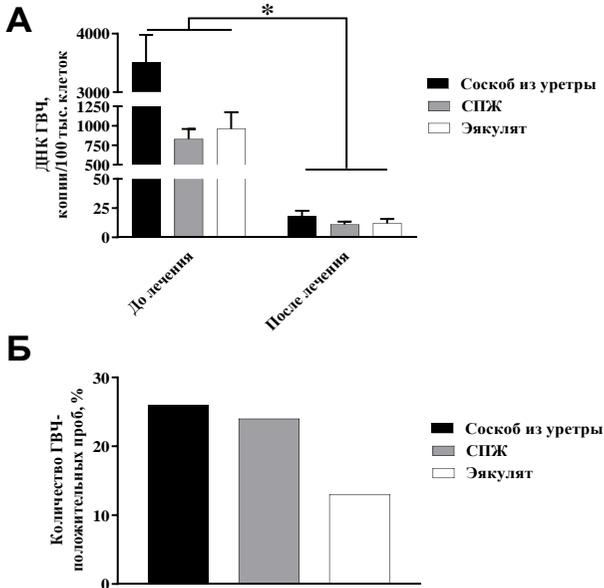


Рисунок 5 – А. Изменения концентрации ДНК ГВЧ у пациентов 1 группы после лечения. Б. количество ГВЧ-положительных проб. СПЖ – секрет предстательной железы. * – $p < 0,05$.

Одним из важных показателей эффективности лечения является динамика клинических симптомов, которую определяли, подсчитывая индекс симптомов по шкале NIH-CPSI. Общая оценка по шкале NIH-CPSI в баллах у пациентов группы 1 составила $21,8 \pm 4,7$ баллов до лечения и $8,7 \pm 2,6$ баллов после лечения ($p < 0,05$); у пациентов группы 2 – $18,3 \pm 4,2$ и $10,5 \pm 2,8$ баллов соответственно ($p < 0,05$). Снижение в группе 1 составило 13,1 баллов, в группе 2 - 7,8 баллов ($p < 0,05$). Улучшение по клиническим признакам составило 60,1% в группе 1 и 47,9% в группе 2 ($p < 0,05$). Таким образом, результаты показали большую эффективность специфической противовирусной терапии с валацикловиrom, не уступающей стандартной терапии, а даже превосходящей её.

Ассоциация герпесвирусов с мужским бесплодием.

Обследованы 287 пациентов с ХП/СХТБ ША, у 23 из которых было диагностировано бесплодие. У 8/23 (34,8%) пациентов с бесплодием в пробах из УГТ (эякулят, СПЖ, уретра) были обнаружены ДНК ГВЧ. Пациенты с ГВЧ получали лечение валацикловиrom и интерфероном альфа-2b, пациенты без ГВЧ – стандартную терапию, включающую антибиотик левофлоксацин, тамсулозин и диклофенак. После завершения противовирусной терапии у 3/8 инфицированных пациентов ДНК ГВЧ полностью отсутствовала, у 5 других медианная вирусная нагрузка снизилась в материалах из УГТ с клинически значимых 1770 копий на 10^5 клеток до 48 копий на 10^5 клеток.

Самый важный результат терапии состоял в том, что в течение 6 месяцев после окончания терапии наблюдалось наступление беременности и рождение здоровых детей у 6/8 пар с бесплодием и ГВЧ (75%) и только у 4/10 пар (40%) из группы без ГВЧ, получавших стандартное лечение ($p < 0,05$).

Таким образом, проведенное исследование показало ассоциацию ГВЧ с хроническим воспалительным заболеванием УГТ мужчин – ХП/СХТБ ША. Успешное лечение мужчин с бесплодием, инфицированных ГВЧ, специфическими противовирусными препаратами указывает на роль ГВЧ в этиологии мужского бесплодия. Полученные данные свидетельствуют о необходимости включения анализа ГВЧ в диагностические алгоритмы обследования мужчин с ХП/СХТБ и с бесплодием и, в случае их выявления в клинически значимых концентрациях, использование курса терапии противовирусными химиопрепаратами и препаратами интерферонов.

Обнаружение и количественный анализ ДНК герпесвирусов в аутопсийных образцах от пациентов с летальным исходом COVID-19. Проведено сравнительное исследование посмертных образцов от 39 пациентов, умерших от COVID-19 (группа 1) и от 20 пациентов группы сравнения, у которых РНК SARS-CoV-2 и симптомы COVID-19 обнаружены не были (группа 2). ДНК ГВЧ (ВПГ, ВЗВ, ВЭБ, ЦМВ, ВГЧ-6) определяли в образцах из легких, печени, лимфоузлов, селезенки и головного мозга. Показано, что ГВЧ встречались в органах пациентов обеих групп, и частота встречаемости ГВЧ в группах 1 и 2 не различалась ($p > 0,05$) (Рисунок 6). В обеих группах чаще выявлялись ВЭБ и ВГЧ-6, реже – ВПГ, ВЗВ и ЦМВ ($p < 0,05$) (Рисунок 6). В аутопсийных образцах лёгких, селезёнок и лимфоузлов от пациентов, инфицированных SARS-CoV-2, наиболее часто обнаруживалась ДНК ВЭБ (77%, 67% и 94%, соответственно), а в печени – ВГЧ-6 (68%). Среди пациентов из группы сравнения наиболее часто в легких и печени обнаруживался геном ВГЧ-6 (37% и 85%, соответственно), а в

лимфоузлах, селезенке и головном мозге – геном ВЭБ (88%, 80% и 10%, соответственно).

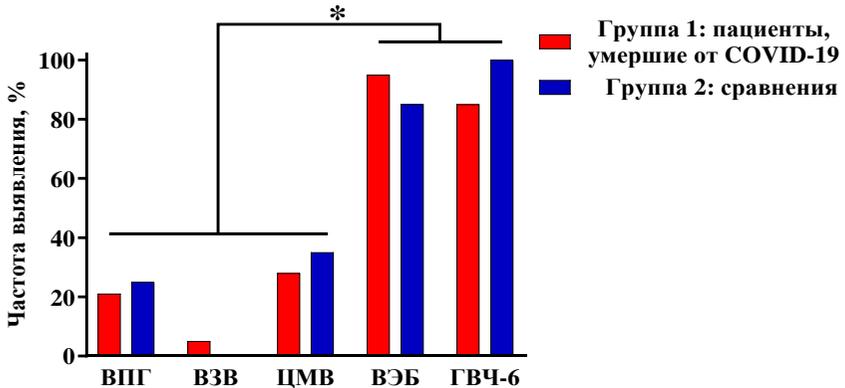


Рисунок 6 – Частота обнаружения герпесвирусов в аутопсийных материалах у пациентов с летальным исходом COVID-19 (группа 1) и умерших без COVID-19 (группа 2). * – $p < 0,05$.

Показателем активности инфекции является вирусная нагрузка. Количественный анализ ДНК ВЭБ, ЦМВ и ГВЧ-6 показал, что в большинстве органов пациентов с COVID-19 медианные концентрации ДНК ВЭБ и ГВЧ-6 были статистически значимо выше, чем в группе сравнения (Рисунок 7). Количество образцов, содержащих более 1000 копий ДНК на 10^5 клеток, у пациентов с COVID-19 было выше – 97/185 (52,4%), чем у пациентов без COVID-19 – 16/96 (16,7%) ($p < 0,001$).

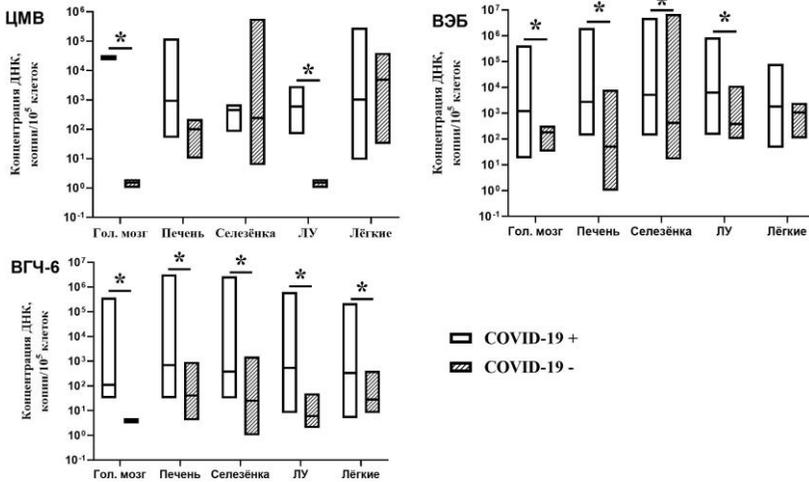


Рисунок 7 – Сравнительный анализ концентрации ДНК герпесвирусов в органах пациентов, умерших с подтвержденным диагнозом COVID-19 (COVID+) и в результате соматических неинфекционных заболеваний (COVID–). ЛУ – лимфоузлы, * – $p < 0,05$. Представлены максимальные и минимальные значения, линии обозначают медианные значения концентрации ДНК ГВЧ.

Для определения факторов риска летальных исходов COVID-19, ассоциированных с ГВЧ, анализировали клинические и лабораторные показатели, полученные при жизни пациентов с COVID-19. Наиболее важные различия определены при анализе результатов компьютерной томографии (КТ) легких и плеврального выпота. Сравнительный анализ показал, что ГВЧ чаще встречались (66,7%) у пациентов со среднетяжелой и тяжелой пневмонией (КТ3-КТ4), и плевральный выпот ассоциировался с высокой вирусной нагрузкой ГВЧ - более 1000 копий ДНК на 10^5 клеток ($p=0,014$). Обнаруженное нами присутствие и высокое содержание ДНК ГВЧ у умерших пациентов с подтвержденным диагнозом COVID-19, согласуется с данными о том, что у умерших пациентов с COVID-19 наблюдаются отек, застойные явления, нарушения структуры органа, приводящие к легочной недостаточности [Osuchowski M.F. et al., 2021]. Кроме того, изучение материалов посмертного вскрытия выявило высокую долю случаев COVID-19 с фиброзом легких, который коррелирует с плохим прогнозом и является необратимым [Edler C. et al., 2020].

Важными являются результаты лабораторного анализа ферментов печени. Повышенный уровень АЛТ и АСТ (> 50 ед./мл) был обнаружен у 19/36 пациентов (53%). Повышение уровня ферментов ассоциировалось с высокой концентрацией ДНК ВЭБ (> 10 тыс. копий на 10^5 клеток) в печени у 6/19 пациентов (32%) и лишь у 1/17 (6%) пациентов, у которых показатели АЛТ и АСТ были в норме ($p=0,05$). Значительное повышение концентрации АЛТ и АСТ свидетельствует о тяжелом поражении печени. Нарушение функций печени обнаруживается у 14-93% пациентов с COVID-19 [Cai Q. Et al., 2020] и его связывают с более высокой смертностью [Salik F. et al., 2021].

Таким образом, мы обнаружили широкое распространение ГВЧ в высоких концентрациях в аутопсийных материалах и показали ассоциацию ГВЧ с тяжелыми поражениями не только в легких, но и в печени пациентов с летальным исходом COVID-19. Эти результаты согласуются с данными о полиорганной природе патологических процессов у тяжелых и критических больных COVID-19 [Peleman S. et al., 2023], которые могут влиять на негативный исход заболевания.

Цитотоксические и противовирусные свойства соединений. Изучена способность соединений двух классов проявлять противовирусную активность против ЦМВИ в клетках культуры. Первый класс соединений – химически синтезированные производные фуллерена C_{60} , а также дисперсный фуллерен dC_{60} ; второй класс соединений – химически синтезированные гетеродимеры, содержащие два компонента (азидотимидин и 1-[ω -(фенокси)алкил]урацил).

Цитотоксические и противовирусные свойства производных фуллерена C_{60} и дисперсного фуллерена dC_{60} . Из 16 изученных соединений низкотоксичными в культуре ФЛЭЧ оказались 5 производных фуллерена C_{60} и дисперсный фуллерен dC_{60} , показавший минимальную токсичность – $ЦД_{50}$ более 3000 мкг/мл.

Способность нейтрализовать инфекционную активность ЦМВ *in vitro* проявили 5 соединений: ХТИ в вирулицидной схеме воздействия превышали 100. dC_{60} проявил противовирусные свойства в профилактической и микробицидной схемах, а также и в лечебной схеме, в которой производные фуллерена оказались неактивными. Уровни мРНК генов *UL122* и *UL54* ЦМВ снизились в 22,7 раз и 12,1 раз, соответственно.

Противовирусные свойства гетеродимеров против ЦМВИ анализировали в клетках культуры ФЛЭЧ. 3/7 изученных соединений проявили микробицидную активность, имитирующей экстренную профилактику. Выраженными терапевтическими свойствами обладало одно соединение Z492, ХТИ=142. Опыты с лимфоидными

клетками человека *ex vivo*, коинфицированными обоими вирусами, показали, что Z492 эффективно подавляло репликацию ВИЧ-1 и ЦМВ [Khandazhinskaya A.L. et al., 2021]. Соединение Z492 является перспективным кандидатом для разработки лекарственного препарата двойного действия – способного подавлять два вируса (ВИЧ-1 и ЦМВ) одновременно.

ВЫВОДЫ

1. У больных хроническими гепатитами разной этиологии герпесвирусы (ВЭБ, ЦМВ, ВГЧ-6) обнаружены у 12% пациентов в периферической крови и у 38,7% пациентов с гепатитом С в образцах биопсии печени. Показано, что при коинфекции ГВЧ и ВГС в печени в 3 раза увеличивается количество гепатоцитов, содержащих белки ВГС, ухудшается ответ на терапию, и в 3 раза чаще обнаруживается цирроз печени.

2. ДНК герпесвирусов (ВЭБ, ЦМВ, ВГЧ-6) обнаружены в урогенитальном тракте (соскоб из уретры, секрет простаты, эякулят) у 103/287 (35,9%) мужчин с абактериальным хроническим простатитом/синдромом хронической тазовой боли (ХП/СХТБ ША) и не обнаружены в эякуляте здоровых мужчин. Специфическая противовирусная терапия снижала уровень или элиминировала ДНК ГВЧ в урогенитальных образцах, статистически значимо снижала индекс клинических симптомов простатита, а также приводила к восстановлению фертильности у 6/8 обследованных мужчин с бесплодием.

3. ДНК герпесвирусов (ВПГ, ВЗВ, ВЭБ, ЦМВ, ВГЧ-6) обнаружены в аутопсийных материалах (головной мозг, легкие, печень, селезенка, лимфоузлы) у всех 59 пациентов: 39 пациентов, умерших с подтвержденным диагнозом COVID-19 и 20 пациентов, умерших от неинфекционных заболеваний. При этом количество образцов с концентрацией ДНК ГВЧ, превышающей 1000 копий на 10^5 клеток, от пациентов с COVID-19 обнаружено в 3 раза больше (52,4%), чем от пациентов без COVID-19 (16,6%). Реактивация ГВЧ при коинфекции с SARS-CoV-2 ассоциировалась с тяжелыми повреждениями легких и печени и неблагоприятным исходом COVID-19.

4. Впервые показана низкая токсичность и противовирусная активность дисперсного фуллерена dC_{60} в отношении ЦМВИ в клетках культуры, выражающаяся в снижении уровня мРНК вирусных генов (сверххранного UL122 и ДНК-полимеразы UL54) более чем в 10 раз и в подавлении синтеза белков ЦМВ (IE1-p72, pp65 и gB) в 6-8 раз. ХТИ dC_{60} в лечебной, профилактической и антибиотической схемах составил 66, 118 и 59, соответственно.

5. Впервые установлена способность гетеродимеров, содержащих производные азидотимидина и 1-[w-(фенокси)алкил]урацила, подавлять ЦМВИ в клетках человека.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Юрлов К.И.** Обнаружение и высокое содержание ДНК герпесвирусов (*Orthoherpesviridae*) в аутопсийных материалах пациентов с летальным исходом COVID-19. / **К.И. Юрлов**, С.А. Якушина, Н.Е. Федорова, Л.Б. Кистенева, Е.И. Келли, А.А. Каниболоцкий, Е.Н. Ивкин, Н.А. Антипят, И.Н. Тюрин, В.Ф. Ларичев, Н.А. Демидова, Е.И. Леснова, Р.Р. Климова, О.В. Масалова, А.А. Куц // Вопросы вирусологии. – 2024. – Т. 69, № 2. – С. 134-150. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-215>.

2. Ковалык В.П. Хронический простатит, ассоциированный с герпесвирусами: диагностика и эффективность противовирусной терапии. / В.П. Ковалык, М.А. Гомберг, **К.И. Юрлов**, А.А. Куц // *Klinicheskaya Dermatologia I Venerologia*. – 2021. – Т. 20, № 6. – С. 60-65. <https://doi.org/10.17116/klinderma20212006160>.

3. Ковалык В.П. Ассоциация вируса герпеса человека 6 типа с синдромом хронической тазовой боли: клиническое наблюдение. / В.П. Ковалык, **К.И. Юрлов**, М.А. Гомберг, А.Н. Шувалов, В.В. Малиновская, А.А. Куц // *Русский медицинский журнал*. – 2021. – Т. 29, № 6. – С. 53-55.

4. Ковалык В.П. Мужское бесплодие, ассоциированное с цитомегаловирусной инфекцией: клинический случай. / В.П. Ковалык, В.В. Малиновская, А.Н. Шувалов, Л.Ф. Курило, **К.И. Юрлов**, М.А. Гомберг, А.А. Куц // *Андрология и генитальная хирургия*. – 2021. – Т. 22, № 1. – С. 85-89. <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2021-22-1-85-89>.

5. Ковалык В.П. Цитокиновый профиль спермоплазмы мужчин с хроническим простатитом/синдромом хронической тазовой боли и сопутствующей вирусной инфекцией на фоне комплексной противовирусной терапии. / В.П. Ковалык, Е.В. Сорокина, **К.И. Юрлов**, А.А. Куц // *Современные проблемы науки и образования*. – 2021. – Т. 6. – С. 136. <https://doi.org/10.17513/spno.31260>.

6. Ковалык В.П. Роль герпесвирусов при мужском бесплодии. / В.П. Ковалык, М.А. Гомберг, Е.Е. Брагина, **К.И. Юрлов**, А.А. Куц // *Русский медицинский журнал. Медицинское обозрение*. – 2021. – Т. 5, № 3. – С. 123-129. <https://doi.org/10.32364/2587-6821-2021-5-3-123-129>.

7. Klimova R. Aqueous fullerene C60 solution suppresses herpes simplex virus and cytomegalovirus infections. / R. Klimova, E.

Momotyuk, N. Demidova, N. Fedorova, Y. Chernoryzh, **K. Yurlov**, R. Simonov, A. Kushch, A. Gintsburg, S. Andreev, E. Turetskiy, E. Baraboshkina, N. Shershakova, M. Khaitov // Fullerenes, Nanotubes and Carbon Nanostructures. – 2020. – V. 28, № 6. P. 487-499. <https://doi.org/10.1080/1536383X.2019.1706495>.

8. **Yurlov K.I.** Human herpesviruses increase the severity of hepatitis. / **K.I. Yurlov**, O.V. Masalova, L.B. Kisteneva, I.N. Khlopova, E. I. Samokhvalov, V.V. Malinovskaya, V.V. Parfyonov, A.N. Shuvalov, A.A. Kushch // Biology. –2021. – V. 10, № 6. – 483. <https://doi.org/10.3390/biology10060483>.

9. Khandazhinskaya A.L. Dual-targeted anti-CMV/anti-HIV-1 heterodimers. / A.L. Khandazhinskaya, V. Mercurio, A.A. Maslova, R.A. Nahui Palomino, M.S. Novikov, E.S. Matyugina, M.P. Paramonova, M.K. Kukhanova, N.E. Fedorova, **K.I. Yurlov**, A.A. Kushch, O. Tarasova, L. Margolis, S.N. Kochetkov, C. Vanpouille. // Biochimie. – 2021. – V. 189. P. - 169-180. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2021.06.011>.

10. **Юрлов К.И.** Высокое содержание герпесвирусов в аутопсийных материалах пациентов с летальным исходом COVID-19. / **К.И. Юрлов**, Н.Е. Федорова, Л.Б. Кистенева, В.Ф. Ларичев, Е.И. Леснова, Н.А. Демидова, О.В. Масалова, А.А. Куш, Е.И. Келли, Н.А. Антипят, С.А. Якушина // Сборник трудов XV Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням имени академика В.И. Покровского. – Москва: Общество с ограниченной ответственностью "Медицинское Маркетинговое Агентство", 2023. – С. 254.

11. **Юрлов К.И.** Роль герпесвирусов в воспалительных заболеваниях урогенитального тракта мужчин. / **К.И. Юрлов**, В.П. Ковалык, В.В. Евдокимов, А.А. Куш // Молекулярная диагностика и биобезопасность-2022: Сборник материалов конгресса с международным участием, Москва, 27–28 апреля 2022 года. – Москва: ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, 2022. – С. 134-135.

12. Ковалык В.П. Урогенитальные поражения, ассоциированные с вирусами герпеса IV-VI типов: принципы диагностики и лечения / В.П. Ковалык, М.А. Гомберг, Е.В. Владимировна, **К.И. Юрлов**, А.А. Куш // XVI Всероссийский съезд национального альянса дермато-венерологов и косметологов: сборник трудов. – Москва: Национальный альянс дермато-венерологов и косметологов, 2023, – С. 47.

13. **Юрлов К.И.** Изучение цитотоксических и противовирусных свойств производных фуллерена на модели экспериментальной цитомегаловирусной инфекции в клеточной системе *in vitro*. / **К.И. Юрлов**, Р.А. Валиева, Я.Ю. Чернорыж, Н.Е.

Фёдорова, А.А. Куш // Тезисы Международной научно-практической конференции «Гармонизация подходов к фармацевтической разработке. – Москва: Российский университет дружбы народов (РУДН), 2021. – С. 218-220.

14. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2019620936 Российская Федерация. Цитотоксические свойства производных фуллерепа С60: № 2019620834: заявл. 17.05.2019: опубл. 03.06.2019 / **К. И. Юрлов.**

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АЛТ – аланинаминотрансфераза
 АСТ – аспартатаминотрансфераза
 БОЕ – бляшкообразующая единица
 ВГВ – вирус гепатита В
 ВГС – вирус гепатита С
 ВГЧ-6 – вирус герпеса человека 6 типа
 ВЗВ – вирус варицелла-зостер
 ВИЧ – вирус иммунодефицита человека
 ВПГ – вирус простого герпеса
 ВЭБ – вирус Эпштейна-Барр
 ГВИ – герпесвирусная инфекция
 ГВЧ – герпесвирусы человека
 ИД₅₀ – 50% ингибирующая доза
 ИЛ – интерлейкин
 ИГА – индекс гистологической активности
 ИФ – индекс фиброза
 ИФА – иммуноферментный анализ
 КТ – компьютерная томография
 мРНК – матричная РНК
 МКА – моноклональные антитела
 МКПК – моноклеарные клетки периферической крови
 ПК – периферическая кровь
 СПЖ – секрет предстательной железы
 УГТ – урогенитальный тракт
 ФЛЭЧ – фибробласты легкого эмбриона человека
 ХВЗ – хронические воспалительные заболевания
 ХП – хронический простатит
 ХП/СХТБ ША – хронический простатит / синдром хронической тазовой боли ША
 ХТИ – химиотерапевтический индекс
 ЦМВ – цитомегаловирус человека
 ЦМВИ – цитомегаловирусная инфекция