

И. В. Волчек<sup>1</sup>,  
канд. мед. наук

А. С. Петров<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ООО «ДискавериМед», Санкт-Петербург

<sup>2</sup> Медицинский центр «МЭДИС», Санкт-Петербург

## ТИОЛ-ДИСУЛЬФИДНАЯ СИСТЕМА КАК УНИВЕРСАЛЬНЫЙ БИОМАРКЕР ДЛЯ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ ИНФЕКЦИОННЫХ И ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Тиол-дисульфидная ( $SH/SS$ ) система выбрана нами в качестве маркера для мониторинга лекарственных воздействий, поскольку данная биохимическая система характеризует состояние антиоксидантной защиты и окислительно-восстановительных процессов организма. К функциям данной системы относится регуляция ферментативной и антиоксидантной активности, фагоцитоза и иммунных реакций, разных рецепторов, клеточного деления и роста, проницаемости биологических мембран, свертывания крови, мышечного сокращения [1].

Первоначально тиолы рассматривались как защитные антиоксиданты, направленные на связывание свободных радикалов при оксидативном повреждении клеток и тканей. В последнее время появилось большое количество публикаций, показывающих важную роль окисления белков в регуляции окислительно-восстановительного потенциала клеток [2]. В настоящее время уровень плазменных или сывороточных тиолов, включающих белковые и безбелковые тиолы ( $SH$ ) [3], и тиол-дисульфидное ( $SH/SS$ ) соотношение (ТДС) крови [1] рассматривают как показатели иммунокомпетентности и состояния неспецифической резистентности организма.

В России наибольшее распространение получили два метода определения чувствительности клеток крови к препаратам *in vitro* — путем определения индукции интерферонов и других цитокинов [4] и  $SH$ -групп и отношения  $SH/SS$  в цельной крови [5]. Оба метода уже в течение более чем 15 лет используются для индивидуализированной (персонализированной) терапии.

**Способ скрининга лекарственных препаратов по влиянию на отношение  $SH/SS$  в крови**

В ходе исследования цельную кровь с антикоагулянтом (ЭДТА) инкубируют в термостате (37 °С) в

присутствии препаратов в течение 1 ч, контрольные пробы инкубируют с физиологическим раствором [5]. Определение  $SH$ - и  $SS$ -групп в гемолизате на начальном этапе проводили путем амперометрического титрования [1], а в последние годы — с использованием метода спектрофотометрии [6]. При обработке данных проводят сравнение показателей  $SH$ -групп и отношения  $SH/SS$  в контрольных и опытных (с добавлением препарата) образцах. *Повышение ТДС* после инкубации с препаратом *in vitro* свидетельствует о биостимулирующем (иммуностимулирующем) действии препарата в исследуемой дозе и позволяет прогнозировать высокую эффективность лечения и отсутствие побочных реакций. *Снижение ТДС* свидетельствует о цитотоксическом (иммунодепрессивном) действии препарата в исследуемой дозе и, напротив, позволяет прогнозировать отсутствие эффекта лечения и наличие побочных реакций.

### *Хронический вирусный гепатит С*

Нами было проведено два контролируемых клинических испытания персонализированной терапии, в которые были включены 84 больных хроническим гепатитом С (ХГС), на базе кафедры инфекционных болезней СПбГМА им. И. И. Мечникова и инфекционной больницы № 30 им. С. П. Боткина [7–10]. Было показано, что индивидуальный подбор дозы (от 0,5 до 2,0 млн МЕ) препарата рекомбинантного интерферона (Реаферон) позволяет в 3 раза повысить частоту раннего вирусного ответа больных ХГС даже в режиме монотерапии (рис. 1). Чрезвычайно важно, что высокая частота вирусного ответа на персонализированную монотерапию препаратами интерферона (ИФН, Реаферон, Интераль) сохранялась в течение последующего лечения в течение 3 и 6 мес, а частота полной стабильной ремиссии через 6 и 12 мес наблюдения составила 75,9 и 62%, соответственно

ОБЗОРЫ



Рис. 1. Сравнительная эффективность месячного курса персонализированной и стандартной монотерапии интерфероном (ИФН-α2b) больных ХГС

(рис. 2) [9]. Напомним, что частота вирусного ответа на монотерапию стандартными дозами ИФН составляет всего 29% при лечении курсом 6 мес, а доля полной ремиссии через 6 мес после окончания лечения не превышает 6% [11]. При этом частота побочных эффектов при персонализированной терапии ИФН снижалась в 6 раз по сравнению со стандартной (6 и 72%, соответственно). Прогностическая значимость ТДС-теста для лечения больных ХГС составила 89,8%. Персонализированная терапия больных ХГС позволяет снизить стоимость лечения в 3–10 раз по сравнению со стандартными схемами противовирусной терапии [7–10].

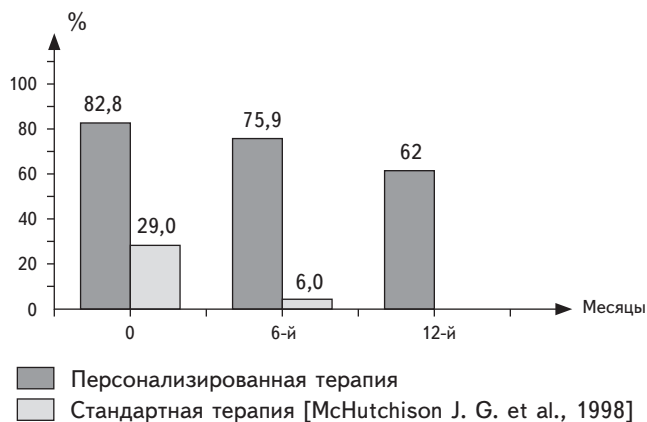


Рис. 2. Частота полной ремиссии после шестимесячной персонализированной и стандартной монотерапии ИФН у больных ХГС

При изучении чувствительности больных ХГС *in vitro* к препаратам, обладающим интерферон-индуцирующей активностью (Неовир, Украина) и Ронколейкину (препарат ИЛ-2), было установлено, что она была достаточно высокой (63–92%) и не отличалась у больных ВГС 1b и другими генотипами (3, 1a). В то же время, только 16,7% больных ХГС, инфицированных ВГС 1b, были чувствительны к ИФН *in vitro* [7, 8]. Полученные данные согласуются с клиническими результатами, свидетельствующими о значительно более низкой эффективности лечения ИФН больных ВГС 1b [11].

В НИИ детских инфекций (Санкт-Петербург) получены данные о том, что персонализированная монотерапия с использованием ТДС-теста препаратами ИФН (Интераль, Альтевир, Роферон, Интрон-А) или комбинированная терапия препаратами ИФН в сочетании с Рибавирином или индуктором ИФН (Циклоферон) позволяет повысить эффективность лечения на 10–13% и снизить частоту побочных явлений в 2–3 раза. Снижение дозы противовирусных средств и сокращение курса терапии позволит сократить экономические расходы в 2–3 раза [12].

**Генитальный герпес, папилломавирусная инфекция, хламидиоз**

В исследовании, выполненном в НЦ акушерства, гинекологии и перинатологии им. В. И. Кулакова (Москва), под наблюдением находились 74 больных с папилломавирусной инфекцией и 69 — генитальным герпесом [13]. Изучали влияние индукторов ИФН (Неовир, Циклоферон) и иммуномодуляторов (Ликопид, Полиоксидоний) в разных дозах *in vitro* на показатели ТДС крови [5] и ИФН-индуцирующую активность лейкоцитов крови [4]. Установлено, что иммуностропные препараты способны индуцировать не только положительные ответы со стороны ТДС (ее повышение), сопровождающиеся иммуностимуляцией, но и с высокой частотой отрицательные (снижение ТДС), приводящие к цитотоксическим эффектам и иммунодепрессии. Отмечены корреляции между эффективностью иммуностропных препаратов *in vitro* и *in vivo* [13]. У больных с папилломавирусной инфекцией и генитальным герпесом также отмечены корреляции между ИФН-индуцирующими и антиоксидантными эффектами иммуностропных препаратов. Важным преимуществом тестирования по ТДС является возможность исследования любых препаратов, в том числе и не обладающих ИФН-индуцирующей активностью, простота и доступность метода, возможность автоматизации и стандартизации исследований.

В медицинском центре «Первая помощь» (г. Петрозаводск) проведено контролируемое исследование эффективности индивидуального подбора противовирусных (Ацикловир, Валтрекс, Фамвир) и иммуностропных препаратов (Реаферон, Циклоферон,

Неовир, Полиоксидоний, Липоцид, Аллокин-альфа) с использованием ТДС-теста для персонализированного трехэтапного лечения 106 больных *генитальным герпесом*. Все пациенты были разделены на две группы. 1-я (контрольная) группа (60 чел.) получала лечение, включавшее на первом этапе препараты ацикловира (местно и внутрь), на втором — иммуностропные препараты (Циклоферон) и на третьем — Витагерпавак. 2-я группа (46 чел.) получала лечение с учетом персонализированного подбора препаратов: на первом этапе — противовирусные препараты, на втором — иммуностропные и на третьем — Витагерпавак. Эффективность проведенного лечения оценивали по разработанным авторами критериям, которые включали клинические и лабораторные показатели. Эффективность лечения у больных 1-й группы составила 52,5 % (до лечения коэффициент тяжести обострений составил  $1,90 \pm 0,26$  и после лечения  $0,90 \pm 0,19$ ), у больных 2-й группы — 68,4 % ( $1,81 \pm 0,23$ , после лечения  $0,57 \pm 0,16$ ). Автор сделал вывод о том, что тестирование крови на чувствительность к препаратам позволяет не только выбрать наиболее эффективный противовирусный и/или иммуностропный препарат для лечения больных генитальным герпесом, но также скорректировать его дозу. Персонализированный подбор противовирусных и иммуностропных средств повышает эффективность лечения у больных генитальным герпесом на 15,9 % [14].

Показана эффективность персонализированной терапии больных *генитальным хламидиозом* с использованием скрининга рекомбинантных ИФН-альфа (Реаферон, Интераль, Интрон-А) и индукторов ИФН (Неовир, Циклоферон) [15].

#### Генитальный эндометриоз

В контролируемом исследовании, выполненном в МАПО (Киев), показано, что скрининг гормональных препаратов (Даназол, Депо провера, Дюфастон, Оргаметрил, Примолютнор, 17-ОПК, Ригевидон, Овидон, Логест, Нон-овлон, Тамоксифен, Золадекс, Диферелин) с использованием ТДС-теста для персонализированной терапии 41 больной генитальным эндометриозом (66 больных — контрольная группа) позволил в 2 раза повысить эффективность трехмесячного лечения (рис. 3). Отсутствие динамики или слабо выраженный положительный эффект отмечен у 6 пациенток (14,6 %) с отсутствием или низкой чувствительностью ко всем исследованным гормональным препаратам [16].

Второе исследование, выполненное в НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта (Санкт-Петербург), показало эффективность скрининга гормональных (агонист ГнРГ — Люкрин депо, антигонадотропин — Даназол, комбинированные оральные контрацептивы Логест и Жанин) и иммуномодулирующих (Реаферон,

Интераль, Полиоксидоний, Галавит, Циклоферон) препаратов с использованием ТДС-теста для персонализированной терапии 43 больных генитальным эндометриозом. Полученные результаты сопоставляли с показателями интерферонового статуса. На основании всех данных были назначены индивидуальные схемы комбинированной терапии генитального эндометриоза. У 18 больных (41,9 %), страдающих бесплодием, в течение 9 мес после терапии наступила беременность, которая завершилась рождением ребенка [17].

#### Хронический бронхит

В МАПО (Киев) проведено контролируемое исследование скрининга *антибактериальных препаратов* (Амоксиклав, Амисульбин, Доксциклин, Азитромицин, Цефтриаксон, Ципрофлоксацин, Левифлоксацин) по их влиянию на ТДС у 28 больных хроническим бронхитом, 30 больных вошли в контрольную группу, которая получала антибактериальную терапию на основании исследования антибиотикограммы и по клинико-эмпирическим показаниям. При персонализированной антибактериальной терапии обострений хронического бронхита неудовлетворительный клинический результат или рецидив наблюдали в 3 раза реже (11 против 33 % в контрольной группе), неудовлетворительный бактериологический результат — в 4 раза реже (7 против 28 % в контрольной группе), частота побочных эф-



Рис. 3. Сравнительная эффективность трехмесячной персонализированной и стандартной терапии больных генитальным эндометриозом

ОБЗОРЫ

фектов (диспепсия, кожная сыпь, диарея) — в 2 раза реже (10,5 против 22,8 % в контрольной группе) [18].

Сравнительное исследование клинической и иммунологической эффективности иммунотерапии хронического бронхита Тималином, проведенной исходя из традиционных клинико-иммунологических показаний (контрольная группа, 16 больных) или при индивидуальном отборе пациентов, чувствительных к Тималину среди пяти тестируемых иммуностимулирующих препаратов (Тималин, Бронхо-мунал, Рибомунил, Липоид, Амиксин) в ТДС-тесте с кровью *in vitro* (основная группа, 47 больных), показало преимущество индивидуализированного подхода. Частота неудовлетворительного клинического ответа была более чем в 3 раза ниже (5,5 против 18,5 % в контрольной группе), неудовлетворительный иммунологический результат наблюдали более чем в 2 раза реже (16 против 37,5 % в контрольной группе). Сходные результаты получены и при сравнительном анализе клинического эффекта скрининговой иммунотерапии (индивидуальный выбор среди пяти конкурирующих препаратов) и иммунотерапии Тималином, проведенной по клинико-иммунологическим показаниям: неудовлетворительный клинический результат был более чем в 4 раза реже (4 против 18,5 % в контрольной группе) [19].

**Распространенный немелкоклеточный рак легкого**

Также в МАПО (Киев) проведено контролируемое исследование возможности индивидуального выбора противоопухолевых химиопрепаратов (Этопозид, Цисплатин, Карбоплатин, Митомицин С, Доксорубицин, Фарморубицин, Метотрексат, Фторурацил, Циклофосфан) при лечении 46 пациентов с распространенным (III–IV стадии) немелкоклеточным раком легкого. Среди двух групп пациентов, одна из которых получала стандартную схему химиотерапии (контрольная группа, 24 больных), а другая — персонализированную химиотерапию, включавшую только химиопрепараты, к которым выявляли чувствительность по ТДС-тесту *in vitro* (основная группа, 22 больных), частота частичной регрессии опухоли после двух курсов лечения была более чем в 2 раза выше в основной группе по сравнению с контрольной, а частота прогрессирования заболевания — в 2,5 раза ниже (рис. 4). Чувствительность данного способа выбора полихимиотерапии составила 89,2 %, специфичность — 94,6 % [20].

Украинские авторы использовали ТДС-тест при инкубации крови с препаратами в течение 24 ч [18–20]. По нашему мнению, инкубировать кровь с препаратами больше 3 ч нецелесообразно, так как при более длительной инкубации во всех опытных и контрольных пробах происходит резкое падение ТДС. Кроме того, длительная инкубация требует использования стерильных боксов и питательных сред для культивирования с обогащением их кислородом.

**Метастатический рак почки и предстательной железы**

Нами была изучена индивидуальная чувствительность 15 больных метастатическим раком почки и раком предстательной железы к разным иммуностимулирующим и гормональным препаратам в разных дозах с использованием ТДС-теста *in vitro* [21]. Исследовали следующие группы препаратов: ИФН-альфа — Интрон, Роферон, Реаферон, Интераль, Реальдирон, Альтевир; ПЕГ-интрон; ИФН-гамма — Ингарон; интерлейкин-2 — Ронколейкин; антиандрогены — Андрокур, Флутамид, Касодекс; агонисты ГнРГ — Люкрин депо, Бусерелин депо, Диферелин), а также разные сочетания иммуностимулирующих (ИФН+Ронколейкин) и гормональных препаратов (антиандроген+агонист ГнРГ), варианты комбинированной терапии (ИФН+агонист ГнРГ, ИФН+ антиандроген+агонист ГнРГ).

У всех больных раком почки *in vitro* отмечали чувствительность к иммуностимулирующим препаратам (Реаферон, Ронколейкин) в режиме моно- и/или комбинированной терапии в определенных дозах (при добавлении препаратов ТДС крови повышалось). У гормончувствительных больных метастатическим раком предстательной железы отмечали положительную реакцию *in*

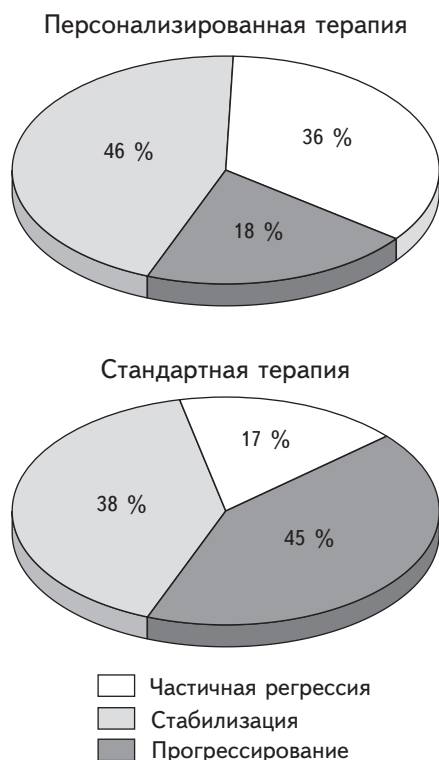


Рис. 4. Сравнительная эффективность персонализированной и стандартной химиотерапии больных распространенным немелкоклеточным раком легкого



*in vitro* на большинство исследованных гормональных и иммуностропных препаратов. У больных метастатическим раком предстательной железы с клиническими признаками гормонрезистентности чувствительность к большинству исследованных гормональных препаратов отсутствовала (при добавлении препаратов ТДС крови не изменялось либо снижалось), однако чувствительность к иммунопрепаратам, в частности препаратам ИФН, оставалась высокой. При этом, как правило, удавалось обнаружить чувствительность пациента к одному-двум гормональным препаратам, некоторым комбинациям агонистов ГнРГ с антиандрогенами и/или иммуностропными препаратами. Отмечали положительную корреляцию между эффектами препаратов *in vitro* и *in vivo* при последующем лечении. После лечения в режиме, который стимулирует ТДС, чувствительность к гормональным препаратам восстанавливалась и существенно повышалась.

### Заключение

Таким образом, тиол-дисульфидная система крови является универсальным биомаркером для персонализированной терапии инфекционных и онкологических заболеваний [22]. Предложенный способ скрининга лекарственных препаратов с использованием ТДС-теста можно использовать для персонализации антибактериальной, гормональной, противовирусной, противоопухолевой и иммунотерапии хронического гепатита С, папилломавирусной инфекции, генитального герпеса, хламидиоза, хронического бронхита, генитального эндометриоза, немелкоклеточного рака легкого, рака почки и предстательной железы для повышения эффективности, преодоления резистентности к антибиотикам, цитостатикам и гормональным препаратам, поиска оптимальных препаратов, их доз и комбинаций, снижения частоты побочных эффектов и стоимости лечения.

## Литература

1. Соколовский В. В. Тиол-дисульфидное соотношение крови как показатель состояния неспецифической резистентности организма. СПб.: МАПО, 1996.
2. Ghezzi P., Bonetto V., Fratelli M. Thiol-disulfide balance: from the concept of oxidative stress to that of redox regulation. *Antioxidants & Redox Signaling* 7, 7&8, 2005. P. 964–972.
3. Pero R. W. Method of testing immune competency, PCT WO 96/14565, 1996; US 5,925,571, 1999.
4. Ершов Ф. И. Система интерферона в норме и при патологии. М.: Медицина, 1996.
5. Волчек И. В. Способ скрининга лекарственных препаратов (RU 2150700, 2000; US 6,627,452, 2003; PCT WO 00/65342, 2000; EP 1,182,455; UA 57177, 2003).
6. Ellman G. L. Tissue sulfhydryl groups // *Arch. Biochem. Biophys.* 1959. Vol. 82. P. 70–77.
7. Voltchek I. V., Sologub T. V., Nowicky J. W. et al. Preliminary results of individual therapy of chronic hepatitis C by Ukrain and interferon- $\alpha$  // *Drugs Exptl. Clin. Res.* 2000. Vol. 26 (5/6). P. 261–266.
8. Волчек И. В., Сологуб Т. В., Нестеров Н. Н. и др. Индивидуализированная терапия хронического гепатита С // *Terra Medica. Лаб. диагностика.* 2003. № 1. С. 9–11.
9. Волчек И. В., Нестеров Н. Н., Сологуб Т. В. и др. Опыт использования рекомбинантных интерферонов для индивидуализированной терапии больных хроническим гепатитом С // *Terra Medica.* 2003. № 2. Р. 3–5.
10. Сологуб Т. В., Белозерова Л. А., Волчек И. В. и др. Способ индивидуального подбора лекарственных препаратов для лечения больных этиологически различными острыми и хроническими вирусными гепатитами (RU 2222011, 2004).
11. McHutchison J. G., Gordon S. C., Schiff E. R., et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C // *New Engl. J. Med.* 1998. Vol. 339. P. 1485–1492.
12. Васильева Д. К., Горячева Л. Г., Мукомолова А. Л., Котив М. Я. Новые аспекты в лечении хронического гепатита С у детей // *Вестн. СПбМА им. И. И. Мечникова.* 2009. № 1 (30). С. 160–163.
13. Логинова Н. С., Логинов В. В. Выбор иммуномодуляторов на основании определения интерферонового статуса и тиол-дисульфидного соотношения у больных с папилломавирусной инфекцией и генитальным герпесом // *Terra Medica. Лаб. диагностика.* 2004. № 3. Р. 3–5.
14. Тищенко М. С. Использование персонализированного подбора препаратов в лечении больных генитальным герпесом // В сб.: *Материалы III Всерос. междисциплинар. науч.-практ. конф. «Урогенитальные инфекции и репродуктивное здоровье: клинико-лабораторная диагностика и терапия».* СПб., 2010. С. 94–96.
15. Есипов А. С., Михайличенко В. В., Волчек И. В. Персонализированная терапия при генитальном хламидиозе // *Terra Medica. Лаб. диагностика.* 2004. № 2. С. 25–28.
16. Гончарова Я. А., Коханевич Е. В., Ободников А. А. Целенаправленная гормонотерапия при генитальном эндометриозе // *Здоровье женщины.* 2002. № 2. С. 94–99.
17. Ярмолинская М. И., Четверткова М. Г., Волчек И. В., Сельков С. А. Новые подходы к выбору гормональной и иммуномодулирующей терапии наружного генитального эндометриоза // В сб.: *Актуальные вопросы урологии и гинекологии у взрослых и детей: Материалы науч.-практ. конф.* СПб., 2006. С. 101–103.

## ОБЗОРЫ

18. Ободников А. А. Индивидуализированный выбор антибактериальных препаратов у пациентов с обострением хронического бронхита на основе тиол-дисульфидного теста крови *in vitro* // В сб.: XIII Нац. конгресс по болезням органов дыхания: Материалы конф. СПб., 2003. 009.

19. Ободников А. А. Индивидуализированный выбор иммунопрепаратов у пациентов с обострением хронического бронхита на основе тиол-дисульфидного теста крови *in vitro* // В сб.: XIII Нац. конгресс по болезням органов дыхания. СПб., 2003. 015.

20. Ободников А. А. Индивидуализированный выбор противоопухолевых цитостатиков у пациентов с распространенным немелкоклеточным раком легкого на основе тиол-дисульфид-

ного теста крови *in vitro* // В сб.: XIII Нац. конгресс по болезням органов дыхания: Материалы конгресса. СПб., 2003. 013.

21. Волчек И. В., Петров А. С., Алехина Т. М., Шейнак Д. Б. Тест-система для определения индивидуальной чувствительности больных раком почки и предстательной железы к иммунотропным и гормональным препаратам // В сб.: Конгресс Российского общества онкоурологов: Материалы конгресса. М., 2007.

22. Volchek I. V., Sologub N. V., Petrov A. S. Thiol-disulfide system as universal biomarker for personalized therapy of infectious diseases and cancer // FEBS Journal 280. Suppl. 1. 2013. 277.