

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **046995**

(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2024.05.21

(21) Номер заявки
202192680

(22) Дата подачи заявки
2021.10.12

(51) Int. Cl. **A61K 35/30** (2006.01)
A61K 38/19 (2006.01)
A61K 38/20 (2006.01)
A61P 31/14 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)

(54) ПРИМЕНЕНИЕ КОРТЕКСИНА ПРИ ЦИТОКИНОВОМ ШТОРМЕ

(43) **2023.04.28**

(96) **2021000109 (RU) 2021.10.12**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ
ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ
"ГЕРОФАРМ" (RU)**

(72) Изобретатель:
**Драй Роман Васильевич, Макаренко
Игорь Евгеньевич, Калатанова Анна
Вячеславовна, Магрук Максим
Андреевич (RU)**

(56) КУЗНИК Б.И. и др. COVID-19: Влияние на иммунитет, систему гемостаза и возможные пути коррекции. Успехи физиологических наук, 2020, Т.51, N4, стр.51-63, страницы 55-56, рисунок 1
МАДЖИДОВА Е.Н. и др. Клино-иммунологические аспекты нейропротекции хронической ишемии мозга. Доктор.ру., Фармакотерапия, 2012, N5 (73), стр.93-95, таблица 2

МЕНДЖЕРИЦКИЙ А.М. и др. Регуляция содержания цитокинов в сыворотке крови и активности каспазы-3 в мозгу старых крыс кортексином и пинеалом в модели острой гипоксической гипоксии. Успехи геронтологии, 2014, т.27, N 1, стр. 94-97

НИКОГОСЯН Н.Р. и др. Особенности лечения цитокинового шторма при Covid-19. Сборник атериалов V международного молодежного научно-практического форума. "Медицина будущего: от разработки до внедрения. Оренбург, 22.04.2021, страница 149

(57) Изобретение относится к области медицины и фармации, в частности к применению известного лекарственного препарата Кортексин® при цитокиновом шторме в качестве ингибитора фактора некроза опухоли-альфа и интерлейкина-6. В *in vitro* исследовании на модели цитокинового шторма на клеточной линии макрофагов мыши RAW 264.7 показано, что исследуемый препарат Кортексин® проявил тенденцию к дозозависимости терапевтического эффекта в отношении уровня TNFα в культуральной среде. В *in vivo* эксперименте на модели септического шока у самцов мышей показано, что эффективность препарата Кортексин® в дозах 1,7 и 17 мг/кг превосходит эффективность препарата сравнения левилимаб (блокатора рецепторов IL-6).

B1

046995

046995 B1

Область техники, к которой относится изобретение

Изобретение относится к области медицины и фармации, в частности к применению известного лекарственного средства Кортексин®, представляющего собой комплекс низкомолекулярных водорастворимых полипептидных фракций, выделенных из коры головного мозга скота, в терапии "цитокинового шторма" различного патогенеза, в частности в качестве ингибитора фактора некроза опухоли-альфа и интерлейкина-6.

Уровень техники

Цитокины представляют собой низкомолекулярные белки, которые вырабатываются преимущественно эффекторными клетками крови и являются универсальными регуляторами, контролирующими важнейшие процессы клеточного гомеостаза. К цитокинам относятся интерфероны, интерлейкины, ростовые и колониестимулирующие факторы, хемокины, медиаторы из группы фактора некроза опухолей, трансформирующие ростовые факторы и некоторые другие молекулы [1].

Уровень цитокинов в периферической крови может быть повышен при многих заболеваниях. Однако в ряде случаев может наблюдаться патологический сдвиг в работе иммунной системы, характеризующийся неконтролируемым высвобождением большого количества цитокинов, приводящих к гиперактивации иммунных клеток (Т-лимфоцитов, макрофагов, натуральных киллеров и др.) и развитию системной гипервоспалительной реакции. Такое состояние в литературе получило название "цитокиновый шторм" (гиперцитокинемия) [2-4].

Клинические проявления "цитокинового шторма" зависят от тяжести заболевания. Основным симптомом - лихорадка, среди других симптомов возможно общее недомогание, усталость, тошнота, анорексия, головная боль, боль в суставах, боль в мышцах, тахикардия, гипотония, отек, неврологические нарушения, в тяжелых случаях диссеминированное внутрисосудистое свёртывание, коагулопатия, окклюзия сосудов, кровотечения, наиболее распространенными являются респираторные симптомы (кашель, одышка) с прогрессированием до острого респираторного дистресс-синдрома и гипоксии. Тяжелое течение заболевания может привести к полиорганной недостаточности и смерти.

Наиболее часто "цитокиновый шторм" является осложнением инфекционных заболеваний, в большинстве случаев вирусных. Другими причинами "цитокинового шторма" могут быть лекарственная терапия, аутоиммунные расстройства, онкологические, гематологические, генетические и др. заболевания [3].

"Цитокиновый шторм" является одним из ведущих механизмов прогрессирования заболевания до полиорганной недостаточности и летального исхода при новой коронавирусной инфекции COVID-19, этиологическим фактором которой является вирус SARS-CoV-2 [5].

Первое сообщение о синдроме цитокинового шторма при сепсисе появилось еще в 1904 г. в книге Уильяма Ослера "The Evolution of Modern Medicine", однако впервые термин "цитокиновый шторм" был использован в 1993 г. в статье о реакции "трансплантат против хозяина" при характеристике прямого цитопатического действия цитокинов IL-1 и TNF- α [6].

Под понятием цитокинового шторма понимается группа синдромов, которые характеризуются системным воспалением, нестабильностью гемодинамики и полиорганной недостаточностью. К патогенетическим вариантам цитокинового шторма относят синдром высвобождения цитокинов, первичный и вторичный гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз (гемофагоцитарный синдром (ГФС)), синдром активации макрофагов [7, 8].

Термин "синдром высвобождения цитокинов" обычно используется применительно к реакции организма на терапию различными лекарственными препаратами, при которой происходит чрезмерная активация иммунной системы. Впервые использован в 1989 г/ для описания клинических проявлений "цитокинового шторма" после инфузии муромонаба-CD3 (ОКТ3) в качестве иммуносупрессивного лечения при трансплантации внутренних органов [9]. В последующем этот термин закрепился в литературе при описании осложнений, связанных с противоопухолевой терапией модифицированными Т-клетками с химерным антигенным рецептором к CD19 (Chimeric Antigen Receptor T-Cell, CAR-T) и моноклональными антителами [10, 11].

Первичный ГФС обычно развивается у детей первых лет жизни, в основе лежит врожденный дефект цитотоксической функции NK и К-клеток, наследующийся по аутосомно-рецессивному механизму. Вторичный ГФС ассоциируется с приобретенным дефектом клеточного звена иммунитета и встречается во всех возрастных категориях. Вторичный ГФС развивается на фоне инфекционного, опухолевого или аутоиммунного процесса. В литературе описано развитие вторичного ГФС у пациентов с вирусными, бактериальными и грибковыми инфекциями, но наиболее часто вторичный ГФС развивается на фоне вирусных инфекций: Эпштейна-Барра, цитомегаловируса, простого герпеса, гриппа, гепатита, иммунодефицита человека, парвовирусной, аденовирусной, коронавирусной и др. инфекций [12-17].

Синдром активации макрофагов описан в литературе как осложнение ревматических заболеваний: при ювенильном идиопатическом артрите, при болезни Стилла, системной красной волчанке, болезни Кавасаки, спондилоартрите, ювенильном дерматомиозите, часто имеющих аутовоспалительный генез [18, 19].

В спектре цитокинов, принимающих участие в патогенезе синдрома цитокинового шторма, большое значение придается TNF α , интерлейкину-6 (IL-6), интерлейкину-1 β , интерферону- γ и другим цитокинам [2, 4, 20, 38].

При сепсисе синдром высвобождения цитокинов развивается в ответ на инфекцию, однако было показано, что гиперцитокинемия IL-1 β , IL-6, TNF α , но не наличие бактерий и их токсинов прямо коррелировала со смертностью больных [21]. Антитела против TNF α , введенные перед летальной дозой *E. coli*, защищали лабораторных животных от септического шока, полиорганной недостаточности и смертельного исхода [22].

Высокие уровни IL-6 в сыворотке крови были обнаружены при цитокиновом шторме, индуцированном Т-клеточной терапией CAR [23]. Роль повышения уровней TNF α , IL-6, IL-1 β , ИФН- α , ИФН- γ в развитии иммунопатологии при вирусных инфекциях головного мозга и внутренних органов описал В. Rouse [24].

Уровни TNF α , IL-6, ИФН- γ , были значительно повышены у пациентов с генетически обусловленным первичным гемофагоцитарным лимфогистиоцитозом, при синдроме активации макрофагов при ревматических заболеваниях [4].

Гипервоспалительные реакции при COVID-19 характеризуются повышением в сыворотке крови концентраций многих цитокинов, наиболее часто в литературе описаны IL-6, TNF α , IL-1 β , IL-8, IL-2, IL-4, IL-10. Установлено, что в большей степени с тяжелой формой заболевания и высокой смертностью связан IL-6 [25-32].

В терапии "цитокинового шторма" широко используются системные глюкокортикостероиды (ГКС) (дексаметазон, метилпреднизалон, гидрокортизон), обладающие иммуномодулирующим действием. Они ингибируют все фазы воспаления, угнетают синтез провоспалительных медиаторов, содержание которых при цитокиновом шторме увеличено и связано с риском развития острого респираторного дистресс-синдрома, сепсиса и неблагоприятных исходов COVID-19. ГКС в настоящее время широко применяют для лечения пациентов с COVID-19 во всем мире, однако эффективность и безопасность ГКС при новой коронавирусной инфекции остается предметом дискуссии, в связи с чем требуются дальнейшие клинические исследования для разрешения спорных вопросов о выборе препарата, его дозировке и способе введения, времени начала терапии и ее продолжительности, потенциальных рисках применения, среди которых наиболее важными являются отсроченный вирусный клиренс и повышенный риск вторичной инфекции [33].

Моноклональные антитела, специфически связывающие TNF α , IL-6 или рецептор IL-6, представляют собой еще один потенциальный класс терапии при "цитокиновом шторме", в т.ч. при COVID-19.

Фактор некроза опухоли альфа (TNF α , также известный как кахетин) представляет собой природный цитокин млекопитающих, продуцируемый клетками многочисленных типов, включая моноциты и макрофаги, в ответ на эндотоксин или другие стимулы. TNF α является основным медиатором воспалительных, иммунологических и патофизиологических реакций [34].

Растворимый TNF α образуется при расщеплении трансмембранного белка-предшественника [35], секретируемые при этом полипептиды массой 17 кДа подвергаются сборке в растворимые гомотримерные комплексы [36], которые связываются с рецепторами, находящимися на поверхности различных клеток. В результате подобного связывания генерируется ряд провоспалительных эффектов, которые включают: высвобождение других провоспалительных цитокинов, таких как интерлейкин IL-6, IL-8 и IL-1; высвобождение матричных металлопротеиназ и положительную регуляцию экспрессии эндотелиальных адгезивных молекул, которые дополнительно усиливают воспалительный и иммунный каскад привлечением лейкоцитов во внесосудистые ткани.

Выраженность биологических эффектов TNF α зависит от его концентрации. Так, в низких концентрациях он действует преимущественно в месте выработки, опосредуя локальные иммунновоспалительные процессы. Однако в высоких концентрациях он может приводить к гиперактивации цитокинов и развитию иммунопатологической реакции. Неконтролируемая повышенная продукция TNF α может приводить к развитию патологических процессов, например, септического шока при микробных инфекциях или хронических воспалительных заболеваниях: ревматоидном артрите, болезни Крона, анкилозирующем спондилите (болезнь Бехтерева), а также к развитию неоплазий [37]. Участие TNF α в патогенезе широкого круга заболеваний способствовало появлению терапии, направленной на ингибирование данного цитокина.

Одной из групп антагонистов TNF α , разработанных для лечения заболеваний, опосредованных TNF α , являются антитела или фрагменты антител, специфически связывающиеся с TNF α и блокирующие его функцию. При применении анти-TNF α -антител было показано, что блокада TNF α может изменить направленность эффектов TNF α , включая снижение уровня IL-1, GM-CSF, IL-6, IL-8, адгезивных молекул и разрушение тканей [38]. Моноклональные антитела к TNF α или фрагменты антител к TNF α (инфликсимаб, адалимумаб, этанерцепт, голимумаб, цертолизумаба пэгол) показали клиническую эффективность при лечении состояний хронического воспаления, таких как ревматоидный артрит, псориа-

тический артрит, болезнь Крона и др.

Эффективность терапии, направленной на ингибирование TNF α при системных ревматических заболеваниях, указывает на ее потенциальную эффективность в лечении "цитокинового шторма" различного патогенеза, в том числе и при COVID-19, поскольку иммунопатология "цитокинового шторма" близка к иммунным механизмам развития аутоиммунных ревматических заболеваний [39, 40].

В доклинических исследованиях установлено, что TNF α играет важную роль в остром повреждении легких и уменьшает Т-клеточный ответ у мышей, зараженных SARS-CoV. Нейтрализация активности непосредственно TNF α или его рецептора обеспечивает защиту от SARS-CoV и приводит к снижению смертности [41]. Терапия, направленная на ингибирование TNF α , оказалась эффективной в лечении мышей с респираторно-синцитиальным вирусом и вирусом гриппа, была уменьшена продолжительность заболевания, потеря веса, воспаление в легких и содержание в них инфильтрата [42].

По литературным данным TNF α тесно связан с другими провоспалительными цитокинами. Его подавление приводит к быстрому (менее 12 ч) снижению концентраций IL-6 и IL-1 при активном ревматоидном артрите, а также фактора роста эндотелия сосудов, участвующего в регуляции сосудистой проницаемости, и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (G-CSF). Ингибирование TNF α сопровождается уменьшением содержания белков острой фазы: СРБ, гаптоглобина, фибриногена, белка сывороточного амилоида А (SAA1), а также Д-димера и фрагментов протромбина, что потенциально снижает вероятность тромботических осложнений [43].

Мета-анализ показал, что терапия блокаторами TNF α значительно улучшила выживаемость у пациентов с сепсисом [44].

На сегодняшний день в мире зарегистрировано несколько клинических исследований, посвященных изучению новых стратегий лечения COVID-19 с использованием ингибиторов TNF α инфликсимаба или адалимумаба (NCT04705844, NCT04593940, NCT04734678, NCT04425538), однако эффективность и безопасность антагонистов TNF α при лечении COVID-19 еще не была продемонстрирована в решающих многоцентровых клинических испытаниях 3 фазы. Следовательно, существует большая потребность в безопасных и эффективных препаратах, снижающих активность TNF α у пациентов с синдромом цитокинового шторма при лечении COVID-19.

Интерлейкин-6 (IL-6) представляет собой цитокин с плейотропной активностью, секретируемый не только иммунокомпетентными клетками, но и эндотелиальными, мезенхимальными клетками, фибробластами в ответ на активацию Toll-подобных рецепторов и провоспалительные цитокины IL-1 или TNF α . IL-6 как растворимая сигнальная молекула сообщает информацию о повреждении от очага целому организму. Результатом активации IL-6/IL-6R сигнального пути считаются: запуск синтеза белков острой фазы в печени (С-реактивный белок, сывороточный белок амилоида А, антитрипсин, гепцидин и фибриноген), индукция дифференцировки активированных В-клеток в плазматические клетки, наивных CD4+ Т-клеток в эффекторные клетки, СВ8+ Т-клеток в цитотоксические Т-лимфоциты, индукция созревания мегакариоцитов, активация тромбопластина, индукция секреции VEGF [45].

Рецептор IL-6 (IL-6R), активируясь, запускает каскад реакций в клетке, приводящих к активному синтезу белков, участвующих в реакциях воспалительного ответа. Рецептор активируется при связывании IL-6 с альфа-субъединицей рецептора IL-6 (CD126), и двух молекул gp130, передающих сигнал внутрь клетки [46]. Существуют 2 формы альфа-рецептора: мембранная (mIL-6R) и растворимая (sIL-6R). Растворимая форма образуется в результате протеолиза трансмембранной части mIL-6R или в процессе альтернативного сплайсинга мРНК mIL-6R. sIL-6R постоянно присутствует в сыворотке крови человека и обеспечивает реакцию на IL-6 клеток, не имеющих mIL-6R на поверхности.

Таким образом, проведение сигнала IL-6 внутрь клетки возможно 2 путями. Первый (классический сигналинг), при котором IL-6 связывается с клетками иммунной системы, экспрессирующими на своей поверхности mIL-6R ассоциированный с молекулой gp130. Второй (транс-сигналинг) - IL-6 связывается с циркулирующим sIL-6R, формируя комплекс, который связывается с клетками, имеющими на мембране только молекулы gp130, т.е. потенциально любыми клетками человеческого организма. В этом случае, на мембране клетки происходит сборка полного комплекса рецептора IL-6 и последующий запуск сигнального каскада в клетке. Блокирования действия IL-6 и, следовательно, воспалительной реакции можно добиться, помешав сборке полного комплекса рецептора IL-6, состоящего из альфа-субъединицы, молекул gp130 и IL-6.

Связывание избытка IL-6 и/или блокирование его биологической активности представляются перспективными в лечении "цитокинового шторма".

Известно, что применение тоцилизумаба (моноклонального антитела против рецептора интерлейкина-6 (IL-6R)) и силтуксимаба (моноклонального антитела, направленного на интерлейкин-6 (IL-6)) показало эффективность в лечении "цитокинового шторма", индуцированного терапией CAR Т-клетками, ГФС, многоочаговой болезнью Кастлемана [3].

Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (Food and Drug Administration, FDA) одобрило применение препарата тоцилизумаб к человеческому рецептору интерлейкина-6 (IL-6) для лечения вызванного CAR Т-клетками тяжелого или жизнеугрожающего син-

дрома высвобождения цитокинов у пациентов от двух лет и старше [47]. Препарат тоцилизумаб также показал свою эффективность в терапии COVID-19: по результатам исследования RECOVERY (NCT04381936) применение препарата способствует снижению летальности, по результатам исследования EMPACTA (NCT04372186) терапия тоцилизумабом ассоциирована с меньшей частотой подключения пациента к аппарату искусственной вентиляции легких. По результатам данных исследований FDA выдало экстренное разрешение на применение препарата для лечения COVID-19 [48]. Однако в рандомизированном клиническом исследовании 3 фазы (COVACTA, NCT04320615) с участием госпитализированных пациентов с тяжелой пневмонией, вызванной COVID-19, использование тоцилизумаба не привело к значительному улучшению клинического статуса или более низкой смертности по сравнению с плацебо через 28 дней [49]. Рандомизированное двойное слепое многоцентровое исследование фазы III для оценки эффективности и безопасности комбинированной терапии "ремдесивир плюс тоцилизумаб" по сравнению с терапией "ремдесивир плюс плацебо" у госпитализированных пациентов с тяжелой пневмонией COVID-19 (REMDACTA, NCT04409262) не достигло своей первичной конечной точки (сокращения времени до выписки из больницы до 28 дней), и ключевых вторичных конечных точек (смертность, частота подключения к искусственной вентиляции легких, клинический статус) по сравнению с монотерапией ремдесивером [50].

Ингибиторы IL-6 (олокизумаб) или блокаторы рецептора IL-6 (тоцилизумаб, сарилумаб, левилимаб) в соответствии с Временными методическими рекомендациями МЗ РФ по профилактике, диагностике и лечению новой коронавирусной инфекции COVID-19 рекомендуется вводить с целью подавления цитокинового шторма [51]. Эффективность и безопасность олокизумаба и левилимаба при лечении COVID-19 еще не была продемонстрирована в решающих многоцентровых клинических испытаниях 3 фазы.

Рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое исследование 3 фазы по оценке эффективности и безопасности сарилумаба у госпитализированных пациентов с тяжелым или критическим COVID-19 (NCT04327388) не показало его эффективность [52].

Таким образом, существует большая потребность в безопасных и эффективных препаратах, снижающих активность IL-6 у пациентов с синдромом цитокинового шторма при лечении COVID-19.

Анализ уровня техники показал, что в настоящее время в терапии "цитокинового шторма" в основном используются глюкокортикостероиды, характеризующиеся высокой токсичностью и риском развития нежелательных реакций [53, 54] и моноклональные антитела, имеющие высокую стоимость и ассоциированные с развитием оппортунистических инфекций [47]. В связи с этим поиск лекарственных препаратов, оказывающих терапевтический эффект в отношении "цитокинового шторма", является актуальным. В условиях пандемии коронавирусной инфекции такие лекарственные препараты являются особенно востребованными. В то же время в уровне техники нет информации о применении в терапии "цитокинового шторма" известного лекарственного средства Кортексин®. Применение препарата Кортексин® в терапии "цитокинового шторма", имеющего лучший профиль безопасности в сравнении с глюкокортикостероидами и моноклональными антителами, позволит уменьшить риск нежелательных побочных явлений.

Кортексин® представляет фармакологическое средство, содержащее в качестве активного начала выделенный целевой продукт в виде комплекса биологически активных полипептидов с молекулярной массой не более 15000 Да, изоэлектрической точкой 3,5-9,5 и максимумом поглощения в УФ-спектре при длине волны 275 ± 6 нм (RU 2275924). Препарат представляет собой лиофилизированный порошок белого или белого с желтоватым оттенком цвета. Кортексин имеет сложный состав, который практически невозможно охарактеризовать через последовательности аминокислот и их содержание. Так, в аминокислотном составе Кортексина имеется широкий спектр аминокислот, в т.ч. протеиногенных: аспарагиновая кислота и глицин, а также треонин, серин, глутаминовая кислота, пролин, аланин, валин, изолейцин, тирозин, фенилаланин, гистидин, лизин, аргинин и другие аминокислоты.

В настоящее время Кортексин® используется в медицинской практике для нормализации функций головного мозга [55], что может способствовать комплексному воздействию препарата при лечении "цитокинового шторма", направленному не только на снижение системной гипервоспалительной реакции, но и на симптоматическое лечение неврологических нарушений.

Сущность изобретения

Авторы настоящего изобретения неожиданно обнаружили, что известный лекарственный препарат Кортексин®, представляющий собой комплекс низкомолекулярных водорастворимых полипептидных фракций, выделенных из коры головного мозга скота, является эффективным средством в лечении "цитокинового шторма", а именно обладает способностью ингибировать TNF α и IL-6.

В *in vivo* эксперименте на модели септического шока у самцов мышей показано, что эффективность препарата Кортексин® в дозах 1,7 и 17 мг/кг превосходит таковую для препарата сравнения левилимаб (рекомбинантное человеческое моноклональное антитело к рецептору ИЛ-6) [56]. В *in vitro* исследовании на модели цитокинового шторма на клеточной линии макрофагов мыши RAW 264.7 показано, что исследуемый препарат Кортексин® проявил тенденцию к дозозависимости терапевтического эффекта в отношении уровня TNF α в культуральной среде.

Техническим результатом настоящего изобретения является расширение ассортимента лекарственных средств, применяемых в терапии "цитокинового шторма", а также лучшая эффективность препарата в сравнении с левилимабом, являющимся одним из ближайших аналогов.

Настоящее изобретение относится к применению лекарственного препарата Кортексин®, активным действующим веществом которого является комплекс низкомолекулярных водорастворимых полипептидных фракций, выделенных из коры головного мозга скота, в терапии "цитокинового шторма" различного патогенеза, в частности в качестве ингибитора TNF α и IL-6.

В одном из аспектов настоящее изобретение относится к применению комплекса низкомолекулярных водорастворимых полипептидных фракций, выделенных из коры головного мозга скота в терапии "цитокинового шторма", в другом аспекте настоящее изобретение относится к применению лекарственного препарата Кортексин® в терапии "цитокинового шторма".

Эффективность препарата Кортексин® в терапии "цитокинового шторма" была показана в доклинических исследованиях, программа которых включала два этапа: *in vitro* на модели цитокинового шторма на клеточной линии макрофагов мыши RAW 264.7 (профилактическая схема) и *in vivo* на модели ЛПС-индуцированного септического шока у мышей (лечебная схема).

Материалы и методы.

In vitro эксперимент. В качестве тест-системы была использована клеточная линия макрофагов мыши RAW 264.7, полученная из Американской коллекции клеточных культур (ATCC) [57]. Клетки RAW 264.7 являются моноцитарно-макрофагальной линией, выделенной Рачке и коллегами из опухоли мыши линии BALB/c, индуцированной вирусом лейкемии Абельсона [58]. Данная клеточная линия является стандартным модельным объектом для метаболических исследований [59]. В частности, клетки RAW 264.7, стимулированные ЛПС, широко используются при оценке клеточного ответа на микробные и противовоспалительные агенты [60]. В эксперименте были использованы клетки не старше 30-го пассажа. Клетки рассеивали в стерильные 6-луночные планшеты, обработанные для работы с адгезионными культурами, в концентрации 80.000 клеток/луночка в питательной среде DMEM с содержанием глюкозы 4,5 г/л (Биолот, lot. ДМ-20-05-MS) и 10%-й фетальной бычьей сыворотки (Capricorn, lot. C320-3374) (полная питательная среда). Клетки культивировали в течение 24 \pm 4 ч в условиях CO₂-инкубатора (5% CO₂, 37°C). На второй день инкубации проводили стимуляцию клеток последовательно растворами объектов исследования и, через 2 ч, ЛПС из *Escherichia coli* O111:B4 (Sigma Aldrich, lot. 099M4029V) в концентрации 50 нг/мл.

Спустя 24 \pm 4 ч инкубации в условиях CO₂-инкубатора, собирали культуральную среду в пробирки, клетки утилизировали. В эксперименте использовали следующие концентрации (мкг/мл) объектов испытания: Кортексин® - 31, 125, 250, 500, 1000; дексаметазон - 31, 125, 250, 400 мкг/мл; левилимаб - 8, 125, 500, 2000; адалимумаб - 35, 141, 563, 2250, 9000. Для количественного определения уровня TNF α использовали набор Mouse TNF α ELISA Kit (Invitrogen, cat.# BMS607-3TEN). Оптическую плотность измеряли спектрофотометрически при длине волны 450/620 нм.

In vivo эксперимент.

В качестве тест-системы использовали самцов мышей линии Balb/C, как широко применяемый вид животных при экспериментальном моделировании сепсиса [61, 62]. Эксперимент выполнен на 140 самцах мышей. Исследование было рассмотрено и одобрено для проведения на биоэтической комиссии на соответствие проекта исследования принципам "Трех R" и Директиве 2010/63/EU. Для моделирования экспериментального сепсиса на мышцах в данном исследовании выбрана модель ЛПС-индуцированного септического шока с однократным внутрибрюшинным введением ЛПС в дозе 30 мг/кг экспериментальным животным. Объекты испытания вводили непосредственно после введения ЛПС, далее - через 24 ч. Характеристика экспериментальных групп отражена в таблице ниже.

У эвтаназированных через 4 ч после моделирования патологии животных посмертно отбирали кровь из сердца и получали плазму для последующего определения уровня TNF α и IL-6.

Количественное определение медиаторов воспаления (TNF α и IL-6) в культуральной среде и плазме крови мышей проводили с помощью иммуоферментного анализа в варианте неконкурентного метода "сэндвич". Для количественного определения IL-6 использовали набор Mouse IL-6 ELISA Kit (Invitrogen, cat.# BMS603-2TEN), для TNF α использовали набор Mouse TNF α ELISA Kit (Invitrogen, cat.# BMS607-3TEN). Оптическую плотность измеряли спектрофотометрически при длине волны 450/620 нм.

Характеристика исследуемых групп

№ гр.	Кол-во самцов	Характеристика исследуемых групп	Объект исследования	Доза, мг/кг	Эвтаназия	
					Через 4 часа после введения ЛПС	Через 72 часа после введения ЛПС
1	20	Интактная	-	-	По 8 животных из каждой группы	Оставшиеся животные
2	20	Формирование патологии без терапии	Носитель	0		
3	20	Формирование патологии + терапия	Дексаметазон	3,6		
4	20		Левилимаб	57		
5	20		Кортексин®	0,17 (1/10 ТД*)		
6	20			1,7 (ТД)		
7	20			17 (10 ТД)		

Примечание - * - ТД - терапевтическая доза для животного, рассчитанная исходя из терапевтической дозы для человека с применением коэффициента пересчета доз [63].

Статистическая обработка данных.

Для всех данных была применена описательная статистика. Статистический анализ выполняли с помощью лицензированного программного обеспечения GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software, США). Для оценки выживаемости животных применили процедуру Каплана-Мейера с последующей оценкой межгрупповых различий лог-ранговым тестом Мантела-Кокса. Для данных клинического наблюдения рассчитывали медиану и интерквартильный размах. Статистический анализ данных проводили с помощью непараметрического критерия Краскела-Уоллиса с последующим межгрупповым сравнением методом средних рангов. Различия определяли как статистически значимые при $p < 0,05$. Для статистической оценки медиаторов воспаления использовали программное обеспечение MARS Data Analysis Software 3.42 R3. Зависимость между единицами OD и концентрацией медиаторов воспаления оценивали при помощи калибровочного графика по значениям OD для стандартных образцов в диапазоне концентраций, обеспечивающих линейность и чувствительность методики.

Результаты.

Результаты *in vitro* исследования.

Результаты оценки уровня TNF α в *in vitro* эксперименте отражены на фиг. 1. Показано, что внесение индуктора патологии (ЛПС в концентрации 50 нг/мл) привело к увеличению уровня TNF α в культуральной среде через 24 ч после моделирования цитокинового шторма. Внесение препарата сравнения адалимумаб привело к дозозависимому снижению концентрации TNF α в культуральной среде, что также является подтверждением состоятельности модели, поскольку адалимумаб представляет собой рекомбинантное моноклональное антитело, пептидная последовательность которого идентична IgG1 человека, и селективно связывается с фактором некроза опухоли. Дексаметазон стимулировал снижение уровня TNF α на 25% относительно контроля патологии, при этом признаков дозозависимости зафиксировано не было. Препарат сравнения левилимаб не оказал влияния на уровень TNF α в культуральной среде.

Исследуемый препарат Кортексин® проявил тенденцию к дозозависимости терапевтического эффекта в отношении уровня TNF α в культуральной среде. Максимальный терапевтический эффект препарата Кортексин® был зафиксирован в наименьшей концентрации 31 мкг/кг.

Результаты *in vivo* исследования.

Клиническая картина патологии.

Первые клинические признаки развития острого воспаления в виде угнетения и взъерошенности шерсти отмечали среди животных всех групп с ЛПС-индуцированным септическим шоком в течение первых 4 ч после введения индуктора патологии. По мере развития патологического процесса клиническое состояние животных усугублялось, что проявлялось в снижении тургора кожи и мышечного тонуса, снижении реакции на внешние раздражители, бледности слизистых оболочек и атаксии. Пик развития септического шока с максимальным количеством летальных исходов наблюдали в группе негативного контроля на 2-й день после индукции патологии. Яркими клиническими проявлениями септического шока у выживших животных были одышка, принятие вынужденного положения тела (лежание на боку), истощение и тремор.

На пике развития септического шока в группе животных, получавших в качестве позитивного контроля дексаметазон в дозе 3,6 мг/кг, выраженность клинических симптомов была значимо ниже по сравнению с группой негативного контроля. На 2-й день после введения ЛПС в группе животных, получавших левилимаб в дозе 57 мг/кг, отмечали терапевтический эффект в виде снижения клинического проявления развития септического шока по сравнению с группой негативного контроля.

Применение тестируемого препарата Кортексин® в максимальной исследуемой дозе 17 мг/кг не

оказало терапевтического влияния на развитие септического шока. У животных, выживших после пика развития септического шока, применение тестируемого препарата Кортексин® в дозах 0,17 и 1,7 мг/кг оказало нормализующее действие. Так, начиная со 2-го дня после индукции септического шока, среди животных данных групп отмечалось полное отсутствие клинических симптомов до окончания эксперимента (по 5 самцов мышей в группе). Обнаруженные терапевтические эффекты были сопоставимы с эффектами применения препарата позитивного контроля дексаметазон в дозе 3,6 мг/кг.

Данные по выживаемости животных на 3-е сутки исследования приведены на фиг. 2.

Однократное внутривентральное введение животным ЛПС привело к развитию септического шока, при котором через 48 ч после введения индуктора патологии смертность достигла 100% в группе негативного контроля (патология без лечения). В группе животных, получавших в качестве позитивного контроля дексаметазон в дозе 3,6 мг/кг, гибель отсутствовала на протяжении всего эксперимента. В группе введения препарата левелимаб была зафиксирована гибель животных на уровне 50%. Тестируемый препарат Кортексин® в дозах 0,17 и 1,7 мг/кг проявил фармакологическую активность на модели ЛПС-индуцированного септического шока у самцов мышей, и его применение привело к статистически значимому увеличению выживаемости животных на фоне развития септического шока.

Результаты оценки уровня IL-6 в плазме крови мышей, эвтаназированных через 4 ч после моделирования патологии, отражены на фиг. 3.

Показано, что введение индуктора патологии привело к увеличению уровня IL-6 в плазме крови мышей, перенесших септический шок, по сравнению с интактной группой через 4 ч после моделирования цитокинового шторма. Препарат сравнения дексаметазон стимулировал снижение уровня IL-6 в плазме крови мышей на 86% относительно группы контроля патологии. Введение препарата сравнения Левелимаб привело к снижению уровня IL-6 в плазме крови мышей на 29% относительно контроля патологии. Препарат Кортексин® в дозах 1,7 и 17 мг/кг снизил концентрацию IL-6 в плазме крови мышей по сравнению с препаратом левелимаб на 21 и 40%, соответственно.

Результаты оценки уровня TNF α в плазме крови мышей, эвтаназированных через 4 ч после моделирования патологии, отражены на рисунке 4.

Показано, что введение индуктора патологии (ЛПС в дозе 30 мг/кг) привело к увеличению уровня TNF α в плазме крови мышей, перенесших септический шок, по сравнению с интактной группой через 4 ч после моделирования патологии. Препарат сравнения дексаметазон стимулировал снижение уровня TNF α в плазме крови мышей на 88% относительно группы контроля патологии. Введение препарата сравнения левелимаб привело к снижению уровня TNF α в плазме крови мышей на 33% относительно группы контроля патологии. Препарат Кортексин® в дозе 0,17 мг/кг не оказал эффекта в отношении снижения уровня TNF α в плазме крови животных. Препарат Кортексин® в дозах 1,7 и 17 мг/кг снизил концентрацию TNF α в плазме крови мышей по сравнению с препаратом левелимаб на 22 и 37%, соответственно. На основании полученных результатов был сделан вывод о том, что эффективность препарата Кортексин® в дозах 1,7 и 17 мг/кг превосходит таковую для препарата сравнения левелимаб.

По результатам *in vitro* исследования показано, что исследуемый препарат Кортексин® проявил тенденцию к дозозависимости терапевтического эффекта в отношении уровня TNF α в культуральной среде.

В *in vivo* исследовании препарат Кортексин® при введении в дозах 0,17 и 1,7 мг/кг проявил терапевтический эффект в отношении ЛПС-индуцированного септического шока. Было отмечено снижение выраженности клинических признаков патологии и смертности животных, а в некоторых случаях регистрировали нормализацию клинического состояния животных вплоть до полного исчезновения клинических проявлений острого воспалительного процесса. Препарат Кортексин® (за исключением дозы 0,17 мг/кг) оказал терапевтический эффект в отношении уровня IL-6 и TNF α в плазме крови мышей на модели цитокинового шторма, сопоставимый, либо превосходящий таковой для препарата сравнения левелимаб. Эффективность препарата Кортексин® в дозах 1,7 и 17 мг/кг превосходит таковую для препарата сравнения левелимаб.

Таким образом, по результатам исследования, а также учитывая профиль безопасности и низкую стоимость органолептических препаратов, был сделан вывод, что препарат Кортексин® является перспективным лекарственным кандидатом для дальнейшей разработки в качестве элемента комплексной терапии либо профилактики осложнений заболеваний, патогенетический механизм развития которых включает в себя гиперэкспрессию провоспалительных цитокинов, в том числе осложнений новой коронавирусной инфекции COVID-19. Действие исследуемого препарата в отношении цитокинового шторма, предположительно, развивается за счет ингибирования внутриклеточных каскадов основных провоспалительных цитокинов - TNF α и IL-6. При этом, поскольку уровень цитокинов снижался не полностью, как это было на фоне применения дексаметазона - ингибитора нуклеарных факторов воспаления, вероятно, что точками приложения действия препаратов являются внутриклеточные сигнальные белки.

Список литературы.

1. Кетлинский С. А., Симбирцев А. С. Цитокины. СПб: Фолиант, 2008 г. 552 с.
2. Шипилов М. В. Молекулярные механизмы "цитокинового шторма" при острых инфекционных заболеваниях. *Лечебное дело*. 2013; 1:81–85.
3. Fajgenbaum D. C., June C. H. Cytokine Storm. *The New England Journal of Medicine*. 2020; 383:2255–2273. DOI: 10.1056/NEJMra2026131
4. Потапнев М. П. Цитокиновый шторм: причины и последствия. *Иммунология*. 2021; 42 (2):175 –178.
5. Jose R. J., Manuel A. COVID-19 cytokine storm: the interplay between inflammation and coagulation. *The Lancet Respiratory Medicine*. 2020. doi:10.1016/s2213-2600(20)30216-2
6. Ferrara J. L., Abhyankar S., Gilliland D. G. Cytokine storm of graft-versus-host disease: a critical effector role for interleukin-1. *Transplantation proceedings*. 1993; 25(1): 1216–1217.
7. Canna S. W., Behrens E. M. Making Sense of the Cytokine Storm: A Conceptual Framework for Understanding, Diagnosing, and Treating Hemophagocytic Syndromes. *Pediatric Clinics of North America*. 2012; 59(2), 329–344. doi:10.1016/j.pcl.2012.03.002
8. Buszko M., Nita-Lazar A., Park J.-H., Schwartzberg P. L. et al. Lessons learned: new insights on the role of cytokines in COVID-19. *Nature Immunology*. 2021; 22(4): 404–411. doi:10.1038/s41590-021-00901-9
9. Chatenoud L., Ferran C., Reuter A., Legendre C. et al. Systemic Reaction to the Anti-T-Cell Monoclonal Antibody OKT3 in Relation to Serum Levels of Tumor Necrosis Factor and Interferon- α . *New England Journal of Medicine*. 1989; 320(21): 1420–1421. doi:10.1056/nejm198905253202117
10. Lee D. W., Gardner R., Porter D. L. et al. Current concepts in the diagnosis and management of cytokine release syndrome. *Blood*. 2014; 124(2), 188–195. doi:10.1182/blood-2014-05-552729
11. Shimabukuro-Vornhagen A., Gödel P., Subklewe M. et al. Cytokine release syndrome. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*. 2018; 6(1). doi:10.1186/s40425-018-0343-9
12. Janka G. E., Lehmsberg K. Hemophagocytic syndromes – an update. *Blood Rev*. 2014; 28(4):135–142. doi: 10.1016/j.blre.2014.03.002
13. Risdall R. J., McKenna R. W., Nesbit M. E. et al. Virus-associated hemophagocytic syndrome: a benign histiocytic proliferation distinct from malignant histiocytosis. *Cancer*. 1979; 44(3): 993–1002. DOI: 10.1002/1097-0142(197909)44:3<993::aid-cncr2820440329>3.0.co;2-5

14. Tiab M., Mechinaud F., Harousseau J.-L. Haemophagocytic syndrome associated with infections. *Best Practice & Research Clinical Haematology*. 2000; 13(2):163–178. doi:10.1053/beha.2000.0066
15. Roupael N. G., Talati N. J., Vaughan C. et al. Infections associated with haemophagocytic syndrome. *The Lancet Infectious Diseases*. 2007; 7(12), 814–822. doi:10.1016/s1473-3099(07)70290-6
16. Chen J., Wang X., He P., Li Y. et al. Viral etiology, clinical and laboratory features of adult hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Journal of Medical Virology*. 2015; 88(3): 541–549. doi:10.1002/jmv.24359
17. Imashuku S. Clinical features and treatment strategies of Epstein–Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 2002; 44(3), 259–272. doi:10.1016/s1040-8428(02)00117-8
18. Hadchouel M., Prieur A.-M., Griscelli C. Acute hemorrhagic, hepatic, and neurologic manifestations in juvenile rheumatoid arthritis: Possible relationship to drugs or infection. *The Journal of Pediatrics*. 1985; 106(4): 561–566. doi:10.1016/s0022-3476(85)80072-x
19. Behrens E. M., Koretzky G. A. Review: Cytokine Storm Syndrome: Looking Toward the Precision Medicine Era. *Arthritis & Rheumatology*. 2017; 69(6): 1135–1143. doi:10.1002/art.40071
20. Kruttgen A., Rose-John S. Interleukin-6 in sepsis and capillary leakage syndrom. *Journal of Interferon and Cytokine Research*. 2012; 32(2):60–65. DOI10.1089/jir.2011.0062
21. Casey L. C., Balk R. A., Bone R. C. Plasma cytokine and endotoxin levels correlate with survival in patients with the sepsis syndrome. *Annals of Internal Medicine*. 1993; 119 (8): 771–778. DOI: <https://doi.org/10.7326/0003-4819-119-8-199310150-00001>
22. Tracey K. J., Fong Y., Heese D. G. et al. Anti-cachectin/TNF monoclonal antibodies prevent septic shock during lethal bacteraemia. *Nature*. 1987; 330 (6149): 662–664. doi: <https://doi.org/10.1038/330662a0>
23. Grupp S. A., Kalos M., Barrett D. et al. Chimeric Antigen Receptor – Modified T Cells for Acute Lymphoid Leukemia. *New England Journal of Medicine*. 2013; 368(16): 1509–1518. doi:10.1056/nejmoa1215134
24. Rouse B. T. Virus-Induced Immunopathology. *Advances in Virus Research*. 1996; 47:353–376. doi:10.1016/s0065-3527(08)60739-3
25. Coomes E. A., Haghbayan H. Interleukin-6 in Covid-19: A systematic review and meta-analysis. *Reviews in Medical Virology*. 2020; 30(6): 1–9. doi:10.1002/rmv.2141

26. Li Y., Hu Y., Yu J., Ma T. Retrospective analysis of laboratory testing in 54 patients with severer critical type 2019 novel coronavirus pneumonia. *Laboratory Investigation*. 2020; 100: 794–800. doi: 10.1038/s41374-020-0431-6
27. Zhu Z., Cai T., Fan L. Lou K. et al. Clinical value of immune-inflammatory parameters to assess the severity of coronavirus disease 2019. *International Journal of Infectious Diseases*. 2020. 95:332–339. doi:10.1016/j.ijid.2020.04.041
28. Wan S., Yi Q., Fan S., et al. Relationships among lymphocyte subsets, cytokines, and the pulmonary inflammation index in coronavirus (COVID-19) infected patients. *British Journal of Haematology*. 2020; 189(3):428-37. doi: 10.1111/bjh.16659
29. Herold T., Jurinovic V., Arnreixh C. et al. Level pf IL-6 predicks respiratory failure in hospiralized symptomatic COVID-19 patients. *medRxiv*. doi: 10.1101/2020.04.01.20047381
30. Aziz M., Fatima R., Assaly R. Elevated interleukin-6 and severe COVID-19: A meta-analysis. *Journal of Medical Virology*. 2020. doi: 10.1002/jmv.25948
31. Wu C., Chen X., Cai Y. et al. Risk factors associated with acute respiratory distress syndrome and death in patients with coronavirus disease 2019 pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Intern Med*. 2020. doi: 10.1001/jamainternmed.2020.0994
32. Gao Y., Li T., Han M. et al. Diagnostic utility of clinical laboratory data determinations for patients with the severe COVID-19. *Journal of Medical Virology*. 2020; 92:791–796. <https://doi.org/10.1002/jmv.25770>
33. Макарова Е. В., Тюрикова Л. В., Любавина Н. А. Применение системных кортикостероидов при новой коронавирусной инфекции (с позиций международных и российских рекомендаций). *Медицинский альманах*. 2021; 1(66): 74–82.
34. Grell M., Douni E., Wajant H. et al. The transmembrane form of tumor necrosis factor is the prime activating ligand of the 80 kDa tumor necrosis factor receptor. *Cell*. 1995; 83(5): 793–802. doi:10.1016/0092-8674(95)90192-2.
35. Kriegler M., Perez C., DeFay K., Albert I., Lu S. D. A novel form of TNF/cachectin is a cell surface cytotoxic transmembrane protein: Ramifications for the complex physiology of TNF. *Cell*. 1988; 53(1): 45–53. doi:10.1016/0092-8674(88)90486-2
36. Smith R. A., Baglioni C. The active form of tumor necrosis factor is a trimer. *Journal of biological chemistry*. 1987; 262 (15): 6951-6954.
37. Ярилин Д. А. Роль фактора некроза опухолей в регуляции воспалительного ответа моноцитов и макрофагов. *Иммунология*. 2014; 4: 195-201.
38. Feldmann M., Elliot M. J., Woody J. N. et al. Anti-tumor necrosis factor-alpha therapy of rheumatoid arthritis. *Advances in Immunology*. 1997; 64:283–350.

39. Feldmann M., Maini R. N., Woody J. N. et al. Trials of anti-tumour necrosis factor therapy for COVID-19 are urgently needed. *The Lancet*. 2020; 395:1407–1409. doi:10.1016/s0140-6736(20)30858-8
40. Robinson P. C., Liew D. F. L., Liew J. W. et al. The Potential for Repurposing Anti-TNF as a Therapy for the Treatment of COVID-19. *Med*. 2020; 1: 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.medj.2020.11.005>
41. McDermott J. E. et al. The effect of inhibition of PP1 and TNF α signaling on pathogenesis of SARS coronavirus. *BMC systems biology*. 2016; 10 (1): 93–105. doi: 10.1186/s12918-016- 0336-6.
42. Hussell T., Pennycook A., Openshaw P. J. M. Inhibition of tumor necrosis factor reduces the severity of virus-specific lung immunopathology. *European Journal of Immunology*. 2001; 31(9):2566–2573. doi:10.1002/1521-4141(200109)31:9<2566::aid-immu2566>3.0.co;2-1
43. Аронова Е. С, Белов Б. С. Перспективы применения ингибиторов фактора некроза опухоли α у больных COVID-19. *Современная ревматология*. 2021; 15(2):89–93. DOI: 10.14412/1996-7012-2021-2-89-93
44. Qiu P. et al. Anti-tumor necrosis factor therapy is associated with improved survival in clinical sepsis trials: a meta-analysis. *Critical care medicine*. 2013; 41(10). doi: 10.1097/CCM.0b013e3182982add
45. Tanaka T., Narazaki M., Kishimoto T. Immunotherapeutic implications of IL-6 blockade for cytokine storm. *Immunotherapy*. 2016; 8(8): 959 – 970. DOI: 10.2217/imt-2016-0020
46. Jones S. A., Horiuchi S., Topley N. et al. The soluble interleukin 6 receptor: mechanisms of production and implications in disease. *The FASEB Journal*. 2001; 15(1): 43-58 doi:10.1096/fj.99-1003rev
47. FDA approves tisagenlecleucel for B-cell ALL and tocilizumab for cytokine release syndrome. URL: <https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-approves-tisagenlecleucel-b-cell-all-and-tocilizumab-cytokine-release-syndrome>. Дата обращения 26.09.21.
48. Frequently Asked Questions on the Emergency Use Authorization for Actemra (Tocilizumab) for Treatment of COVID-19. [<https://www.fda.gov/media/150345/download>]. Дата обращения 26.09.21.
49. Rosas I. O., Bräu N., Waters M., Go R. C. Tocilizumab in Patients with Covid-19 Pneumonia. *The New England Journal of Medicine*. 2021; 384:1503–1516. DOI: 10.1056/NEJMoa2028700.
50. Roche provides update on the phase III REMDACTA trial of Actemra/RoActemra plus Veklury in patients with severe COVID-19 pneumonia.

- [<https://www.roche.com/media/releases/med-cor-2021-03-11.htm>]. Дата обращения 28.09.21.
51. Временные методические рекомендации МЗ РФ по профилактике, диагностике и лечению новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 11. 07.05.21.
 52. Lescure F.-X., Honda H., Fowler R. A. et al. Sarilumab in patients admitted to hospital with severe or critical COVID-19: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *The Lancet Respiratory Medicine*, 2021; 9(5), 522–532. doi:10.1016/s2213-2600(21)00099-0
 53. Борисова Е. О. Побочные эффекты системной глюкокортикостероидной терапии. *Атмосфера. Пульмонология и аллергология*. 2004; 3.
 54. Комердус И. В., Будул Н. А., Чеканова А. В. Системное действие глюкокортикоидных препаратов: в помощь врачу общей практики (обзор литературы). *Российский медицинский журнал*. 2017; 25(1):45-48.
 55. Инструкция по применению лекарственного препарата «Кортексин®». [<https://grls.rosminzdrav.ru/>]. Дата обращения 25.09.21.
 56. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата «Илсира®». [<https://grls.rosminzdrav.ru/>]. Дата обращения 25.09.21.
 57. RAW 264.7 (ATCC® TIB-71™). [https://www.lgcstandards-atcc.org/products/all/TIB-71.aspx?geo_country=ru#generalinformation]. Дата обращения 25.09.21.
 58. Raschke W. C, Baird S., Ralph P., Nakoinz I. Functional macrophage cell lines transformed by Abelson leukemia virus. *Cell*. 1978; 15(1):261–267. DOI: 10.1016/0092-8674(78)90101-0
 59. Merly L., Smith S.L. Murine RAW 264.7 cell line as an immune target: are we missing something? *Immunopharmacology and Immunotoxicology*. 2017; 39(2):55–58. DOI: 10.1080/08923973.2017.1282511
 60. Shigemori S., Namai F., Yamamoto Y., Nigar S., Sato T., Ogita T., Shimosato T. Genetically modified *Lactococcus lactis* producing a green fluorescent protein-bovine lactoferrin fusion protein suppresses proinflammatory cytokine expression in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 cells. *Journal of Dairy Science*. 2017; 100(9):7007–7015. DOI: 10.3168/jds.2017-12872
 61. Sardari M., Skuljec J., Yin D. et al. Lipopolysaccharide-induced sepsis-like state compromises post-ischemic neurological recovery, brain tissue survival and remodeling via mechanisms involving microvascular thrombosis and brain T cell infiltration. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2021; 91:627–638. DOI: 10.1016/j.bbi.2020.10.015
 62. Alsharif K. F., Almalki A. A., Al-Amer O. et al. Oleuropein protects against lipopolysaccharide-induced sepsis and alleviates inflammatory responses in mice. *IUBMB Life*. 2020; 72(10):2121–2132. DOI: 10.1002/iub.2347.
 63. Estimating the Safe Starting Dose in Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers. Guidance for Industry. Rockville: *Food and Drug Administration*; 2005.

Перечень фигур, чертежей и иных материалов

- Фиг. 1. Уровень TNF α в культуральной среде после моделирования цитокинового шторма.
 Фиг. 2. Соотношение погибших и выживших животных.
 Фиг. 3. Уровень IL-6 в плазме крови мышей через 4 ч после моделирования патологии, * - отличие от группы контроля патологии, $p \leq 0,05$ (t-тест).

Фиг. 4. Уровень TNF α в плазме крови мышей через 4 ч после моделирования патологии, * - отличие от группы контроля патологии, $p \leq 0,05$ (t-тест).

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

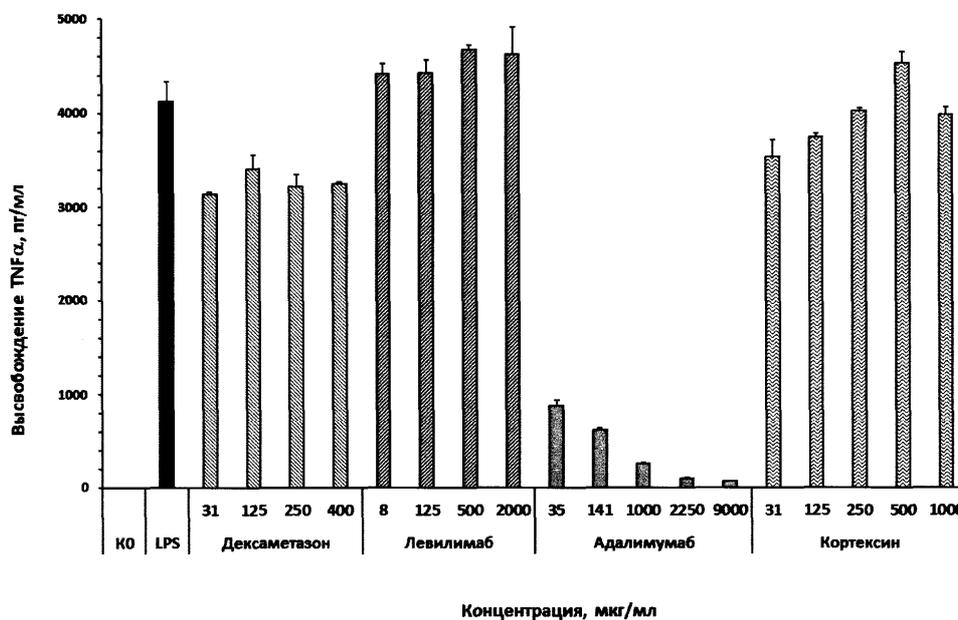
1. Применение комплекса низкомолекулярных водорастворимых полипептидных фракций, выделенных из коры головного мозга скота, с молекулярной массой не более 15000 Да, изоэлектрической точкой 3,5-9,5 и максимумом поглощения в УФ-спектре при длине волны 275 ± 6 нм, в терапии "цитокинового шторма".

2. Применение по п.1, отличающееся тем, что терапия "цитокинового шторма" направлена на ингибирование TNF α и IL-6.

3. Применение по п.1 и 2, отличающееся тем, что комплекс низкомолекулярных водорастворимых полипептидных фракций, выделенных из коры головного мозга скота, представляет собой лекарственное средство Кортексин.

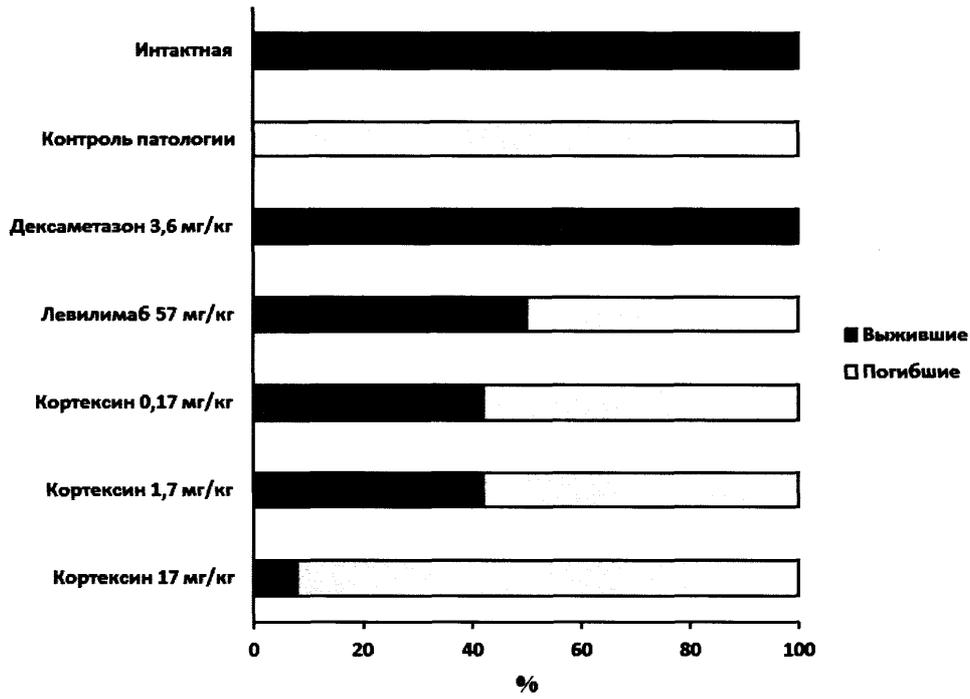
4. Применение по любому из пп.1-3, отличающееся тем, что "цитокиновый шторм" является осложнением лекарственной терапии, инфекционных, аутоиммунных, онкологических, гематологических, генетических заболеваний.

5. Применение по любому из пп.1-4, отличающееся тем, что "цитокиновый шторм" является осложнением COVID-19.

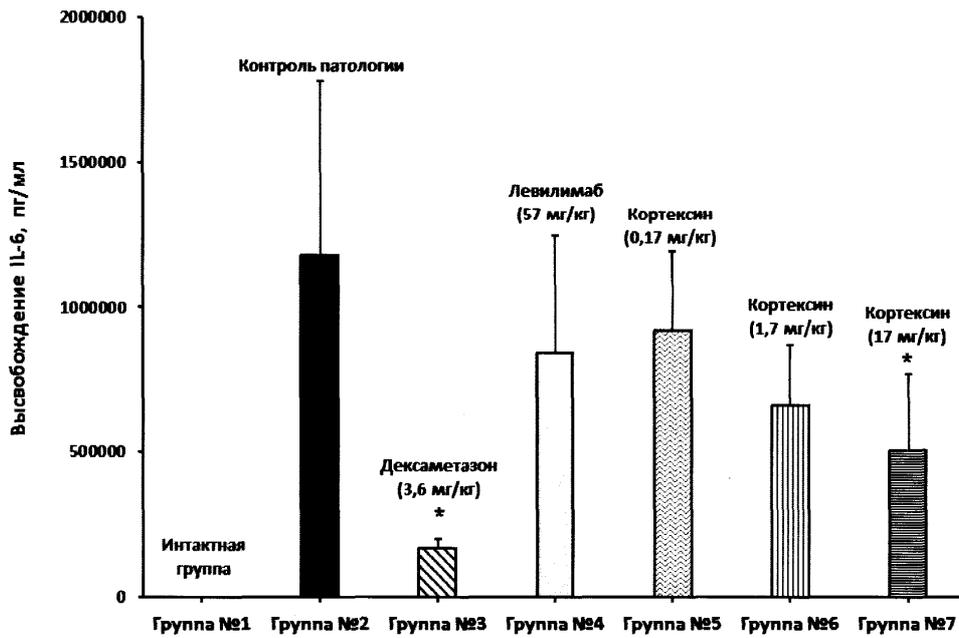


Концентрация, мкг/мл

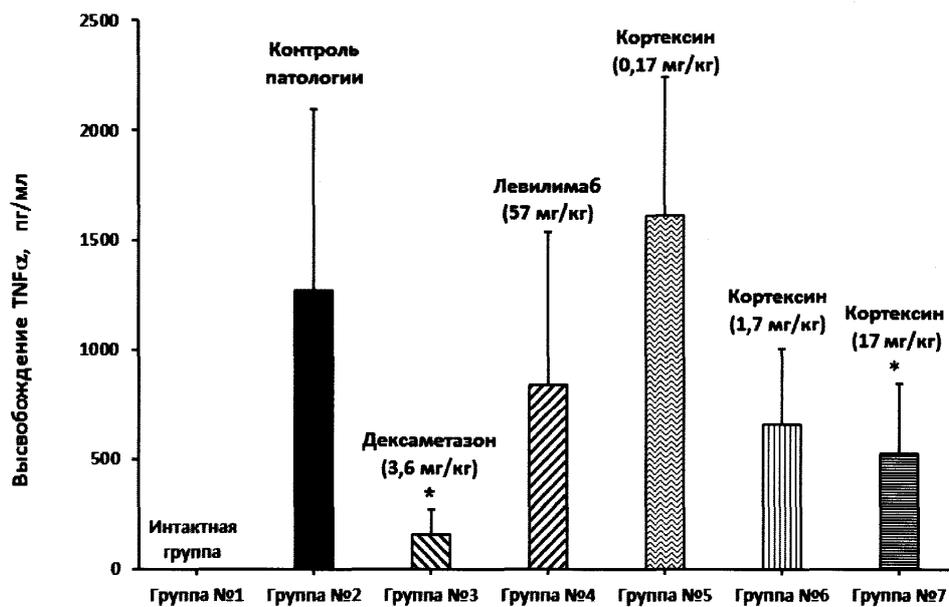
Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2