

А.А.Петров, В.Н.Лебедев, Т.М.Плеханова, Л.Ф.Стובה, Г.В.Борисевич, О.Н.Сидорова, О.В.Чухраля, С.В.Борисевич

## СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ РАЗРАБОТКИ СРЕДСТВ ЭКСТРЕННОЙ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ БОЛЕЗНИ, ВЫЗВАННОЙ ВИРУСОМ ЭБОЛА

ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны, Сергиев Посад, Российская Федерация

В качестве основных эффективных и экономичных мер борьбы с распространением эпидемии Эбола в настоящее время рассматривают вакцинацию населения в эндемичных регионах и внедрение в широкую клиническую практику эффективных средств экстренной профилактики и лечения. Целью настоящего обзора является анализ современного состояния разработки средств экстренной профилактики и лечения болезни, вызванной вирусом Эбола (БВВЭ). Основными направлениями создания эффективных средств экстренной профилактики и лечения лихорадки Эбола является разработка препаратов, основанных на вирусспецифических антителах (в том числе и моноклональных), малых интерферирующих РНК, антисмысловых фосфордиамидатных морфолиновых олигомерах и интерферонах. В обзоре рассмотрены наиболее значимые результаты в области создания средств экстренной профилактики и лечения БВВЭ.

*Ключевые слова:* вирус Эбола, лекарственные средства, экстренная профилактика и лечение, вирусспецифические антитела, моноклональные антитела, малые интерферирующие РНК, антисмысловые фосфордиамидатные морфолиновые олигомеры.

A.A.Petrov, V.N.Lebedev, T.M.Plekhanova, L.F.Stovba, G.V.Borisevich, O.N.Sidorova, O.V.Chukhralya, S.V.Borisevich

## Current State of the Development of Therapies for Emergency Prophylaxis and Treatment of Ebola Virus Disease

The 48<sup>th</sup> Central Research Institute of the RF Ministry of Defense, Sergiev Possad, Russian Federation

Nowadays vaccination of the population living in the endemic regions and widespread implementation of the potent therapies for the emergency prophylaxis and treatment into the clinical practice are regarded as the basic efficient and cost-effective measures for Ebola epidemic spread control. Objective of the review is to analyze current state of the development of aids for the immediate prophylaxis and treatment of Ebola fever. Focus area of the activities is the construction of drugs on the basis of virus-specific anti-bodies (including monoclonal), small interfering RNA, and anti-sense phosphordiamidate morpholine oligomers and interferons. The paper discusses the most significant achievements in this sphere.

*Key words:* Ebola virus, hemorrhagic fever, medical products, emergency prophylaxis and treatment, virus-specific antibodies, monoclonal antibodies, small interfering RNA, anti-sense phosphordiamidate morpholine oligomers.

Эпидемическая вспышка лихорадки Эбола, начавшаяся в декабре 2013 г., характеризуется самым большим числом случаев болезни и наибольшей территорией распространения. В ходе данной эпидемии зарегистрированы случаи завоза БВВЭ из Западной Африки практически на все континенты, кроме Антарктиды. В настоящее время мировым сообществом лихорадка Эбола рассматривается в качестве одной из глобальных угроз для человечества [10]. По пессимистическому сценарию Всемирного Банка Реконструкции и Развития, экономический ущерб от распространения болезни может составить 32 млрд долларов США [1, 5].

Целью данного обзора является анализ современного состояния разработки средств экстренной профилактики и лечения болезни, вызванной вирусом Эбола.

Все существующие на сегодняшний день средства экстренной профилактики и лечения лихорадки Эбола ВОЗ разделяет на следующие категории: препараты

на основе вирусспецифических антител (плазма крови реконвалесцентов, гипериммунный гетерологичный иммуноглобулин из плазмы иммунизированных животных с высоким титром вируснейтрализующих антител (ВНА), гуманизированные моноклональные антитела (МКАт) к вирусу Эбола); малые интерферирующие (small interfering) РНК – миРНК (siRNA); химиопрепараты широкого спектра действия (рекомбинантные белки и вещества, относящиеся к классу аномальных нуклеозидов); интерфероны.

Рассмотрим наиболее значимые результаты, достигнутые при использовании средств, относящихся к указанным выше категориям.

**Препараты на основе вирусспецифических антител.** В настоящее время одним из наиболее перспективных средств экстренной профилактики опасных и особо опасных инфекционных болезней являются препараты, содержащие специфические антитела. По критерию сопоставления вида донора и реципиента антител эти препараты разделяют на

гомологичные и гетерологичные.

При сопоставлении эффективности данных препаратов для экстренной профилактики и лечения человека *a priori* можно сказать, что гомологичные препараты при одинаковом, по отношению к гетерологичным, титре специфических антител будут более эффективны. Однако при отсутствии контакта со специализированными медицинскими учреждениями, расположенными в эндемичных по отношению к рассматриваемому возбудителю регионах, они являются практически недоступными [3].

Еще в 1977 г. была использована сыворотка реконвалесцентов для экстренной профилактики и лечения при случае внутрилабораторного заражения вирусом Эбола в Портон-Дауне, Великобритания [22]. Однако, несмотря на положительный результат лечения, полученные данные трудно однозначно интерпретировать. Неизвестно, является ли достаточным присутствие ВНА для предотвращения развития болезни. Так, по данным P.V. Jahrling *et al.* [18], при введении яванским макакам плазмы крови животных этого же вида, выживших после инфицирования вирусом Эбола, несмотря на присутствие в крови животных антител в значимых титрах, болезнь у обезьян проходила так же, как и у животных контрольной группы, не получивших плазму крови реконвалесцентов.

В качестве средства экстренной профилактики описано использование гипериммунного гетерологичного иммуноглобулина, полученного в результате очистки и концентрирования плазмы иммунизированных животных с высоким титром ВНА [1, 4]. В настоящее время имеется опыт применения гетерологичных иммуноглобулинов против других нозологических форм [1, 3].

Необходимо отметить, что при использовании поликлональных иммунных сывороток существует теоретическая возможность повышения инфекционности вируса Эбола для клеток, что связано с присутствием антител вследствие образования инфекционных комплексов «вирус-антитело» [1, 3]. Указанные факторы являются причиной того, что в настоящее время одним из приоритетных направлений клинической иммунологии является разработка генно-инженерных методов получения антител человека, которые можно использовать в качестве терапевтических средств. Принципиальное решение проблемы создания эффективных и безопасных протективных антител стало возможным после усовершенствования технологии получения рекомбинантных гуманизированных моноклональных антител. Эта технология базируется на методах генной инженерии и нанобиотехнологии.

Поскольку МКАт по видовому происхождению являются мышинными, то для «гуманизации» их необходимо сделать максимально похожими на антитела человека. На практике это осуществляют с помощью либо технологии химерных антител, либо технологии получения полностью гуманизированных анти-

тел [4]. В настоящее время стало возможным получать МКАт заданной специфичности, аффинности и изогиа и конструировать гены антител, содержащие V-гены мыши и C-гены человека.

Фирмой Mapp Biopharmaceutical Inc. разработаны гуманизированные МКАт к белку GP вируса Эбола. Для наработки биомассы МКАт использовали выращивание гибридом в трансгенных растениях *Nicotiana benthamiana*, не содержащих фукозил- и ксилозил-трансферазы [32]. Смесь трех таких гуманизированных МКАт (ZMapp) была использована в качестве противовирусного препарата для экстренной профилактики и лечения лихорадки Эбола. Для оценки защитной эффективности макакам резусам внутривенно вводили этот препарат в различные сроки после летального заражения вирусом Эбола (штамм Kikwit) в дозе 2,5 БОЕ. У животных, не получавших смесь антител, болезнь развилась между 6–7-ми сутками после заражения с симптомами, типичными для лихорадки Эбола. Концентрация вируса в крови достигала величины  $10^7$ – $10^9$  БОЕ/мл. Все животные этой группы погибли. В группе животных, которым вводился препарат, перед обработкой ZMapp наблюдались первые симптомы болезни: лейкоцитоз, тромбоцитопения, лихорадочное состояние и виремия. После получения ZMapp все обезьяны выжили. Виремия, которая начиналась у получивших ZMapp животных на третьи сутки после заражения, снизилась до уровня, не определяемого в ОТ-ПЦР спустя 21 сут. Животные полностью выздоровели через 28 сут. Разработчики препарата предлагают вводить его не позднее 5 сут после предполагаемого инфицирования вирусом.

Следует отметить, что указанные результаты получены при использовании штамма Kikwit вируса Эбола-Заир. Прямое сравнение аминокислотных последовательностей данного штамма и Гвинейского варианта вируса Эбола, вызвавшего последнюю вспышку болезни в Западной Африке, выявило, что эпитопы, распознаваемые ZMapp, присутствуют у обоих штаммов вируса. Таким образом, препарат ZMapp специфичен по отношению к вирусному гликопротеину [24].

В начале августа 2014 г. ZMapp использовали для лечения двух американских медицинских работников, которые заболели во время ухода за больными в Либерии. Они полностью выздоровели после лечения этим препаратом и были выписаны из госпиталя спустя 3 недели после начала лечения [24]. Это первый случай, когда было выявлено терапевтическое действие лекарства против лихорадки Эбола у человека. После этого случая ZMapp использовали для лечения 4 больных – 75-летнего испанского священника и трех африканских врачей. Несмотря на лечение, испанский священник умер. Состояние трех других пациентов значительно улучшилось, и вскоре они выздоровели [32]. На основании изложенного можно констатировать, что ZMapp превосходит эффективность других терапевтических средств, описанных ранее, а полученные результаты оправдывают даль-

нейшее получение препарата для клинического использования.

**Малые интерферирующие РНК.** Интерференция РНК – это естественный клеточный процесс, который регулирует генную экспрессию и обеспечивает врожденный механизм защиты против вирусных инфекций [21]. Применение интерферирующих РНК является перспективным методом для снижения уровня экспрессии вирусспецифических белков путем блокирования информационных РНК, кодирующих указанные белки [20].

Основным преимуществом широкого использования интерферирующих РНК явилась возможность их целевого использования в отношении любых геномных РНК [6]. Поскольку не защищенная миРНК нестабильна в кровяном русле (быстро деградирует под действием нуклеаз в биологических жидкостях, не накапливается в тканях-мишенях, не может проходить через клеточные мембраны в цитоплазму) [7, 31], то были проведены исследования по разработке комплексов для доставки ее в живой организм. Основной системой доставки миРНК в организм при внутривенном введении являются липидные наночастицы, содержащие ионизированные аминокислоты [27].

Показана возможность применения миРНК для лечения различных вирусных инфекций у человека (гепатит С и В, СПИД, цитомегаловирусная инфекция, герпетический кератит, папилломы человека, грипп [28]). Поэтому особый интерес представляет изучение возможности использования миРНК для экстренной профилактики и лечения филловиральных инфекций.

Ввиду того, что применение миРНК носит направленный характер, идеальной мишенью для их антивирусного воздействия является ген L белка вируса Эбола, определяющего РНК-зависимую РНК-полимеразную функцию. Его супрессия приводит к почти полному подавлению всего синтеза РНК. Кроме того, подобный белок отсутствует в клетках млекопитающих [13]. Гены белков VP35 и VP24 также являются хорошими мишенями для антивирусного воздействия, поскольку оба обладают ингибирующим эффектом на хозяйский интерферонный ответ типа 1. Кроме того, VP35 функционирует как антагонист интерферона типа 1, блокируя активацию регуляторного фактора 3 интерферона и, таким образом, предотвращает транскрипцию интерферона β [2]. Установлено, что именно мутации в гене белка VP35 приводят к адаптации вируса к морским свинкам [23]. Экспрессия VP24 подавляет сигнальные пути интерферона типа 1 [25], а мутация в этом гене связана с адаптацией вируса Эбола к мышам [8] и морским свинкам [29].

T.W.Geisbert *et al.* [11] сконструировали 4 миРНК, направленных на L ген вируса Эбола, и применили их в качестве терапевтического средства в комплексе с полиэтиленгликолем или в составе липосом. Морские свинки были обработаны этими миРНК либо до, либо после заражения вирусом Эбола. У животных, обработанных миРНК в комплексе с полиэтиленгликолем, наблюдалось снижение уровня вирусемии в плаз-

ме. Обработка этими комплексами незадолго до заражения обеспечивала лишь частичную защиту животных от гибели. Использование миРНК в составе липосом, при применении вскоре после инфицирования вирусом, было более эффективным. Полностью предотвращалось развитие вирусемии и последующий летальный исход.

В более поздней работе [13] та же группа исследователей показала эффективность модифицированных миРНК в опытах на низших приматах. 2 из 3 макаков резусов (66%), которым 4 раза вводили миРНК в составе липосом, были защищены от летального заражения. Семикратная обработка полностью защищала всех макаков от летального заражения.

Фирма Tecmira Pharmaceuticals разработала терапевтический препарат, содержащий комбинацию модифицированных миРНК, нацеленных на гены вирусных белков L, VP24 и VP35 вируса Эбола (подтип Заир), в комплексе с липидными наночастицами. Недавно проведены клинические испытания данного препарата, в которых оценена их безопасность, толерантность и фармакокинетика [27].

Следует отметить, что применение миРНК отодвинуло на второй план ранее считавшееся наиболее перспективным использование для экстренной профилактики и лечения антисмысловых олигомеров, хотя исследования в этом направлении продолжаются. Применение антисмысловых олигомеров, нацеленных на ген VP35, полностью защищало мышей через 24 ч после заражения [9]. Комбинация подобных олигомеров, нацеленных на L (полимеразный), VP24 и VP35 (протеиновые) гены полностью защищала мышей и частично морских свинок через 24 ч после заражения [30].

Применение стратегии, базирующейся на РНК-интерференции, выявило потенциальные возможности для борьбы с лихорадкой Эбола. Применение синтетически сконструированных миРНК дуплексов может активировать природный иммунный ответ, включая высокие уровни противовоспалительных цитокинов, таких как фактор некроза опухоли α, интерлейкин-6 и интерфероны, особенно интерферон α, который обладает противовирусной активностью *in vivo* [16, 19, 26].

#### **Химиопрепараты широкого спектра действия.**

В качестве наиболее перспективных противовирусных препаратов широкого спектра действия для возможного применения с целью экстренной профилактики и лечения лихорадки Эбола в настоящее время рассматривают рекомбинантный человеческий активированный белок С (rhAPC), рекомбинантный нематодный антикоагулянтный белок С2 (rNAPC2), фавипивавир (фирма Toyama Chemicals/Fuji Film), препарат BCX4430 (фирма Backrest) и фосфордиамидные морфолиновые нуклеотидные олигомеры (PMOs) [1].

Механизм действия рекомбинантного человеческого активированного белка С состоит в предотвращении коагуляции крови с последующим развитием синдрома диссеминированного внутрисосудистого

свертывания. В экспериментах наблюдали частичную защиту инфицированных вирусом Эбола яванских макаков при внутривенном введении препарата в дозе 2 мг на 1 м<sup>2</sup> площади поверхности тела в течение 7 сут после инфицирования. Однако эффективность данного препарата оценивается как низкая [15].

Рекомбинантный нематодный антикоагулянтный белок C2 (rNAPC2) воздействует на фактор 7a свертываемости крови. Данный препарат обеспечивает частичную защиту инфицированных вирусом Эбола яванских макаков при введении в дозе 30 мг/кг в течение 14 сут после инфицирования. Эффективность препарата также невысокая [12].

Фавипивавир T-705 – это противовирусный препарат широкого спектра действия. Препарат прошел испытания в Японии в качестве средства борьбы с гриппом. Показана эффективность препарата при экспериментальной лихорадке Эбола у белых мышей. В опытах на низших приматах удовлетворительных результатов пока нет [12].

Препарат ВСХ4430 – противовирусный препарат широкого спектра действия. Установлено выживание 83–100 % грызунов при экспериментальной лихорадке Эбола и защита животных при экспериментальной лихорадке Марбург в случае введения препарата в период до 48 ч после инфицирования [1].

P.L.Iversen *et al.* [17] были разработаны анти-смысловые фосфордиамидные морфолиновые нуклеотидные олигомеры (РМО), специфичные по отношению к вирусам Эбола и Марбург. На конечной

стадии анализа селекционирован один агент для лечения каждого вируса: AVI-7537, нацеленный на ген VP24 вируса Эбола, AVI-7288, нацеленный на ген NP вируса Марбург. В настоящее время проводится заключительная стадия клинических исследований по отбору оптимальных кандидатов в терапевтические препараты.

A.E.Heald *et al.* [14] провели оценку безопасности и фармакокинетику препаратов AVI-6002 и AVI-6003. В предыдущих исследованиях показано, что оба препарата подавляют болезнь у вирус-инфицированных нечеловеческих приматов, оба были безопасны и толерантны в изученных дозах.

**Интерфероны.** Как и сыворотка реконвалесценто-в, интерфероны исторически являются наиболее ранними терапевтическими средствами для экстренной профилактики и лечения лихорадки Эбола. Однако в опытах на низших приматах показано лишь увеличение срока жизни до гибели, но не увеличение доли выживших животных при экспериментальной лихорадке Эбола. В то же время нельзя не принимать во внимание тот факт, что как можно более раннее введение препарата может продлить жизнь до того момента, при котором свое действие проявят образующиеся в инфицированном организме вирусспецифические антитела. Различные виды интерферонов прошли клинические испытания. Препараты коммерчески доступны. В каждом конкретном случае необходимо определить конкретный вид препарата интерферона и схему применения [1, 4].

Перспективные средства экстренной профилактики и лечения лихорадки Эбола

Препарат, фирма-изготовитель	Механизм действия Результаты применения препарата	Меры предосторожности при применении препарата
Сыворотка реконвалесценто-в	Наличие в препарате вируснейтрализующих антител. Имеются сведения об успешном применении препарата при экстренной профилактике лихорадки Эбола	Необходимы сертифицированные банки крови. Риск трансмиссии патогенов, находящихся в крови
ZMapp (смесь трех гуманизированных моноклональных антител к вирусу Эбола, фирма Mapp Biopharmaceutical Inc.)	Моноклональные антитела нейтрализуют вирус путем связывания отдельных эпитопов оболочечного гликопротеина. Эффективен при экспериментальной лихорадке Эбола у низших приматов при введении препарата в период до 5 сут после инфицирования	Ввиду очень малого числа лиц, на которых был испытан препарат (клинические испытания препарата не проведены), сделать заключение о его безопасности не представляется возможным
Гипериммунный гетерологичный иммуноглобулин, полученный в результате очистки и концентрирования плазмы иммунизированных животных с высоким титром вируснейтрализующих антител	Вируснейтрализующие антитела могут нейтрализовать различные штаммы вируса Эбола. Препараты эффективны при введении инфицированным низшим приматам в период до 48 ч после инфицирования	Имеется опыт применения гетерологичных иммуноглобулинов против других нозологических форм
ТКМ-100802 (липидные наночастицы, содержащие миРНК, компания Tekmira Pharmaceutical Inc.)	Применение миРНК останавливает репродукцию вируса. Препарат эффективен при экспериментальной лихорадке Эбола у низших приматов	Изучение препарата на добровольцах показало, что использование высоких доз вызывало побочные явления
Фосфородиамидат олигонуклеотид AVI 7537 (фирма Sarepta)	Антивирусный препарат широкого спектра действия. При испытаниях на низших приматах в течение 14 сут наблюдался защитный эффект (от 60 до 80 %) при первом введении препарата одновременно с инфицированием	Препарат легко переносится
Фавипивавир T-705 (Toyama Chemicals/Fuji Film)	Антивирусный препарат широкого спектра действия. Показана эффективность препарата при экспериментальной лихорадке Эбола у белых мышей. В опытах на низших приматах удовлетворительных результатов пока нет	Препарат прошел испытания в качестве средства борьбы с гриппом. Однако при экстренной профилактике и лечении лихорадки Эбола требуются в 2–5 раз большие дозы препарата при более продолжительной схеме введения
Интерфероны	Для низших приматов показано увеличение срока жизни до гибели, но не увеличение доли выживших животных при экспериментальной лихорадке Эбола	Различные виды интерферонов прошли клинические испытания

Сводные данные ВОЗ [1] об имеющихся на сегодняшний день перспективных средствах экстренной профилактики и лечения лихорадки Эбола представлены в таблице.

Как следует из данных, представленных в таблице, наиболее перспективными препаратами для экстренной профилактики и лечения лихорадки Эбола в настоящее время являются миРНК и ZMapp. Однако их доступность, из-за высокой стоимости указанных препаратов и отсутствия необходимых мощностей для массового производства, остается на низком уровне. В свете того, что эпидемическая вспышка лихорадки Эбола 2014 г. ярко продемонстрировала последствия отсутствия доступной вакцины или терапевтических средств для предотвращения распространения болезни, исследования по разработке и созданию доступных для массового применения средств экстренной профилактики и лечения являются весьма актуальными. Без лицензированной вакцины или специфических препаратов лечение больных лихорадкой Эбола ограничивается тщательным уходом и карантинными мероприятиями, направленными на предотвращение распространения болезни.

Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Background document potential Ebola therapies and vaccines. WHO, 3 September 2014.
2. Basler C.F., Micalasova A., Martinez-Sobrido L., Paragas J., Muhlberger E., Bray M., Klenks H.D., Palese P., Garcia-Sastre A. The Ebola virus VP 35 protein inhibits activation of interferon regulatory factor 3. *J. Virol.* 2003; 77:7945–56.
3. Burton D.R. Antibodies, viruses and vaccines. *Nature Rev. Immunol.* 2002; 2:706–13.
4. Choi J.H., Croyle V.A. Emerging targets and novel approaches to Ebola virus prophylaxis and treatment. *BioDrugs.* 2013; 27(6):565–83. DOI: 10.1007/s40259-013-0046-1.
5. CNN News. Available from: <http://edition.cnn.com/2014/08/21/health/ebola-patient-release/index.html> (дата обращения 22.08.2014).
6. Davidson B.L., McCray Jr. P.B. Current prospects for RNA interference-based therapies. *Nat. Rev. Genet.* 2011; 12:329–40.
7. De Fougerolles A., Vormlocher H.P., Maraganore J., Lieberman J. Interfering with disease: A progress report on siRNA-based therapeutics. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2007; 6:443–53.
8. Ebihara H., Takada A., Kobasa D., Jones S., Neumann G., Therian H.S., Bray M., Feldmann H., Kawakita Y. Molecular determinants of Ebola virus virulence in mice. *PLoS Pathog.* 2006; 2: e73.
9. Enterlein S., Warfield K.L., Swenson D.L., Stein D.A., Smith J.L., Gamble C.S., Kroe A.D., Iversen P.L., Bavari S., Muhlberger E. VP 35 knockdown inhibits Ebola virus amplification and protects against a lethal infection in mice. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2006; 50:984–93.
10. Feldmann H., Geisbert T.W. Ebola hemorrhagic fever. *Lancet.* 2011; 377:849–62.
11. Geisbert T.W., Hensley L.E., Kagan E. Postexposure protection of guinea pigs against a lethal Ebola virus challenge is conferred by RNA interference. *J. Infect. Dis.* 2006; 193(12):1650–7.
12. Geisbert T.W., Larsen T., Geisbert J.B., Paragas J., Young H.A., Frederic T.M., Rote W.E., Vlasuk G.P., Joffe S. Evaluation novel therapies during the Ebola epidemic. Available from: <http://jamanetwork.com/on/28/09/2014> (дата обращения 28.09.2014).
13. Geisbert T.W., Lee A.C.H., Robbins M., Honko A.N., Sood V., Johnson J.C., Jong S., Tavakoli I., Judge A., Hensley L.E., MacLachlan I. Postexposure protection of non-human primates against a lethal Ebola virus challenge with RNA interference: a proof-of-concept study. *Lancet.* 2010; 375:1896–905.
14. Heald A.E., Iversen P.L., Saoud J.B., Sazani P., Charleston J.S., Axtelle T., Wong M., Smith W.B., Vitikullird A., Kaye E. Safety and pharmacokinetic profiles of phosphorodiamidate morpholino oligomers with activity against Ebola virus and Marburg Virus: results of two single ascending dose studies. Available from: <http://aac.asm.org/content/58/11/6639.abstract> (дата обращения 22.03.2014).

15. Hensley L.E., Stewens E.L., Yan S.B., Geisbert J.B., Macias W.L., Larsen T., Cassel G.H., Jahrling P.B., Geisbert T.W. Recombinant human activated protein C for the postexposure treatment of Ebola hemorrhagic fever. *J. Infect. Dis.* 2007; 196:390–9.
16. Hornung V., Guenther-Biller M., Bourguin C., Ablasser A., Sohlee M., Uemasn S., Noronha A., Manoharan M., Akira S., de Fongorolles A., Endres S., Hartmann G. Sequence-specific potent induction of IFN-alpha by short interfering RNA in plasmacytoid dendritic cells through TLR7. *Nat. Med.* 2005; 11:263–70.
17. Iversen P.L., Warren T.K., Wells J.B., Garza N.L., Mourich D.V., Welch L.S., Panchal R.G., Bavari S. Discovery and early development of AVI-7537 and AVI-7288 for the treatment of Ebola virus and Marburg virus infection. *Viruses.* 2012; 4:2806–30.
18. Jahrling P.B., Geisbert J.B., Swearingen J.R., Larsen T., Geisbert T.W. Ebola hemorrhagic fever: evaluation of passive immunotherapy in nonhuman primates. *J. Infect. Dis.* 2007; 196:400–3.
19. Judge A.D., Sood V., Shaw J.R., Fang D., McClintock K., McLachlan I. Sequence-dependent stimulation of the mammalian innate immune response by synthetic siRNA. *Nat. Biotechnol.* 2005; 23:457–62.
20. Kanasty R., Dorkin J.R., Vegas A., Anderson D. Delivery materials for siRNA therapeutics. *Nature materials.* 2013; 12:967–77. doi:10.1038/nmat3765.
21. Kim D.H., Rossi J.J. Strategies for silencing disease using RNA interference. *Nat. Rev. Genet.* 2007; 8:173–84.
22. Maruyama T. Ebola virus can be effectively neutralized by antibody produced in natural human infection. *J. Virol.* 1999; 73:6024–30.
23. Prins K.S., Delpout S., Leung D.W., Reunard O., Volebkova V.A., Reid S.P., Ramanan P., Cardenas W.B., Amarasinghe G.K., Volchov V.E., Basler C.F. Mutations abrogating VP 35 interaction with double stranded RNA render Ebola virus avirulent in guinea pigs. *J. Virol.* 2010; 84:3004–15.
24. Qiu X., Wong G., Audet J., Bello A., Fernando L., Alimonti J.B., Fauster-Bovendo H., Aviles J., Hiatt E., Johnson A., Morton J., Swope K., Bohorov O., Bohorova N., Goodman C., Kim D., Pauly M.H., Velasci J., Pettit J., Olinger G.G., Whaley K., Xu B., Strong J.E., Zetlin L., Kobinger G.P. Reversion of advanced Ebola virus disease in nonhuman primates with ZMapp. *Nature.* 2014; 514(7520):47–53.
25. Reid S.P., Leung D.W., Hartman A.L., Martinez O., Shaw M.L., Carbonnelle C., Volchov V.E., Nichol S.T., Basler C.F. Ebola virus VP24 binds karyopherin alpha 1 and blocks STAT1 nuclear accumulation. *J. Virol.* 2006; 80:5156–67.
26. Robbins M., Judge A., Ambegia E., Choi C., Yaworski E., Palmer L., McClintock K., Mac Lachlan I. Misinterpreting the therapeutic effects of siRNA caused by immune stimulation. *Hum. Gene Ther.* 2008; 19:991–9.
27. Tam Y.C., Chen S., Cullis P.R. Advances in lipid nanoparticles for siRNA delivery. *Pharmaceutics.* 2013; 5: 498–507.
28. Torrecilla J., Rodriguez-Gascon A., Solinis M.A., del Pozo-Rodriguez A. Lipid nanoparticles as carriers for RNAi against viral infections: current status and future perspectives. *Biomed Res. Int.* 2014; 2014:161794. doi: 10.1155/2014/161794.
29. Volchov V.E., Chepurinov A.A., Volchova V.A., Ternovoj V.A., Klenk H.D. Molecular characterization guinea pig-adapted variants of Ebola virus. *Virology.* 2000; 277:147–55.
30. Warfield K.L., Swenson D.L., Olinger G.G., Olinger G.G., Nichols D.K., Pratt W.D., Blonch R., Stein D.A., Aman M.J., Iversen P.L., Bavari S. Gene-specific countermeasures against Ebola virus based on antisense phosphorodiamidate morpholino oligomers. *PLoS Pathog.* 2006; 2:e1.
31. Whitehead K.A., Langer R., Anderson D.G. Knocking down barriers: Advances in siRNA delivery. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2009; 8:129–38.
32. Zhang YunFang, Li DaPeng, Jin Xia, Huang Zhong. Fighting Ebola with ZMapp: spotlight on plant-made antibody. *Science China Life Sciences.* 2014; 57(10):987–8.

#### References

1. Background document potential Ebola therapies and vaccines. WHO, 3 September 2014.
2. Basler C.F., Micalasova A., Martinez-Sobrido L., Paragas J., Muhlberger E., Bray M., Klenks H.D., Palese P., Garcia-Sastre A. The Ebola virus VP 35 protein inhibits activation of interferon regulatory factor 3. *J. Virol.* 2003; 77:7945–56.
3. Burton D.R. Antibodies, viruses and vaccines. *Nature Rev. Immunol.* 2002; 2:706–13.
4. Choi J.H., Croyle V.A. Emerging targets and novel approaches to Ebola virus prophylaxis and treatment. *BioDrugs.* 2013; 27(6):565–83. DOI: 10.1007/s40259-013-0046-1.
5. CNN News. 21 Aug 2014 [cited 22 Aug 2014]. Available from: <http://edition.cnn.com/2014/08/21/health/ebola-patient-release/index.html>.
6. Davidson B.L., McCray Jr. P.B. Current prospects for RNA interference-based therapies. *Nat. Rev. Genet.* 2011; 12:329–40.
7. De Fougerolles A., Vormlocher H.P., Maraganore J., Lieberman J. Interfering with disease: A progress report on siRNA-based therapeutics. *Nat.*

- Rev. Drug Discov.* 2007; 6:443–53.
8. Ebihara H., Takada A., Kobasa D., Jones S., Neumann G., Therian H.S., Bray M., Feldmann H., Kawaoka Y. Molecular determinants of Ebola virus virulence in mice. *PLoS Pathog.* 2006; 2: e73.
  9. Enterlein S., Warfield K.L., Swenson D.L., Stein D.A., Smith J.L., Gamble C.S., Kroe A.D., Iversen P.L., Bavari S., Muhlberger E. VP 35 knock-down inhibits Ebola virus amplification and protects against a lethal infection in mice. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2006; 50:984–93.
  10. Feldmann H., Geisbert T.W. Ebola hemorrhagic fever. *Lancet.* 2011; 377:849–62.
  11. Geisbert T.W., Hensley L.E., Kagan E. Postexposure protection of guinea pigs against a lethal Ebola virus challenge is conferred by RNA interference. *J. Infect. Dis.* 2006; 193(12):1650–7.
  12. Geisbert T.W., Larsen T., Geisbert J.B., Paragas J., Young H.A., Frederic T.M., Rote W.E., Vlasuk G.P., Joffe S. Evaluation novel therapies during the Ebola epidemic. [cited 28 Sep 2014]. Available from: <http://jamanetwork.com/on28/09/2014>.
  13. Geisbert T.W., Lee A.C.H., Robbins M., Honko A.N., Sood V., Johnson J.C., Jong S., Tavakoli I., Judge A., Hensley L.E., MacLahlan I. Postexposure protection of non-human primates against a lethal Ebola virus challenge with RNA interference: a proof-of-concept study. *Lancet.* 2010; 375:1896–905.
  14. Heald A.E., Iversen P.L., Saoud J.B., Sazani P., Charleston J.S., Axtelle T., Wong M., Smith W.B., Vutikullird A., Kaye E. Safety and pharmacokinetic profiles of phosphorodiamidate morpholino oligomers with activity against Ebola virus and Marburg Virus: results of two single ascending dose studies. [cited 22 Mar 2014]. Available from: <http://aac.asm.org/content/58/11/6639.abstract>.
  15. Hensley L.E., Stewens E.L., Yan S.B., Geisbert J.B., Macias W.L., Larsen T., Cassel G.H., Jahrling P.B., Geisbert T.W. Recombinant human activated protein C for the postexposure treatment of Ebola hemorrhagic fever. *J. Infect. Dis.* 2007; 196:390–9.
  16. Hornung V., Guenther-Biller M., Bourguin C., Ablasser A., Sohlee M., Uemas S., Noronha A., Manoharan M., Akira S., de Fongorrolles A., Endres S., Hartmann G. Sequence-specific potent induction of IFN- $\alpha$  by short interfering RNA in plasmacytoid dendritic cells through TLR7. *Nat. Med.* 2005; 11:263–70.
  17. Iversen P.L., Warren T.K., Wells J.B., Garza N.L., Mourich D.V., Welch L.S., Panchal R.G., Bavari S. Discovery and early development of AVI-7537 and AVI-7288 for the treatment of Ebola virus and Marburg virus infection. *Viruses.* 2012; 4:2806–30.
  18. Jahrling P.B., Geisbert J.B., Swearingen J.R., Larsen T., Geisbert T.W. Ebola hemorrhagic fever: evaluation of passive immunotherapy in non-human primates. *J. Infect. Dis.* 2007; 196:400–3.
  19. Judge A.D., Sood V., Shaw J.R., Fang D., McClintock K., McLachlan I. Sequence-dependent stimulation of the mammalian innate immune response by synthetic siRNA. *Nat. Biotechnol.* 2005; 23:457–62.
  20. Kanasty R., Dorkin J.R., Vegas A., Anderson D. Delivery materials for siRNA therapeutics. *Nature materials.* 2013; 12:967–77. doi:10.1038/nmat3765.
  21. Kim D.H., Rossi J.J. Strategies for silencing disease using RNA interference. *Nat. Rev. Genet.* 2007; 8:173–84.
  22. Maruyama T. Ebola virus can be effectively neutralized by antibody produced in natural human infection. *J. Virol.* 1999; 73:6024–30.
  23. Prins K.S., Delpout S., Leung D.W., Reunard O., Volebkova V.A., Reid S.P., Ramanan P., Cardenas W.B., Amarasinghe G.K., Volchov V.E., Basler C.F. Mutations abrogating VP35 interaction with double stranded RNA render Ebola virus avirulent in guinea pigs. *J. Virol.* 2010; 84:3004–15.
  24. Qiu X., Wong G., Audet J., Bello A., Fernando L., Alimonti J.B., Fausther-Bovendo H., Aviles J., Hiatt E., Johnson A., Morton J., Swope K., Bohorov O., Bohorova N., Goodman C., Kim D., Pauly M.H., Velasci J., Pettit J., Olinger G.G., Whaley K., Xu B., Strong J.E., Zetlin L., Kobinger G.P. Reversion of advanced Ebola virus disease in nonhuman primates with ZMapp. *Nature.* 2014; 514(7520):47–53.
  25. Reid S.P., Leung D.W., Hartman A.L., Martinez O., Shaw M.L., Carbonnelle C., Volchov V.E., Nichol S.T., Basler C.F. Ebola virus VP24 binds karyopherin  $\alpha$ 1 and blocks STAT1 nuclear accumulation. *J. Virol.* 2006; 80:5156–67.
  26. Robbins M., Judge A., Ambegia E., Choi C., Yaworski E., Palmer L., McClintock K., MacLachlan I. Misinterpreting the therapeutic effects of siRNA caused by immune stimulation. *Hum. Gene Ther.* 2008; 19:991–9.
  27. Tam Y.C., Chen S., Cullis P.R. Advances in lipid nanoparticles for siRNA delivery. *Pharmaceutics.* 2013; 5: 498–507.
  28. Torrecilla J., Rodriguez-Gascon A., Solinis M.A., del Pozo-Rodriguez A. Lipid nanoparticles as carriers for RNAi against viral infections current status and future perspectives. *Biomed Res. Int.* 2014; 2014:161794. doi: 10.1155/2014/161794.
  29. Volchov V.E., Chepurinov A.A., Volchova V.A., Ternovoj V.A., Klenk H.D. Molecular characterization guinea pig-adapted variants of Ebola virus. *Virology.* 2000; 277:147–55.
  30. Warfield K.L., Swenson D.L., Olinger G.G., Olinger G.G., Nichols D.K., Pratt W.D., Blonch R., Stein D.A., Aman M.J., Iversen P.L., Bavari S. Gene-specific countermeasures against Ebola virus based on antisense phosphorodiamidate morpholino oligomers. *PLoS Pathog.* 2006; 2:e1.
  31. Whitehead K.A., Langer R., Anderson D.G. Knocking down barriers: Advances in siRNA delivery. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2009; 8:129–38.
  32. Zhang YunFang, Li DaPeng, Jin Xia, Huang Zhong. Fighting Ebola with ZMapp: spotlight on plant-made antibody. *Science China Life Sciences.* 2014; 57(10):987–8.

#### Authors:

Petrov A.A., Lebedev V.N., Plekhanova T.M., Stovba L.F., Borisevich G.V., Sidorova O.N., Chukhraya O.V., Borisevich S.V. The 48<sup>th</sup> Central Research Institute of the RF Ministry of Defense. Sergiev Possad, Russian Federation

#### Об авторах:

Петров А.А., Лебедев В.Н., Плеханова Т.М., Стовба Л.Ф., Борисевич Г.В., Сидорова О.Н., Чухраля О.В., Борисевич С.В. «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны. Российская Федерация, Сергиев Посад.

Поступила 02.07.15.