

Іванов Д.Д.

Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика, м. Київ, Україна

Уроки COVID-19 для медичної практики. Метиленовий синій — інновація, перевірена часом

Резюме. Значення метиленового синього (МС) в лікуванні метгемоглобінемії, малярії та інфекцій сечовидільних шляхів (ІСШ) добре відоме. Антимікробний, протизапальний та антиоксидантний ефект МС був продемонстрований у різних дослідженнях *in vitro* і *in vivo*. Необхідність віднайти ліки від COVID-19 привернула увагу дослідників та практичних лікарів в усьому світі до МС. Огляд включає різний досвід використання МС, у тому числі в пацієнтів, які отримували МС під час епідемії COVID-19 із профілактичною метою, а також власний досвід із цієї теми. МС широко застосовується як барвник у різних галузях біології — у діагностичних процедурах та лікуванні різних захворювань, включаючи отруєння ціанідом та чадним газом, і вважається нетоксичним. Ефективність МС при лікуванні пацієнтів із множинними невеликими каменями в нирках, особливо з інфікованими каменями, та запобігання утворенню нових каменів були продемонстровані в 5-річному дослідженні. Крім того, завдяки протигрибковому потенціалу та антимікробному ефекту МС зменшує симптоми ІСШ, покращує якість життя та запобігає рецидивам захворювання. Запатентований комплекс МС з екстрактом листя шавлії та екстрактом плодів журавлини великоплідної (Пембіна-Блю[®]) продемонстрував значне зменшення болю, спазмів у хворих на цистит. З огляду на обмежену кількість доступних методів лікування ІСШ та одночасне збільшення резистентності до препаратів потреба в пошуку нових безпечних і ефективних методів лікування ІСШ надзвичайно актуальна. З огляду на те, що МС є схваленою FDA сполукою, яка вже використовується для розв'язання різних терапевтичних завдань, а також завдяки окремим антиоксидантним, протигрибковим, антибактеріальним та протизапальним механізмам, що наведені в цьому огляді, МС можна розглядати як багатообіцяючі ліки на майбутнє.

Ключові слова: COVID-19; метилтіонінію хлорид; метиленовий синій; Пембіна-Блю[®]; профілактика пневмонії; уроантисептик

Накопичений досвід ведення пацієнтів із COVID-19 дозволяє сформулювати три найважливіші питання для сучасної медицини:

1. Етіотропна терапія коронавірусної інфекції.
2. Профілактика ускладнень, у першу чергу з боку легенів і серцево-судинної системи.
3. Профілактика зараження, у першу чергу вакцинопрофілактика.

У цьому матеріалі ми розглянемо одну складову в медичній тактиці, що з огляду на міжнародні дані й наш досвід дозволила значно знизити легеневі ускладнення в пацієнтів із COVID-19. Відразу слід зауважити, що ця рекомендація ще не входить до протоколу МОЗ України [1].

Популярним і дійсно інформативним методом діагностики легеневих ускладнень є рентгенографія або КТ легенів. Поширеною помилкою у трактуванні їх результатів є встановлення прямої кореляції між ступенем двосторонніх інфільтративних змін легень і наявністю пневмонії, що часто супроводжується значним зниженням сатурації. Важливим є те, що ці зміни, викликані вірусом, нерідко є не пневмонією, а скоріше пневмонітом і не вимагають антибактеріальної терапії. Але чому вони так виглядають на КТ і яких заходів слід вжити для профілактики розвитку істинної бактеріальної пневмонії й поширення інфільтративних змін із боку легенів?

Аналіз літератури привернув нашу увагу до використання метилтіонінію хлориду, або метиленового

синього (МС), що понад сто років активно застосовується в медицині, останні кілька років — для лікування інфекцій сечової системи (тому він нам добре знайомий у практиці), препарат став об'єктом досліджень і публікацій у 2020 році. МС вивчається як активний агент при сечових інфекціях, малярії, хворобі Альцгеймера й коронавірусі. Імовірно, завдяки протизапальним та антиоксидантним властивостям МС здатний впливати на «цитокіновий шторм» і розривати порочне коло ускладнень в організмі, що викликані COVID-19. У числі інших експериментальних off-label підходів з'явилася низка публікацій про те, що метиленовий синій може полегшувати перебіг і профілакувати розвиток пневмонії при коронавірусній інфекції.

Одними з перших про можливість поліпшити прогноз у тяжких пацієнтів із COVID-19 за допомогою МС повідомили іранські автори. У травні 2020 року у 25 тяжких літніх пацієнтів у блоці інтенсивної терапії застосовували антиоксидантний комплекс — поряд із N-ацетилцистеїном і вітаміном С використовували МС, що, на думку авторів, сприяло позитивній динаміці захворювання [2].

Дослідження, у яких вивчається ефективність МС у лікуванні коронавірусу та інших респіраторних патогенів, сьогодні проводяться в усьому світі, зокрема в Ірані, Німеччині, Канаді, США [3].

Одне з вражаючих спостережень було зроблене у Франції. Там абсолютно несподівано виявили профілактичну дію МС у групі онкохворих, які отримували хіміотерапію. З моменту початку епідемії COVID-19 у Страсбурзі велося спостереження за 2,5 тис. французьких пацієнтів, які отримували МС у рамках хіміотерапії [4]. Незважаючи на те, що в сім'ях деяких із цих людей спостерігалися епізоди коронавірусної інфекції, ніхто з 2,5 тис. онкологічних пацієнтів не захворів.

Метиленовий синій — фенотіазинове похідне, що забарвлює воду в синій колір, має солідне наукове реноме й 120 років історії застосування в медицині. Речовина була синтезована в 1877 році і спочатку застосовувалася як барвник і пігмент. Його унікальною властивістю є здатність проникати глибоко в тканини й оборотно зв'язуватися з нуклеїновими кислотами й візуалізувати ДНК і РНК. Ці ефекти поряд із потужною протизапальною й антиоксидантною дією МС пояснюють широкий спектр його терапевтичних властивостей.

Спільне ведення 24 пацієнтів із сімейними лікарями в амбулаторній практиці з травня 2020 по січень 2021 р. показало, що в пацієнтів із коронавірусною інфекцією з інфільтративною картиною легень, що з першого дня підтверджена на КТ (від 18 до 56 % ураження площі легень), і позитивним ПЛР-тестом використання метиленового синього (препарат Пембіна-Блю®) по 1 капсулі двічі на добу протягом 10 днів дозволило уникнути застосування антибіотиків у 22 хворих.

Інтерес до МС останніми роками пов'язаний із застосуванням препарату в урології, лікуванні хвороби Альцгеймера й малярії. Він однаково ефективний проти всіх видів цього паразитарного захворювання, а

щодо штамів *Plasmodium falciparum* залишається одним із найефективніших препаратів [5]. МС є еталоном у лікуванні метгемоглобінемії — стану, при якому в крові підвищується вміст метгемоглобіну (окисленого гемоглобіну) і розвивається тканинна гіпоксія. FDA для лікування набуті та вродженої форми метгемоглобінемії схвалила застосування МС у дозі 50–250 мг/добу для довічного прийому і 1,3 мг/кг/добу внутрішньовенно краплинно — при гострій метгемоглобінемії [6]. Завдяки цьому МС є ефективними ліками при отруєннях ціанідами, чадним газом і сірководнем і входить у список життєво важливих препаратів за версією Всесвітньої організації охорони здоров'я як антидот при цих отруєннях. Можна припустити, що саме ця властивість МС дозволяє досягти терапевтичного результату в гальмуванні розвитку пневмонії при коронавірусній інфекції.

Крім цього, МС відомий як фотосенсибілізатор. Це група світлочутливих речовин, дія яких посилюється при впливі світла з відповідною довжиною хвилі. Фотосенсибілізатор переносить енергію світла на кисень, завдяки чому він переходить у так званий синглетний стан. Синглетний кисень хімічно дуже активний: він окисляє білки та інші біомолекули, руйнуючи внутрішні структури патологічних клітин, після чого вони стають нежиттєздатними.

Така властивість фотосенсибілізаторів дозволила успішно застосовувати їх у фотодинамічній терапії при лікуванні онкологічних захворювань і хронічних інфекційних захворювань сечостатевої системи. Ці ж властивості пізніше були відзначені й за відсутності фотодинамічного впливу.

У роботі Р. Rahul (2018) [7] відзначений нефотодинамічний ефект на пригнічення зростання *Candida albicans* і *Mycobacterium tuberculosis*. В обох випадках зазначалася бактеріостатична дія, і якщо для пригнічення росту *C. albicans* була потрібна концентрація 100 мкг/мл, то антимікобактеріальний ефект щодо *M. smegmatis* відзначався вже на 15,62 мкг/мл (рис. 1).

У цьому дослідженні також відзначалося вірогідне запобігання утворенню біоплівки — захисних формувань мікроорганізмів, які дозволяють протистояти проникненню й дії антибіотиків, що створює джерело для збереження інфекції. Трьома методами в дослідженні Р. Rahul [7] було доведено, що присутність МС істотно пригнічувала формування біоплівок як *M. smegmatis*, так і *C. albicans* (рис. 2).

Завдяки цим властивостям МС набув значного поширення в урологічній практиці як уроантисептик у лікуванні інфекційно-запальних захворювань сечостатевої системи — гострих і хронічних циститів, простатитів. МС схвалений FDA, також існує і багаторічний досвід застосування перорального МС як уроантисептика для лікування і профілактики хронічних циститів. Слід сказати, що у світі вже наявні кілька комбінованих засобів із МС для лікування циститу і профілактики його рецидивів. Низька молекулярна вага й потужний антиоксидантний ефект МС пояснюють його здатність руйнувати біоплів-

ки на стінках сечового міхура і проникати глибоко в шари епітелію, полегшуючи виведення патогенів. Цією механічною здатністю екстерналізувати збудника з глибини уротелію пояснюють зниження ризику рецидивів циститу й пієлонефриту при застосуванні МС [6]. Первинним при лікуванні циститу вважають не стільки власне антисептичний ефект МС щодо бактеріальних патогенів, скільки здатність блокувати окиснювальний каскад в організмі і протизапальний ефект. Саме на ці механізми, задіяні при хворобі Альцгеймера й малярії, покладають надії вчені і при лікуванні COVID-19 [8].

Уроантисептик

Як зазначалося, завдяки потужному протизапальному й антиоксидантному ефектам, унікальній власності проникати глибоко в тканини й оборотно зв'язуватися з нуклеїновими кислотами МС набув значного поширення в урологічній практиці як уроантисептик у лікуванні інфекційно-запальних захворювань сечостатевої системи — циститів, простатитів. МС помітний у сечі — змінює її колір на зелений або синій, також він проникає в усі фізіологічні рідини — піт, секрет простати й сім'яну рідину, що дозволяє використовувати його антисептичні та протизапальні властивості для санації запалення передміхурової залози.

Протизапальний ефект МС обумовлений у тому числі зниженням рівнів цитокінів — інтерлейкінів-1 β і -6, фактора некрозу пухлини α [6], завдяки чому швидко усуваються симптоми циститу — дизурія і біль при сечовипусканні.

Потужний антиоксидантний ефект МС, як було зауважено вище, пояснює його здатність руйнувати біоплівки (рис. 2) на стінках сечового міхура і проникати глибоко в шари епітелію, полегшуючи виведення патогенів (рис. 3). При застосуванні МС завдяки механічній здатності екстерналізувати (видаляти) збудника з глибини уротелію знижується ризик рецидивів циститу й пієлонефриту [9].

Уролітичний ефект

Ефектам МС при сечокам'яній хворобі, які почали вивчатися ще в 70-ті роки минулого століття, зараз приділяють менше уваги. У роботах W.H. Boyce [10] відзначалася здатність МС (65 мг 3 рази/добу) знижувати рН сечі, запобігати формуванню матриксу оксалатних каменів і зменшувати зв'язування іонів кальцію з ним. У 5-річному спостереженні M.J. Smith [11], у якому використовували МС для лікування, у 46 % пацієнтів у кінці дослідження не було виявлено конкрементів, а у 20 % відзначалося істотне поліпшення. Важливо, що протягом усіх п'яти років спостереження

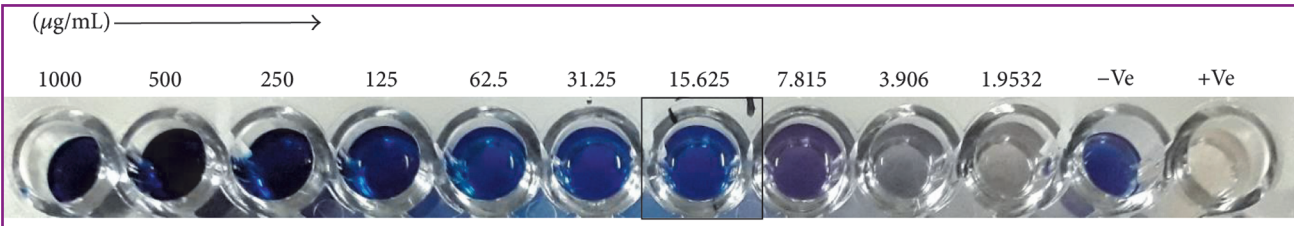


Рисунок 1. Визначення лікарської чутливості *M. smegmatis* із використанням колориметричного індикатора резазурину (Resazurin) (адаптовано з [7])

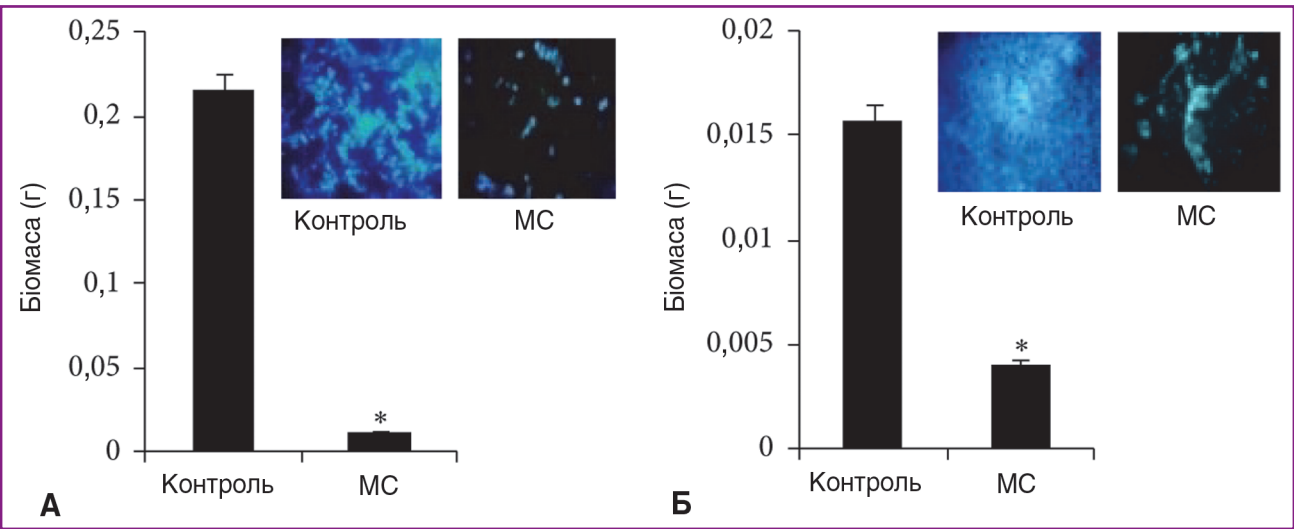


Рисунок 2. А. Ефект МС на розвиток біоплівок *S. albicans* на силіконових листах. Суха вага біоплівок (у грамах) позначена на осі Y. Б. Ефект МС на розвиток біоплівок *M. smegmatis*. На кольорових вставках відображені ефекти пригнічення розвитку біоплівок при флуоресцентній мікроскопії при забарвленні калькофтором білим у присутності МС (адаптовано з [7])

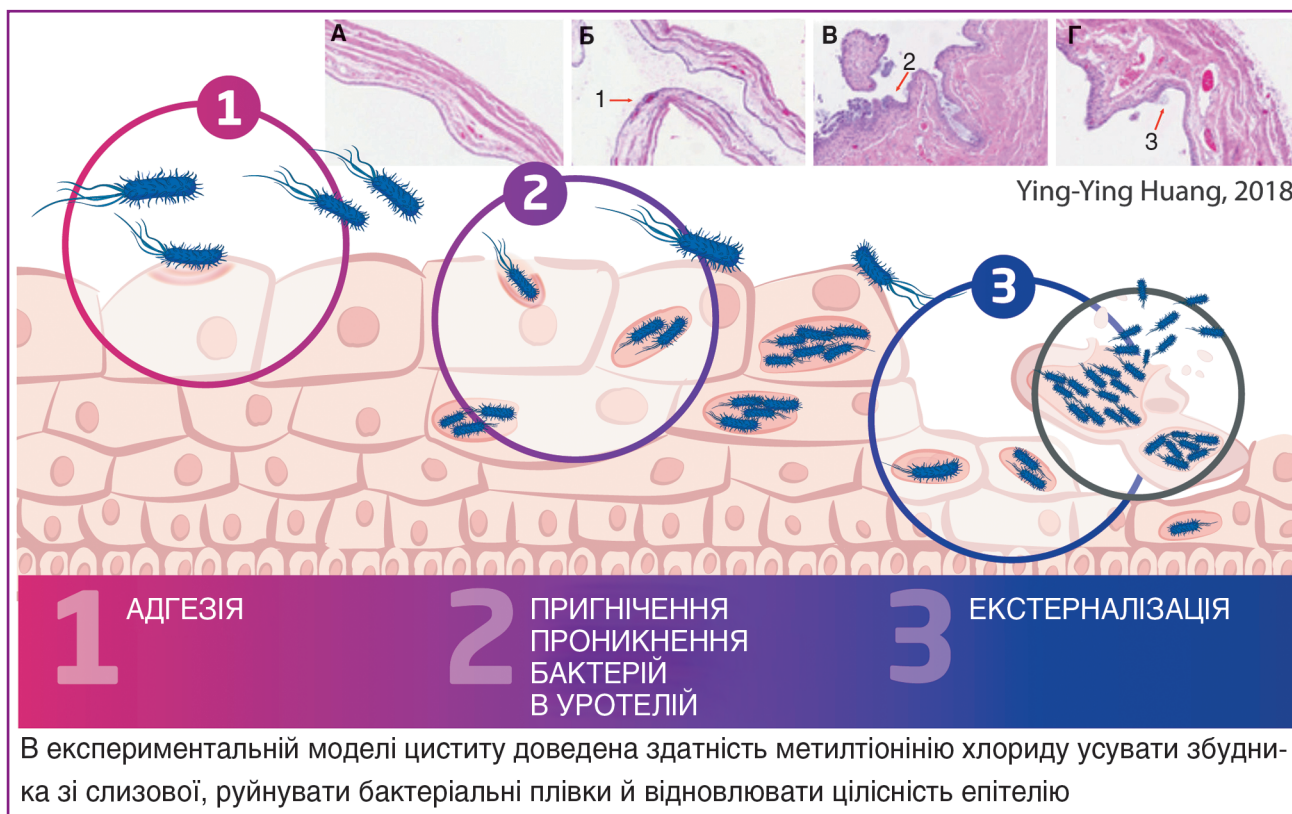


Рисунок 3. Механізм дії метиленового синього на збудників циститу (за Ying-Ying Huang, 2018)

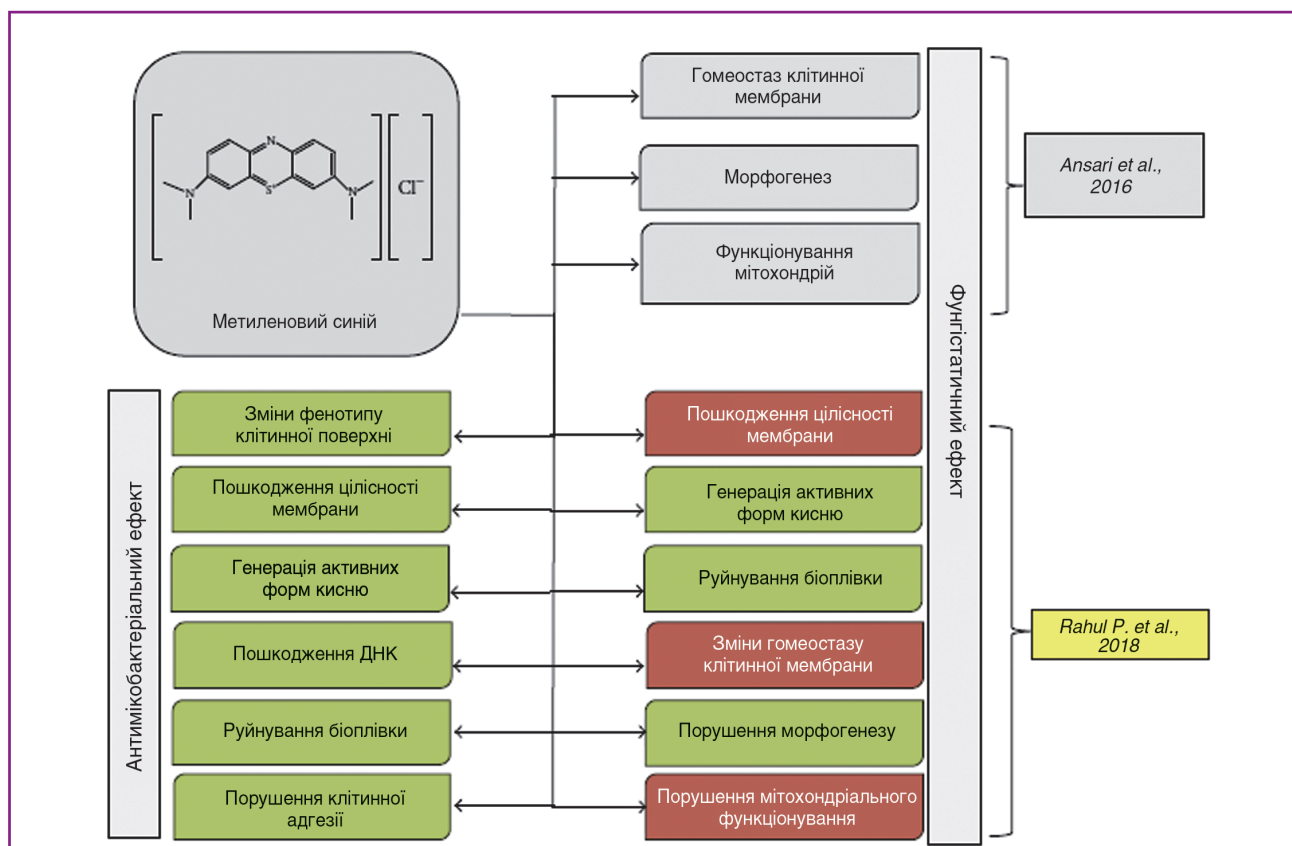


Рисунок 4. Механізми комплексного патогенетичного впливу Пембіни-Блю® при лікуванні інфекцій сечовивідних шляхів та ускладнення сечокам'яної хвороби (за Ansari et al., 2016; Rahul P. et al., 2018)

пацієнти відзначали відмінну переносимість терапії МС. Можливим поясненням цих ефектів МС можуть бути його протизапальні та антиоксидантні властивості.

В Україні першим продуктом із МС стала біологічна добавка Пембіна-Блю® — комбінований засіб на основі МС (30 мг в 1 капсулі) і рослинних екстрактів з антисептичним й репаративним ефектом. Пембіна-Блю® сприяє зменшенню симптомів, запобігає рецидивам, сприяє руйнуванню бактеріальних плівок й усуненню збудника з уротелію. Пембіна-Блю® застосовується по 1 капсулі 2 рази на день у пацієнток із гострим і рецидивуючим циститом. Триває дослідження з використання МС у складі Пембіна-Блю® в пацієнток із рецидивуючою інфекцією сечовивідних шляхів на тлі сечокам'яної хвороби. МС має здатність лізувати ниркові камені (оксалати) невеликого розміру й запобігати утворенню нових каменів. Також були відзначені м'яка діуретична дія і нормалізація рН сечі завдяки екстрактам шавлії й журавлини, що містяться в Пембіні-Блю®. Фталіди, що містяться в цих екстрактах, чинять також спазмолітичну дію, завдяки чому поліпшується відтік сечі і зменшується вираженість болю. Застосування Пембіна-Блю®, що чинить протизапальну й протимікробну дію, одночасно з курсом протимікробних засобів і після нього підвищувало ефективність терапії. Зазначалося більш раннє поліпшення самопочуття: зникав больовий синдром, часте й болісне сечовипускання, знижувався ризик рецидивів запалення через 3 місяці після припинення терапії (рис. 4).

Застосування Пембіна-Блю®, що містить МС і рослинні компоненти з широким спектром антимікробної дії, а також справляє антиоксидантний і діуретичний ефект, виправдане як у комплексі з антибактеріальними препаратами, так і у вигляді подальшої тривалої монотерапії. При одночасному застосуванні антибактеріальних засобів і Пембіна-Блю® зменшення вираженості й тривалості болю в животі й поперековій ділянці, а також інших симптомів настає швидше. Отже, Пембіну-Блю® доцільно призначати в комплексі з антибактеріальними препаратами, для тривалої монотерапії після закінчення основного курсу лікування, а також при непереносимості антибактеріальних засобів.

Попередні результати нашого дослідження свідчать про те, що після 3-місячного курсу використання Пембіна-Блю® у 31 % пацієнтів покращився клінічний стан зі зменшенням розміру конкрементів, 91 % пацієнтів повідомили про загальне клінічне поліпшення — зменшення симптомів ІСШ і підвищення якості життя.

Таким чином, МС може бути багатообіцяючим рішенням при лікуванні пацієнтів із множинними невеликими конкрементами-конгломератами солей, що містять дегідрат оксалату кальцію, особливо при необхідності знизити рівень супутньої інфекції без антибіотиків, і може бути корисним для запобігання утворенню нових каменів.

Згідно з останніми даними, потужний протизапальний, антиоксидантний, уросептичний ефект МС дозволяє розглядати його як перспективний препарат для профілактики легеневих ускладнень коронавірусної інфекції та лікування пацієнтів із гострими і рецидивуючими інфекціями сечової системи, у тому числі на тлі кристалурії й сечокам'яної хвороби.

Конфлікт інтересів. Автор отримував гонорари за промоцію Пембіна-Блю® при лікуванні інфекцій сечової системи у 2019 році.

Список літератури

1. Протокол «Надання медичної допомоги для лікування коронавірусної хвороби (COVID-19)». Наказ МОЗ України від 2 квітня 2020 року № 762 (в редакції МОЗ України від 31 грудня 2020 року № 3094).
2. Hamidi A., Bagheri M. et al. Application of methylene blue — vitamin C — N-acetyl cysteine for treatment of critically ill COVID-19 patients, report of a phase-I clinical trial. *European Journal of Pharmacology*. 2020. 885. doi: 10.1016/j.ejphar.2020.173494.
3. Wenzhong L., Hualan L. COVID-19: Attacks the 1-Beta Chain of Hemoglobin and Captures the Porphyrin to Inhibit Human Heme Metabolism. *ChemRxiv*. 2020. Preprint. <https://doi.org/10.26434/chemrxiv.11938173.v5>
4. Henry M., Summa M., Patrick L., Schwartz L. Cohort of cancer patients with no reported cases of SARS-CoV-2 infection: the possible preventive role of Methylene Blue. *Substantia*. 2020. 4(1). Suppl 1. doi: 10.13128.2020.
5. Fall B., Camara C., Fall M. et al. Plasmodium falciparum susceptibility to standard and potential anti-malarial drugs in Dakar, Senegal, during the 2013–2014 malaria season. *Malaria Journal*. 2015. 14: 60. doi: 10.1186/s12936-015-0589-3.
6. Nedu M.E., Tertis M., Cristea C., Georgescu A.V. Comparative Study Regarding the Properties of Methylene Blue and Proflavine and Their Optimal Concentrations for In Vitro and In Vivo Applications. *Diagnostics*. 2020. 10. 223.
7. Rahul P., Moiz A., Venkata S., Shrayanee D., Zeeshan F., Saif H. Nonphotodynamic Roles of Methylene Blue: Display of Distinct Antimycobacterial and Anticandidal Mode of Actions. *Journal of Pathogens*. 2018. 13.
8. Gendrot M., Madamet M., Mosnier J. Baseline and multinormal distribution of ex vivo susceptibilities of Plasmodium falciparum to methylene blue in Africa, 2013–18. *J. Antimicrob. Chemother.* 2020 Aug 1. 75(8). 2141–2148. doi: 10.1093/jac/dkaa174.
9. Geller M., Gama C.R.B., Guimarães O.R., Varella R.B. Recurrent urinary tract infections: Evaluation of the prophylactic efficacy of urinary antiseptics methenamine and methylthioninium chloride. *Revista Brasileira de Medicina*. 2008 Nov. 65. 367–371.
10. Boyce W.H., McKinney W.M., Long T.T., Drach G.W. Oral administration of methylene blue to patients with renal calculi. *J. Urol.* 1967 May. 97(5). 783–9. doi: 10.1016/s0022-5347(17)63117-3.
11. Smith M.J. Methylene blue in renal calculi. Results of five-year study. *Urology*. 1975 Dec. 6(6). 676–9. doi: 10.1016/0090-4295(75)90793-1.

Отримано/Received 20.01.2021

Рецензовано/Revised 03.02.2021

Прийнято до друку/Accepted 19.02.2021 ■

Information about author

Dmytro D. Ivanov, MD, PhD, Professor, Head of the Department of nephrology and renal replacement therapy, Shupyk National University of Public Health, Kyiv, Ukraine; <https://orcid.org/0000-0003-2609-0051>

D.D. Ivanov

Shupyk National University of Public Health of Ukraine, Kyiv, Ukraine

COVID-19 lessons for medical practice. Methylene blue is a time-tested innovation

Abstract. Significance of methylene blue (MB) in therapy of methemoglobinemia, malaria and urinary tract infections (UTI) is well known. The antimicrobial, anti-inflammatory, and antioxidant effect of MB has been demonstrated in different *in vitro* and *in vivo* studies. Necessity to find the remedy against COVID-19 attracted the interest of investigators and general practitioners to MB worldwide. The review includes various experiences of MB use, in particular in the patients treated with MB during the COVID-19 epidemic with a preventive effect, as well as own experience on this topic. MB is widely used as a dye in a variety of biological sciences applications — diagnostic procedures and the treatment of multiple disorders, including cyanide, and carbon monoxide poisoning, and is considered to be nontoxic. The beneficial effects of MB in the management of patients with multiple small renal calculi, especially with infected stones, and prevention of new stone formation were presented in a 5-year study. Moreover, due to MB

antifungal potential and antimicrobial effect, it reduces symptoms of UTI, improves quality of life and could prevent the recurrence of disease. The patented complex of MB with sage leaf extract and American cranberry fruit extract (Pembina Blue®) demonstrated significant reduction of pain and spasm in cystitis patients. Given the limited number of available UTI therapies with concomitant increase in drug resistance, the demand for the search of new safe and effective UTI treatments are inevitable. Considering the fact that MB is FDA-approved compound that is already used for various therapeutic options, and also owing to the distinct antioxidant, antifungal, antibacterial and anti-inflammatory mechanisms presented in this review, MB could be considered as a promising drug for future.

Keywords: COVID-19; methylthioninium chloride; methylene blue; Pembina Blue®; prevention of pneumonia; urinary tract antiseptic

Иванов Д.Д.

Национальный университет здравоохранения Украины имени П.Л. Шупика, г. Киев, Украина

Уроки COVID-19 для медицинской практики.

Метиленовый синий — инновация, проверенная временем

Резюме. Значение метиленового синего (МС) в лечении метгемоглобинемии, малярии и инфекций мочевыводящих путей (ИМП) хорошо известно. Антимикробный, противовоспалительный и антиоксидантный эффекты МС были продемонстрированы в различных исследованиях *in vitro* и *in vivo*. Необходимость найти лекарство от COVID-19 привлекла внимание исследователей и практических врачей во всем мире к МС. Обзор включает различный опыт использования МС, в том числе у пациентов, получавших МС во время эпидемии COVID-19 с профилактической целью, а также собственный опыт по этой теме. МС широко применяется как краситель в различных областях биологии — в диагностических процедурах и лечении различных заболеваний, включая отравления цианидом и угарным газом, и считается нетоксичным. Эффективность МС при лечении пациентов с множественными небольшими камнями в почках, особенно с инфицированными камнями, и предупреждение образования новых камней были продемонстрированы в 5-летнем исследовании. Кроме того, благодаря противогрибковому потенциалу и антимикробному эффекту МС уменьшает симптомы ИМП, улучшает качество жизни и предотвращает рецидивы заболевания. Запатентованный комплекс МС с экстрактом листьев шалфея и экстрактом плодов клюквы крупноплодной (Пембина-Блю®) продемонстрировал значительное уменьшение боли, спазмов у больных циститом. Принимая во внимание ограниченное количество доступных методов лечения ИМП и одновременное увеличение резистентности к препаратам, необходимость поиска новых безопасных и эффективных методов лечения ИМП чрезвычайно актуальна. Учитывая то, что МС является одобренным FDA соединением, уже используется для решения различных терапевтических задач, а также благодаря отдельным антиоксидантным, противогрибковым, антибактериальным и противовоспалительным механизмам, которые приведены в данном обзоре, МС можно рассматривать как многообещающее лекарство в будущем.

кробному эффекту МС уменьшает симптомы ИМП, улучшает качество жизни и предотвращает рецидивы заболевания. Запатентованный комплекс МС с экстрактом листьев шалфея и экстрактом плодов клюквы крупноплодной (Пембина-Блю®) продемонстрировал значительное уменьшение боли, спазмов у больных циститом. Принимая во внимание ограниченное количество доступных методов лечения ИМП и одновременное увеличение резистентности к препаратам, необходимость поиска новых безопасных и эффективных методов лечения ИМП чрезвычайно актуальна. Учитывая то, что МС является одобренным FDA соединением, уже используется для решения различных терапевтических задач, а также благодаря отдельным антиоксидантным, противогрибковым, антибактериальным и противовоспалительным механизмам, которые приведены в данном обзоре, МС можно рассматривать как многообещающее лекарство в будущем.

Ключевые слова: COVID-19; метилтиониния хлорид; метиленовый синий; Пембина-Блю®; профилактика пневмонии, уроантисептики