

ISSN 0235-2990

АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

Том 70



7–8'2025

Научно-практический журнал

Цитофлавин®

Когда важно продолжать заниматься делом!



- ✓ **ВКЛЮЧЕН В КЛИНИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ № 617**
«Когнитивные расстройства у лиц пожилого и старческого возраста»¹
- ✓ **СПОСОБСТВУЕТ УВЕЛИЧЕНИЮ НЕЙРОКОГНИТИВНОГО РЕЗЕРВА**²
- ✓ **УМЕНЬШАЕТСЯ ВЫРАЖЕННОСТЬ** астении, тревоги и депрессии, нормализуется сон³



Оригинальные препараты «ПОЛИСАН»

 Циклоферон

 Цитофлавин

 Реамберин

 Ремаксол



Новый препарат

 Унифузол

+ **Оригинальные и воспроизведенные препараты**

+ **Собственное производство фармацевтических субстанций**

+ **География 18 стран:** РФ, СНГ, Монголия, Юго-Восточная Азия

1. https://cr.minzdrav.gov.ru/preview-cr/617_5

2. Применение препарата, влияющего на нейрометаболизм, для профилактики послеоперационных когнитивных расстройств / А. Л. Коваленко, О. А. Нагибович, А. Ю. Вишневецкий [и др.] // Общая реаниматология. – 2022. – Т. 18. – № 2. – С. 12-21. – DOI 10.15360/1813-9779-2022-2-12-21. – EDN VASIKQ2

3. Щукин И.А. Коррекция астенического синдрома. Поликлиника. 2014; 2: 25–30.

Таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой №50, №100, рег. номер ЛП-№(000923)-(РГ-RU)- 23.06.2022. Раствор для внутривенного применения рег. номер ЛП-№(000973)-(РГ-RU) от 04.07.2022. Реклама. Имеются противопоказания. Информация для специалистов здравоохранения

Учредители:

Министерство здравоохранения
Российской Федерации

Государственный научный
центр по антибиотикам

«Антибиотики и химиотерапия» —
ежемесячный научно-практический
журнал
Основан в 1956 году

АДРЕС РЕДАКЦИИ:

Нагатинская ул., д. За, Москва, 117105.
Тел.: 89254723038
E-mail: journalgnca@yandex.ru
Зав. редакцией к. б. н. Л. Б. Смирнова
Корректор: Е. А. Крыкова
Перевод: О. С. Смирнова
Сайт: www.antibiotics-chemotherapy.ru

ОТДЕЛ РЕКЛАМЫ:

Тел.: 89254723038
E-mail: gncajournal@yandex.ru
Л. И. Гусак

ИЗДАТЕЛЬ:

Издательство «ОКИ»



Подписка через объединённый
каталог «Пресса России»
или через «Агентство «КнигаСервис»:
подписной индекс — Е71404

Журнал зарегистрирован
в Комитете РФ по печати
Рег. свид. № 0110694 от 25 мая 1993 г.

Установочный тираж 5000 экз.

Типография:
ООО «Литера»

Дата выхода: август 2025

Свободная цена

ISSN 0235-2990

АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

Том 70

7–8'2025

ЕЖЕМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Главный редактор

Чл. корр. РАН, профессор, д. м. н. Сидоренко С. В.

Зам. главного редактора

Профессор РАН, д. х. н. Щекотихин А. Е.
профессор, д. м. н. Яковлев С. В.

Отв. за выпуск — Белоусов Д. Ю.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Профессор, д. м. н. Белобородов В. Б.
Академик РАН, профессор, д. б. н. Говорун В. М.
Чл. корр. РАН, профессор, д. б. н. Ильина Е. Н.
Профессор, д. м. н. Колбин А. С.
Профессор, д. м. н. Кочеровец В. И.
Академик РАН, профессор, д. м. н. Лобзин Ю. В.
Профессор, д. х. н. Олсуфьева Е. Н.
Д. б. н. Переверзева Э. Р.
Д. м. н. Припутневич Т. В.
Профессор, д. м. н. Руднов В. А.
Д. б. н. Садыкова В. С.
Академик РАН, профессор, д. м. н. Сычев Д. А.
Д. х. н. Тевяшова А. Н.
Профессор, д. х. н. Тишков В. И.
Чл. корр. РАН, профессор, д. б. н. Тутельян А. В.
Профессор, д. м. н. Шляпников С. А.

Научные редакторы

К. м. н. Кузнецова С. М.
К. б. н. Белявская И. В.

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Богуш Т. А.	Клясова Г. А.
Васильев А. Н.	Ленёва И. А.
Волжанин В. М.	Митрохин С. Д.
Дмитриева Н. В.	Тец В. В.
Захарова Ю. А.	Ших Е. В.

Founders:

ISSN 0235-2990

**Ministry of Health
of the Russian Federation**

State Scientific Center for Antibiotics

**«Antibiotiki i Khimioterapiya»
(«Antibiotics and Chemotherapy»)
Monthly Scientific
and Practical Journal**

Founded in 1956

Editorial office address:

3a Nagatinskaya st., Moscow, 117105
Russia
Tel.: +7-925-472-30-38
E-mail: journalgnca@yandex.ru
Head of the Editorial Office:
Ph. D. in Biology Lyudmila B. Smirnova
Proofreader: Ekaterina A. Krykova
Translator: Olga S. Smirnova
Website:
www.antibiotics-chemotherapy.ru

Advertising Department:

Tel.: 89254723038
E-mail: gncajournal@yandex.ru
Larisa I. Gusak

Publisher:

Izdatelstvo «OKI»



*Subscription through the united
catalogue «Pressa Rossii»
(«Russian Press») or through
«Agentstvo Kniga-Servis»
(«Book Service Agency»):
subscription index — E71404*

The journal is registered
with the Press Committee
of the Russian Federation
Registration certificate No. 0110694
dated May 25, 1993

Circulation: 5000 copies

Tipography:
ООО «Литера»

Release Date: August 2025
Free price

ANTIBIOTICS AND CHEMOTHERAPY

ANTIBIOTIKI i KHIOTERAPIYA

Volume 70

7–8'2025

MONTHLY JOURNAL

Editor-in-Chief

**Corresponding member of the RAS,
Professor, D. Sc. in Medicine Sergey V. Sidorenko**

Deputy Editor-in-Chief

**Professor, D. Sc. in Chemistry Andrey E. Shchekotikhin
Professor, D. Sc. in Medicine Sergey V. Yakovlev**

RESPONSIBLE FOR THE ISSUE

Dmitry Yu. Belousov

MEMBERS OF EDITORIAL BOARD

Professor, D. Sc. in Medicine Vladimir B. Beloborodov
Academician of the RAS, Professor,
D. Sc. in Biology Vadim M. Govorun
Professor, D. Sc. in Biology Elena N. Ilyina
Professor, D. Sc. in Medicine Alexey S. Kolbin
Professor, D. Sc. in Medicine Vladimir I. Kocherovets
Academician of the RAS, Professor,
D. Sc. in Medicine Yuriy Yu. Lobzin
Professor, D. Sc. in Chemistry Evgenia N. Olsufieva
D. Sc. in Biology Eleonora R. Pereverzeva
D. Sc. in Medicine Tatyana V. Pripitnevich
Professor, D. Sc. in Medicine Vladimir A. Rudnov
D. Sc. in Biology Vera S. Sadykova
Academician of the RAS, Professor,
D. Sc. in Medicine Dmitry A. Sychev
D. Sc. in Chemistry Anna N. Tevyasheva
Professor, D. Sc. in Chemistry Vladimir I. Tishkov
Corresponding member of the RAS, Professor,
D. Sc. in Medicine Alexey V. Tutelyan
Professor, D. Sc. in Medicine Sergey A. Shlyapnikov

Scientific Editors

Ph. D. in Medicine Svetlana M. Kuznetsova
Ph. D. in Biology Irina V. Belyavskaya

EDITORIAL COUNCIL

Tatyana A. Bogush	Galina A. Klyasova
Andrey N. Vasiliev	Irina A. Leneva
Valeriy M. Volzhanin	Sergey D. Mitrokhin
Natalya V. Dmitrieva	Victor V. Tets
Yuliya A. Zakharova	Evgenia V. Shikh

*Журнал** цитируется в: *Medline; Ind Chem; Index Medicus; Ind Sci Rev; Curr Biothech Abstr; Current Contents (Life Sciences)*

Cited in: Medline; Ind Chem; Index Medicus; Ind Sci Rev; Curr Biothech Abstr; Current Contents (Life Sciences)

Экспериментальные статьи

- Маланичева И. А., Храмова Е. В., Макарова М. О., Ефременкова О. В.
Антимикробная активность штамма *Aquipseudomonas alcaligenes*
Зиангирова М. Ю., Леонтьева М. И., Лысакова В. С., Автономова А. В., Исакова Е. Б., Краснополянская Л. М.
Антимикробная активность экстрактов *Stereum hirsutum* в зависимости от состава питательной среды
Хумаири А. Х., Новочадов В. В.
Исследование противоопухолевой активности четырёх новых производных фенилпиразолотриазина *in vitro* при изучении цитотоксичности и цитостатичности на культурах клеток рака молочной железы
Волкова Л. В., Волков А. Г., Полюдова Т. В., Рудакова И. П.
Лейкоцитарный пептидный комплекс с антибактериальным и противовоспалительным эффектом

Клинические исследования и практика

- Стуров Н. В., Попов С. В., Иванов З. А., Жуков В. А.
Влияние кишечной микробиоты на риск мочекаменной болезни
Иванова М. И., Иванов В. М., Петров А. Ю., Коваленко А. Л., Таликова Е. В., Ленская К. В.
Метаболическая терапия в комплексной реабилитации пациентов после радиочастотной абляции

В помощь практикующему врачу

- Проценко Д. Н., Белоцерковский Б. З., Матяши М. И., Круглов А. Н., Быков А. О., Шифман Е. М.
Диагностика нозокомиальной пневмонии

Стандартизация и контроль лекарственных средств

- Кузьмина Н. Е., Моисеев С. В., Якупов И. Ю., Кулешова С. И.
Идентификация капреомицинов IA и IB и количественная оценка отношения их содержания в лекарственных препаратах капреомидина методами ЯМР спектроскопии

Обзоры

- Кисиль О. В., Зверева М. Э., Олсуфьева Е. Н.
Альтернативный терапевтический потенциал антибиотиков, ингибирующих бактериальную трансляцию, как регуляторов митохондриальной дисфункции
Белов Б. С., Ананьева Л. П.
К вопросу об антибактериальной терапии болезни Лайма
Хейфец Е. В., Панов А. В.
Пероральные лекарственные формы на основе цефалоспоринов: преимущества цефиксима в капсульной форме

Experimental Research

- 4 Malanicheva Irina A., Khramtsova Ekaterina V., Makarova Marina O., Efremenkova Olga V.
Antimicrobial Activity of *Aquipseudomonas alcaligenes* Strain
10 Ziangirova Mayya Yu., Leonteva Maria I., Lysakova Valeria S., Avtonomova Anastasia V., Isakova Elena B., Krasnopolskaya Larissa M.
Antimicrobial Activity of *Stereum hirsutum* Extracts Depending on the Nutrient Medium Composition
19 Al-Humairi Ahmed H., Novochadov Valeriy V.
Analysis of the Antitumor Activity of Four New Phenylpyrazolotriazine Derivatives *In Vitro* in a Cytotoxicity and Cytostatic Study on Breast Cancer Cell Cultures
28 Volkova Larisa V., Volkov Alexander G., Polyudova Tatyana V., Rudakova Irina P.
Leukocyte Peptide Complex with Antibacterial and Anti-Inflammatory Effects

Clinical Research and Practice

- 34 Sturov Nikolay V., Popov Sergey V., Ivanov Zakhar A., Zhukov Vladimir A.
Impact of the Gut Microbiota on the Risk of Urolithiasis
41 Ivanova Marina I., Ivanov Vyacheslav M., Petrov Andrey Yu., Kovalenko Aleksey L., Talikova Ekaterina V., Lenskaya Karina V.
Metabolic Therapy in Complex Rehabilitation of Patients After Radiofrequency Ablation

Guidelines for Practitioners

- 47 Protsenko Denis N., Belotserkovskiy Boris Z., Matyash Maksim I., Kruglov Alexander N., Bykov Andrey O., Shifman Efim M.
Diagnosis of Hospital-Acquired Pneumonia

Drug Standardization and Control

- 68 Kuz'mina Natalia E., Moiseev Sergey V., Yakupov Ilya Y., Kuleshova Svetlana I.
Capreomycin IA and IB Identification and Their Content Ratio Quantification in Capreomycin Pharmaceutical Preparations Using NMR Spectroscopic Methods

Reviews

- 74 Kisil Olga V., Zvereva Marina I., Olsufyeva Evgeniya N.
Alternative Therapeutic Potential of Antibiotics Inhibiting Bacterial Translation as Regulators of Mitochondrial Dysfunction
92 Belov Boris S., Ananyeva Lidia P.
On The Issue of Antibiotic Therapy for Lyme Disease
101 Kheifets Evgenii V., Panov Aleksei V.
Oral Cephalosporin Dosage Forms: Advantages of Cefixime in Capsule Form

* Журнал входит в перечень ведущих научных журналов и изданий, выпускаемых в Российской Федерации, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора наук и кандидата наук.

Антимикробная активность штамма *Aquipseudomonas alcaligenes*

И. А. МАЛАНИЧЕВА, Е. В. ХРАМЦОВА, М. О. МАКАРОВА, *О. В. ЕФРЕМЕНКОВА

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе», Москва, Россия

Резюме

Актуальность. Поиск новых эффективных антибиотиков является одной из основных задач в области медицины, что обусловлено распространением антибиотикорезистентных патогенов, не поддающихся традиционной химиотерапии. **Цель.** Изыскание микроорганизма — потенциального продуцента антибиотика, проявляющего антимикробную активность в отношении патогенных бактерий с множественной лекарственной устойчивостью. **Объект.** Бактерия была выделена из пресноводного комнатного аквариума, идентифицирована как *Aquipseudomonas alcaligenes*, и депонированная в коллекцию НИИНА под номером INA 01568. **Материал и методы.** Для поверхностного культивирования *A. alcaligenes*, бактериальных и грибных штаммов использовали универсальную среду №2 Гаузе. Глубинное культивирование осуществляли в 18 питательных средах разного состава. Для определения антимикробной активности использовали метод диффузии в агар. В качестве тест-штаммов использовали 13 коллекционных тест-штаммов бактерий и грибов. Видовую идентификацию проводили по морфологическим признакам и по гену 16S рРНК. **Результаты.** Штамм *A. alcaligenes* INA 01568 при культивировании в погружённых условиях на 2 средах из 18 проявил антимикробную активность в отношении 6 тест-штаммов, включая бактерии из группы ESKAPE, а именно MRSA, *Pseudomonas aeruginosa*, а также ванкомицинорезистентный штамм *Leuconostoc mesenteroides*, активность к которым описана впервые. Активности в отношении грибов не обнаружено. **Заключение.** Штамм *A. alcaligenes* INA 01568 перспективен для химического исследования.

Ключевые слова: *Aquipseudomonas alcaligenes*; антимикробная активность; ESKAPE; MRSA; *Leuconostoc mesenteroides*; *Pseudomonas aeruginosa*

Для цитирования: Маланичева И. А., Храмцова Е. В., Макарова М. О., Ефременкова О. В. Антимикробная активность штамма *Aquipseudomonas alcaligenes*. Антибиотики и химиотер. 2025; 70 (7–8): 4–9. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2025-70-7-8-4-9>. EDN: PVZQZO.

Antimicrobial Activity of *Aquipseudomonas alcaligenes* Strain

IRINA A. MALANICHEVA, EKATERINA V. KHRAMTSOVA,
MARINA O. MAKAROVA, *OLGA V. EFREMKOVA

Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, Russia

Abstract

Background. The search for new effective antibiotics is one of the main tasks in the field of medicine, which is due to the spread of antibiotic-resistant pathogens that are not amenable to traditional chemotherapy. **The aim of the study** was the search for a microorganism that could potentially produce an antibiotic exhibiting antimicrobial activity against pathogenic bacteria with multiple drug resistance. The object of the study was a bacterium isolated from a freshwater indoor aquarium, identified as *Aquipseudomonas alcaligenes* and deposited in the collection of NIINA under the number INA 01568. **Materials and methods.** For the surface cultivation of *A. alcaligenes*, bacterial and fungal strains, universal medium No. 2 Gause was used. Submerged cultivation was carried out in 18 nutrient media of different compositions. An agar diffusion method was used to determine the antimicrobial activity. Thirteen collection test strains of bacteria and fungi were used as test strains. Species identification was carried out by morphological features and the 16S rRNA gene. **Results.** When cultured under submerged conditions on 2 media out of 18, the *A. alcaligenes* INA 01568 strain demonstrated antimicrobial activity against 6 test strains, including bacteria from the ESKAPE group, namely MRSA, *Pseudomonas aeruginosa*, as well as the vancomycin-resistant strain *Leuconostoc mesenteroides*; activity against these strains has been described for the first time. Activity against fungi was not detected. **Conclusion.** The *A. alcaligenes* strain INA 01568 is promising for chemical research.

Keywords: *Aquipseudomonas alcaligenes*; antimicrobial activity; ESKAPE; MRSA; *Leuconostoc mesenteroides*; *Pseudomonas aeruginosa*

For citation: Malanicheva I. A., Khramtsova E. V., Makarova M. O., Efremenkova O. V. Antimicrobial activity of *Aquipseudomonas alcaligenes* strain. Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy. 2025; 70 (7–8): 4–9. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2025-70-7-8-4-9>. EDN: PVZQZO. (in Russian)

*Адрес для корреспонденции:
E-mail: ovefr@yandex.ru



*Correspondence to:
E-mail: ovefr@yandex.ru



Введение

По данным Всемирной организации здравоохранения, с каждым годом усугубляется ситуация с распространением патогенных микроорганизмов с множественной лекарственной устойчивостью. В 2024 г. ВОЗ опубликовал обновлённый актуальный список особо опасных патогенов, не поддающихся антимикробной химиотерапии [1, 2]. Одним из подходов к решению этой проблемы является поиск новых природных антибиотиков. Успех при поиске продуцентов новых природных антибиотиков может принести исследование микрофлоры необычных экологических биотопов, ранее не исследованных с этой целью. В некоторых случаях возможно прямое наблюдение антагонизма между микробами. В данном случае наше внимание привлекла зона угнетения роста микроводорослей на внутренней стороне стеклянной стенки пресноводного домашнего аквариума, в центре которого был виден рост бактериальной колонии.

Цель исследования — идентификация выделенного бактериального штамма и анализ его антимикробного спектра, в том числе в отношении тест-штаммов с множественной лекарственной устойчивостью.

Материал и методы

Микроорганизмы. Бактерия — предполагаемый продуцент антимикробных веществ — была выделена из пресноводного аквариума.

Для определения антимикробного спектра использовали следующие тест-штаммы: грамположительных бактерий — *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus pumilus* NCTC 8241, *Bacillus mycoides* 537, *Micrococcus luteus* NCTC 8340, *Leuconostoc mesenteroides* VKPM B-4177 (VRLM), *Staphylococcus aureus* FDA 209P (MSSA), *S. aureus* INA 00761 (MRSA), *Mycobacterium smegmatis* VKPM Ac 1339 и *Mycobacterium smegmatis* mc² 155; грамотрицательных бактерий — *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853; грибов — *Aspergillus niger* INA 00760, *Saccharomyces cerevisiae* RIA 259.

Питательные среды. Для поверхностного культивирования всех микроорганизмов использовали модифицированную агаровую среду № 2 Гаузе (в %): глюкоза — 1,0, пептон — 0,5, триптон — 0,3, NaCl — 0,5, агар — 2,0, вода водопроводная, pH 7,2–7,4. Для глубинного культивирования применяли 18 сред с разными источниками углерода, азота и солей металлов (в %): среда 11654: глюкоза — 3,0, соевая мука — 2,0, NaCl — 0,3, мел — 0,3, pH 7,4; среда № 2 Гаузе (модификация 1): глюкоза — 1,0, пептон — 0,5, триптон — 0,3, NaCl — 0,5, вода водопроводная, pH 7,2–7,4; среда № 2 Гаузе (модификация 2): глюкоза — 1,0, пептон — 0,5, триптон — 0,3, NaCl — 0,5, мел — 0,25, вода водопроводная, pH 7,2–7,4; среда № 2 Гаузе (модификация 3): маннит — 1,0, пептон — 0,5, триптон — 0,3, NaCl — 0,5, мел — 0,25, вода водопроводная, pH 7,2–7,4; среда картофеля: картофель — 20; среда сусло: солодовый экстракт Maltax (Финляндия) — 20; среда 802: пептон — 0,5, триптон — 0,3, дрожжевой экстракт — 0,2, MgSO₄ × 7 H₂O — 0,1; среда гороховая: глюкоза — 1, гороховая мука — 5, пептон — 0,5, NaCl — 0,5; среда пшеничная: пшеничная мука — 5, (NH₄)₂SO₄ — 0,4, NaCl — 1, мел — 0,6; среда соево-крахмальная: крахмал — 2, соевая мука — 5, (NH₄)₂SO₄ — 0,2, мел — 0,2; среда соево-глицериновая: глюкоза — 1, глицерин — 0,25, пептон — 2,5, соевая мука — 1, NaCl — 0,3; среда AM: сахароза — 4, K₂HPO₄ — 0,1, Na₂SO₄ — 0,1, NaCl — 0,1, (NH₄)₂SO₄ — 0,2, дрож-

жевой экстракт — 0,25, FeSO₄ × 7H₂O — 0,0001, MnCl₂ × 4H₂O — 0,0001, NaI — 0,00005, мел — 0,2, вода дистиллированная, pH 6,5–6,7; среда 330: сахароза — 2,1, крахмал — 0,85, гороховая мука — 1,5, NaCl — 0,5, NaNO₃ — 0,5, мел — 0,5, вода водопроводная, pH 7,0; среда сахарозная: сахароза — 2, соевая мука — 1, NaCl — 0,3, мел — 0,3, вода водопроводная, pH 6,8–7,0; среда 6613: крахмал — 2, кукурузный экстракт — 0,3, KNO₃ — 0,4, NaCl — 0,5, мел — 0,5, вода водопроводная, pH 7,0–7,2; среда 5339: глицерин — 2,0, соевая мука — 0,5, (NH₄)₂SO₄ — 0,15, NaCl — 0,3, мел — 0,3, pH 6,8; среда 2663: глицерин — 3, соевая мука — 1,5, NaCl — 0,3, мел — 0,3, вода водопроводная, pH 7,0; среда A4: глюкоза — 1, соевая мука — 1, NaCl — 0,5, мел — 0,25, вода водопроводная, pH 6,8.

Условия культивирования. Тест-культуры *L. mesenteroides*, *A. niger* и *S. cerevisiae* выращивали при температуре 28°C, другие тест-культуры — при 37°C. Исследуемый штамм культивировали на агаровой среде при 37°C в течение 2 сут, при погружённом культивировании с аэрированием на качалке 200 об/мин при 28°C на протяжении от 2 до 11 сут. Глубинное культивирование проводили в колбах объёмом 750 мл, содержащих 150 мл среды.

Морфологическое описание штамма. Описание колоний проводили при высеве от 10 до 30 колоний на чашку.

Для микроскопирования использовали световой микроскоп МИКМЕД-6 («ЛОМО», Россия). Просмотр препаратов осуществляли при увеличении от 60 до 1500 раз.

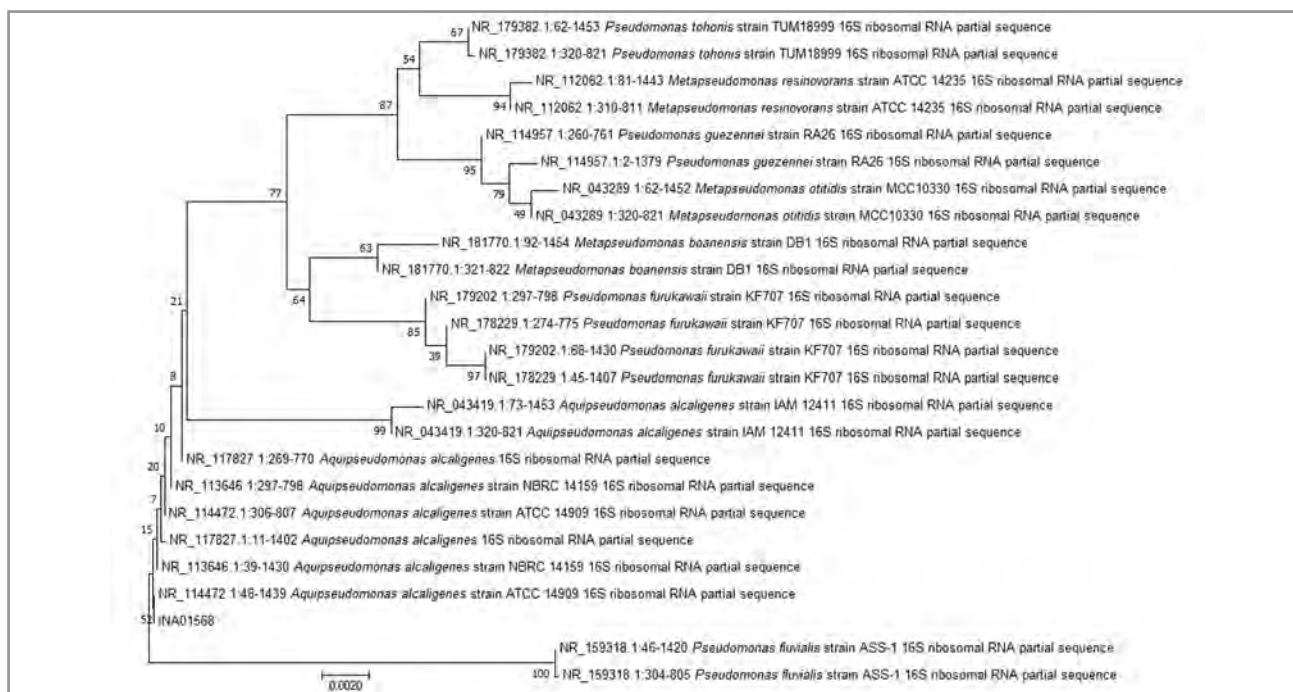
Видовая идентификация по анализу гена 16S рРНК. Выделение ДНК, ПЦР гена 16S рРНК, секвенирование полученных продуктов, анализ последовательностей и построение филогенетического дерева проводили, как описано ранее [3].

Определение антимикробной активности. Антимикробную активность культуральной жидкости исследуемого штамма определяли методом диффузии в агар. Для этого в чашки с высевными газонами тест-штаммами в лунки диаметром 9 мм вносили по 0,1 мл исследуемых культуральных жидкостей. После инкубирования об уровне антимикробной активности судили по диаметрам зон задержки роста тест-культур вокруг лунок.

Результаты и обсуждение

Исследуемый штамм на среде № 2 Гаузе образует тёмно-жёлтые, полупрозрачные, масляно-блестящие колонии с конусно-возвышенной центральной зоной и ровным краем, диаметром 2–3 мм. При микроскопировании штамм представляет собой короткие подвижные палочки, окраска клеток по Граму отрицательная. Последовательность гена 16S рРНК длиной 1392 нуклеотида депонирована в GenBank (PV911117). Сопоставление с последовательностями данного гена у трёх штаммов *Aquipseudomonas alcaligenes* по базе GenBank показало совпадение 99,93%, поэтому на основании указанного выше исследуемый штамм отнесён к виду *A. alcaligenes* (ранее *Pseudomonas alcaligenes*) из семейства Pseudomonadaceae, класс Gammaproteobacteria. Исследуемый штамм депонирован в коллекцию микроорганизмов ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе» под номером INA 01568. Филогенетическое дерево показано на рисунке.

Проявление антимикробной активности в условиях глубинного культивирования исследовали на 18 средах, представленных в разделе



Филогенетическое положение штамма INA 01568.

Примечание. Масштаб показывает эволюционное расстояние, соответствующее 2 нуклеотидным заменам на каждые 1000 нуклеотидов. Цифрами показана достоверность ветвления, установленная с помощью «bootstrap»-анализа 100 альтернативных деревьев (значениями признаются значения больше 85).

Phylogenetic position of INA 01568 strain.

Note. The scale bar shows the evolutionary distance corresponding to 2 nucleotide substitutions per 1,000 nucleotides. The numbers indicate the branching significance determined using bootstrap analysis of 100 alternative trees (values greater than 85 are considered significant).

Материал и методы. На каждой из сред было проведено от 3 до 5 ферментаций. В результате была обнаружена антимикробная активность только на двух из восемнадцати питательных сред — средах «сусло» и «330». Из тринадцати микроорганизмов антимикробная активность зафиксирована в отношении 6 из 13 тест-штаммов: *B. pumilus* NCTC 8241, двух штаммов *S. aureus* FDA 209P (MSSA) и INA 00761 (MRSA), *M. luteus* NCTC 8340, *L. mesenteroides* VKPM B-4177 (VRLM), *P. aeruginosa* ATCC 27853 (таблица). Противогрибковой активности не обнаружено.

Обсуждение

Бактерия, идентифицированная нами как *A. alcaligenes* и депонированная под номером INA 01568, проявляет антимикробные свойства в отношении шести коллекционных тест-штаммов бактерий из тринадцати тест-микроорганизмов. Данный штамм образует антимикробные соединения только на двух питательных средах из восемнадцати, причём, как следует из таблицы, штамм в описанных условиях образует не менее двух активных веществ: на среде «сусло» активность проявляется в отношении грамположительных бактерий, включая MRSA, а также в отношении тест-штамма *P. aeruginosa* ATCC 27853

с множественной лекарственной устойчивостью; на среде «330» активность проявляется только в отношении тест-штамма *Leuconostoc mesenteroides* VKPM B-4177.

Условно-патогенный микроорганизм *P. aeruginosa* является возбудителем широкого спектра инфекций и причиной внутрибольничных инфекций. Бактерия устойчива к антибиотикам различных классов, включая карбапенемы [4]. Особое место среди бактерий с множественной лекарственной устойчивостью занимает метициллинорезистентный *S. aureus* благодаря своей относительно высокой вирулентности и большой пластичности, позволяющей ему адаптироваться к различным условиям окружающей среды. Штаммы *S. aureus* выработали механизмы устойчивости практически ко всем противомикробным препаратам, используемым в клинике в настоящее время. Наиболее важной является устойчивость к препаратам, наиболее часто используемым для лечения инфекций, вызванных грамположительными бактериями, то есть к бета-лактамам, гликопептидам и оксазолидинонам [5].

Долгое время ванкомицин был антибиотиком резерва, но в связи с распространением патогенов с множественной лекарственной устойчивостью его стали широко применять в медицине, в ряде случаев как единственное эффективное средство,

Антимикробная активность культуральной жидкости штамма *A. alcaligenes* INA 01568 на средах «сусло» и «330»
 Antimicrobial activity of the culture fluid of the *A. alcaligenes* INA 01568 strain on the «malt extract» and «330» media

Сутки культивирования	Тест-штаммы					
	<i>Bacillus pumilus</i> NCTC 8241	<i>Staphylococcus aureus</i> FDA 209P (MSSA)	<i>S. aureus</i> INA 00761 (MRSA)	<i>Micrococcus luteus</i> NCTC 8340	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> VKPM B-4177 (VRLM)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853
Среда «сусло»						
2						
4						
7						
9						
11						
Среда «330»						
2						
4						
7						
9						
11						

Примечание. Диаметры зон задержки роста (мм): □ — 0; □ — 10–12; □ — 13–15; □ — 16–17; □ — 18–20.

Note. Diameters of growth inhibition zones (mm): □ — 0; □ — 10–12; □ — 13–15; □ — 16–17; □ — 18–20.

после чего стали возникать устойчивые к ванкомицину патогены. *L. mesenteroides* обладает высоким уровнем природной устойчивости к пептидным антибиотикам группы ванкомицина и поэтому тест-штамм VKPM B-4177 является средством, позволяющим обнаруживать вещества, активные против ванкомицинорезистентных патогенов.

Вид *Aquipseudomonas alcaligenes*, который до 2024 г. причисляли к роду *Pseudomonas*, несколько раз изучался на предмет образования антимикробных веществ. Данный микроорганизм обладает генетическими особенностями, связанными с устойчивостью к окружающей среде, и метаболической гибкостью. *A. alcaligenes* демонстрирует широкую адаптивность к наземной и водной среде и участвует в таких экологических процессах, как разложение загрязняющих веществ, преобразуя токсичные соединения в менее вредные метаболиты с помощью специализированных ферментативных путей.

Был проведён анализ полного генома штамма *A. alcaligenes* 67P с помощью программы antiSMASH 7.1. Было выявлено, что в геноме содержится не менее 10 кластеров биосинтетических генов, которые важны для конкуренции микроорганизмов, адаптации к окружающей среде и потенциально могут иметь практическое значение. Среди них имеются RiPP-подобные BGC, что указывает на возможную противомикробную активность, поскольку RiPP часто кодируют бактериоцины и лантибиотики, которые подавляют конкурирующие микроорганизмы. Также в геноме присутствуют поликетидные кластеры, которые связаны с биосинтезом лейкомицина (3%) и фенгигина (20%), соединений с антибиотическими и противогрибковыми свойствами [6].

Лейкомицин — антибиотик класса макролидов. Спектр действия схож со спектром действия

эритромицина и олеандомицина. Лейкомицин (синоним китасомицин) активен в отношении грамположительных бактерий *S. aureus* 209P, *S. epidermidis*, *Diplococcus pneumoniae*, *Cornebacterium diphtheria*, *B. subtilis*, *B. anthracis* и грамотрицательных спорообразующих анаэробных бактерий *Neisseria gonorrhea*, *Bordetella pertussis*. Активности в отношении аэробных грамотрицательных микроорганизмов, включая бактерии рода *Pseudomonas*, не обнаружено. Активность штамма *A. alcaligenes* INA 01568 в отношении *P. aeruginosa* не описана в литературе для лейкомицина, кроме того совпадение последовательностей ДНК в кластере, кодирующей гены биосинтеза лейкомицина, составляет всего 3%, что повышает вероятность биосинтеза другого антибиотика [7].

Фенгигины (фенгигин, пипастатин, мальтатин) представляют собой декапептиды. Фенгигин действует преимущественно против многих видов грибов, но не подавляет бактерии [8, 9]. По результатам нашего исследования, штамм *A. alcaligenes* INA 01568 не проявляет антимикробную активность в отношении грибных тестов *S. cerevisiae* RIA 259 и *A. niger* INA 00760, но активен в отношении бактерий.

Также у *A. alcaligenes* был выявлен кластер генов, имеющий близкое сродство к нерибосомальным пептидам — сидерофорам амфибактинам E, H или I, что может способствовать усвоению железа. Сидерофоры — это хелатные соединения, вырабатываемые бактериями с целью высокоспецифичного поглощения железа. Считается, что они играют важную роль в поглощении железа бактериями в воде и влияют на биогеохимию железа в водной среде [10]. Сидерофоры не обладают антибиотической активностью, но могут использоваться в качестве «тройного коня», который образует комплекс с антибиотиками и доставляет

их в нужные места, особенно в случае с бактериями, устойчивыми к антибиотикам. Перспективным направлением является использование сидерофоров в сочетании с антибиотиками для борьбы с устойчивостью бактерий [11].

Из *A. alcaligenes* было выделено токсическое вещество (G154), которое представляет собой циклическую гидроксамовую кислоту со структурой 1-гидрокси-2(1H)-пиридинона, способную образовывать комплексы с металлами. *In vitro* G1549 и его комплексы меди и железа проявляли умеренную активность в отношении грамположительных бактерий, грибов и *Trichomonas vaginalis*. В ходе изучения было выявлено, что местное применение G1549 и его комплексов меди и железа защищало морских свинок от кожной инфекции *Microsporium canis*. Однако эти соединения обладали некоторой системной токсичностью для мышей [12].

Заключение

Таким образом, проявляемая штаммом *A. alcaligenes* INA 01568 активность к выше перечисленным трём тест-штаммам свидетельствует о его перспективности как продуцента. Анализ литературы по *A. alcaligenes* не позволяет идентифицировать на основании анализа генома и спектра антибиотической активности штамм INA 01568 как продуцента известного антибиотика, образуемого этим видом. Соответственно, целесообразно дальнейшее химическое изучение антимикробных соединений *A. alcaligenes* INA 01568.

Литература/References

1. WHO. Global antimicrobial resistance surveillance system (GLASS) report: early implementation 2020. Geneva: World Health Organization; 25 May 2020.
2. WHO Bacterial Priority Pathogens List, 2024: bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance. Geneva: World Health Organization; 2024.
3. Кандыба А. Л., Храмцова Е. В., Васильева Б. Ф., Бойкова Ю. В., Глухова А. А., Ефименко Т. А., Ефременкова О. В. Антимикробная активность микроорганизмов, выделенных из почвы тропической пустыни Синайского полуострова. Антибиотики и химиотер. 2024; 69 (7–8): 9–16. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-7-8-9-16>. [Kandyba A. L., Khrantsova E. V., Vasilyeva B. F., Boykova Ju. V., Glukhova A. A., Efimenko T. A., Efremenkova O. V. Antimicrobial activity of microorganisms isolated from the soil of the tropical desert of the Sinai Peninsula. Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy. 2024; 69 (7–8): 9–16. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-7-8-9-16>. (in Russian)]
4. Sanya D. R. A. Onésim D., Vizzarro G., Jacquier N. Recent advances in therapeutic targets identification and development of treatment strategies towards *Pseudomonas aeruginosa* infections. BMC Microbiol. 2023; 23 (1): 86. doi: [10.1186/s12866-023-02832-x](https://doi.org/10.1186/s12866-023-02832-x).
5. Mlynarczyk-Bonikowska B., Kowalewski C., Krolak-Ulinska A., Marusza W. Molecular mechanisms of drug resistance in *Staphylococcus aureus*. Internat J Mol Sci. 2022; 23 (15): 8088. doi: [10.3390/ijms23158088](https://doi.org/10.3390/ijms23158088).
6. Ajmi N., Tasc G., Saticiogl I. B., Duman M. Pangenome analysis of *Aquipseudomonas alcaligenes* 67P: insights into ecological distribution, environmental adaptation, and metabolic versatility. Total Environment Microbiology. 2025; 100010. doi: <https://doi.org/10.1016/j.temicr.2025.100010>.

Дополнительная информация

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № АААА-А18-118011650006-5).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Участие авторов. Маланичева И. А. — выделение микроорганизма, проведение ферментаций, анализ литературы, написание статьи; Храмцова Е. В. — видовая идентификация, анализ литературы, написание статьи; Макарова М. О. — определение антимикробного спектра продуцента, редактирование статьи; Ефременкова О. В. — постановка задачи, разработка схемы исследования, анализ данных, написание статьи.

Additional information

Acknowledgments. The research was carried out within the state assignment of Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (theme No. АААА-А18-118011650006-5).

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Participation of the authors. Malanicheva I. A. — microorganism isolation, implementation of fermentations, analysis of literature, article writing; Khrantsova E. V. — species identification; analysis of literature, article writing; Makarova M. O. — determination of the antimicrobial spectrum of producer, article reduction; Efremenkova O. V. — setting the problem, developing a research scheme, data analysis, writing an article.

7. Iwata K., Akiba T. Studies on the *in vitro* antibacterial activity of leucomycin. J Antibiot. Series A. 1962; 15 (6): 258–265. doi: [10.2174/1874467213666200518094445](https://doi.org/10.2174/1874467213666200518094445).
8. Сидорова Т. М., Асатурова А. М., Аллахвердян В. В. Особенности антагонизма бактерий рода *Bacillus* по отношению к токсиногенным грибам *Fusarium* при защите растений от болезни и контаминации микотоксинами (обзор). Юг России: экология, развитие. 2021; 4 (61): 86–103. doi: <https://doi.org/10.18470/1992-1098-2021-4-86-103>. [Sidorova T. M., Asaturova A. M., Allahverdyan V. V. Osobennosti antagอนizma bakterij roda *Bacillus* po otnosheniyu k toksinogennym gribam *Fusarium* pri zashchite rastenij ot bolezni i kontaminacii mikotoksinami (obzor). Yug Rossii: Ekologiya, Razvitie. 2021; 4 (61): 86–103. doi: <https://doi.org/10.18470/1992-1098-2021-4-86-103>.
9. Vanittanakom N., Loeffler W., Koch U., Jung G. Fengycin-a novel antifungal lipopeptide antibiotic produced by *Bacillus subtilis* F-29-3. J Antibiot (Tokyo). 1986; 39 (7): 888–901. doi: [10.7164/antibiotics.39.888](https://doi.org/10.7164/antibiotics.39.888).
10. Mawji E., Gledhill M., Milton J. A., Tarran G. A., Ussher S., Thompson A., Wolff G. A., Worsfold P. J., Achterberg E. P. Hydroxamate siderophores: occurrence and importance in the Atlantic Ocean. Environ Sci Technol. 2008; 42 (23): 8675–8680. doi: [10.1021/es801884r](https://doi.org/10.1021/es801884r).
11. Prabhakar P. K. Bacterial siderophores and their potential applications: a review. Curr Mol Pharmacol. 2020; 13 (4): 295–305. doi: [10.11554/antibiotics.15.6_258](https://doi.org/10.11554/antibiotics.15.6_258).
12. Barker W. R., Callaghan C., Hill L., Noble D., Acred P., Harper P. B., Sowa M. A., Fletton R. A. G1549, a new cyclic hydroxamic acid antibiotic, isolated from culture broth of *Pseudomonas alcaligenes*. J Antibiot (Tokyo). 1979; 32 (11): 1096–1103. doi: [10.7164/antibiotics.32.1096](https://doi.org/10.7164/antibiotics.32.1096).

Поступила / Received 10.07.2025

Принята в печать / Accepted 25.07.2025

Информация об авторах

Маланичева Ирина Алексеевна — старший научный сотрудник, сектор поиска природных соединений, преодолевающих устойчивость бактерий, Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе», Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0002-7623-6146

Храмцова Екатерина Вадимовна — м. н. с., сектор поиска природных соединений, преодолевающих устойчивость бактерий, Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе», Москва, Россия. ORCID ID: 0009-0005-1604-4352

Макарова Марина Олеговна — м. н. с., лаборатория мутагенеза и селекции продуцентов биологически активных продуцентов Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе», Москва, Россия

Ефременкова Ольга Владимировна — к. б. н., зав. сектором, сектор поиска природных соединений, преодолевающих устойчивость бактерий, Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе», Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0003-3131-1031

About the authors

Irina A. Malanicheva — Senior Researcher worker, Sector for Searching for Natural Compounds that Overcome Bacterial Resistance, Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0002-7623-6146

Ekaterina V. Khramtsova — Junior Researcher, Sector for Searching for Natural Compounds that Overcome Bacterial Resistance, Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, Russia. ORCID ID: 0009-0005-1604-4352

Marina O. Makarova — Engineer, Laboratory of Mutagenesis and Selection of Biologically Active Substance Producers, Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, Russia

Olga V. Efremenkova — Ph. D. in Biology, Head of the Sector, Sector for Searching for Natural Compounds that Overcome Bacterial Resistance, Gause Institute of New Antibiotics Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0003-3131-1031

Антимикробная активность экстрактов *Stereum hirsutum* в зависимости от состава питательной среды

М. Ю. ЗИАНГИРОВА, М. И. ЛЕОНТЬЕВА, *В. С. ЛЫСАКОВА,
А. В. АВТОНОМОВА, Е. Б. ИСАКОВА, Л. М. КРАСНОПОЛЬСКАЯ

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе», Москва, Россия

Резюме

Актуальность. Поиск новых антимикробных соединений остаётся критически важной задачей в связи с растущей антибиотикорезистентностью. Важным ресурсом для отбора продуцентов метаболитов с целевой активностью являются базидиомицеты, метаболический профиль которых существенно зависит от условий культивирования. *Stereum hirsutum* известен способностью синтезировать антимикробные вещества, однако зависимость его биосинтетической активности от условий культивирования изучена недостаточно. **Цель.** Изучить влияние состава питательной среды на рост биомассы и антимикробную активность экстрактов культуральной жидкости и мицелия базидиомицеты *S. hirsutum*. **Материал и методы.** Погружённое культивирование штамма *S. hirsutum* 1 на шести средах с различными источниками углерода (глюкоза, меласса, глицерин) и азота (дрожжевой экстракт, пептон). Получение этилацетатных экстрактов культуральной жидкости и этанольных экстрактов мицелия. Оценка антибактериальной активности методом серийных разведений в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий для определения минимальной подавляющей концентрации. Оценка антифунгальной активности диффузионным методом в агар. **Результаты.** Состав среды существенно влиял на накопление биомассы (от 3,6 до 15,45 г/л) и выход экстрактов (от 40,5 до 184,5 мг/л). Наибольшая антибактериальная активность выявлена у экстракта, полученного на среде с глюкозой и дрожжевым экстрактом, его МПК в отношении *Staphylococcus haemolyticus* 585 составила 320 мкг/мл. Экстракты проявили антифунгальную активность в отношении *Candida albicans*, *Candida auris*, *Aspergillus brasiliensis* и других клинически значимых грибов-патогенов. **Заключение.** Качественный состав питательной среды позволяет направленно регулировать антимикробную активность экстрактов *S. hirsutum*. Для получения экстрактов с высокой антибактериальной и антифунгальной активностями целесообразно использовать в качестве источников углерода и азота глюкозу и дрожжевой экстракт соответственно. Среда с мелассой обеспечивает наибольший выход погружённой биомассы. Полученные результаты являются основой для разработки биотехнологии получения антимикробных препаратов на основе метаболитов *S. hirsutum*.

Ключевые слова: базидиомицеты; экстракт культуральной жидкости; экстракт мицелия; антибактериальная активность; антифунгальная активность; *Stereum hirsutum*

Для цитирования: Зянгилова М. Ю., Леонтьева М. И., Лысакова В. С., Автономова А. В., Исакова Е. Б., Краснополянская Л. М. Антимикробная активность экстрактов *Stereum hirsutum* в зависимости от состава питательной среды. *Антибиотики и химиотерапия*. 2025; 70 (7–8): 10–18. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2025-70-7-8-10-18>. EDN: NUIEZC.

Antimicrobial Activity of *Stereum hirsutum* Extracts Depending on the Nutrient Medium Composition

MAYYA YU. ZIANGIROVA, MARIA I. LEONTEVA, *VALERIA S. LYSAKOVA,
ANASTASIA V. AVTONOMOVA, ELENA B. ISAKOVA, LARISSA M. KRASNOPOLSKAYA

Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, Russia

Abstract

Background. The search for new antimicrobial compounds remains critically important due to growing antibiotic resistance. Basidiomycetes represent an important resource for selecting producers of metabolites with targeted activity, as their metabolic profile is highly dependent on cultivation conditions. *Stereum hirsutum* is known for its ability to synthesize antimicrobial substances; however, the dependence of its biosynthetic activity on cultivation conditions has been insufficiently studied. **The aim of the work.** To study the effect of the nutrient medium composition on the biomass growth and antimicrobial activity of culture liquid and mycelial extracts of the basidiomycete *S. hirsutum*. **Material and methods.** Submerged cultivation of the *S. hirsutum* 1 strain on six media with different carbon (glucose, molasses, glycerol) and nitrogen (yeast extract, peptone) sources. Preparation of ethyl acetate extracts from the culture liquid and ethanol extracts from the mycelium. Preparation of ethyl acetate extracts from the culture liquid and ethanol extracts from the mycelium. Antibacterial activity was assessed using the broth microdilution method against Gram-positive and Gram-negative bacteria to determine the minimum inhibitory

*Адрес для корреспонденции:
E-mail: valera.lisackowa@yandex.ru



*Correspondence to:
E-mail: valera.lisackowa@yandex.ru



concentration (MIC). Antifungal activity was evaluated by the agar diffusion method. **Results.** Medium composition significantly affected biomass accumulation (ranging from 3.6 to 15.45 g/L) and extract yields (ranging from 40.5 to 184.5 mg/L). The highest antibacterial activity was observed in the extract obtained on the medium with glucose and yeast extract, showing an MIC of 320 µg/mL against *Staphylococcus haemolyticus* 585. The extracts demonstrated antifungal activity against *Candida albicans*, *Candida auris*, *Aspergillus brasiliensis*, as well as other clinically significant pathogenic fungi. **Conclusion.** The qualitative composition of the nutrient medium allows for the targeted regulation of the antimicrobial activity of *S. hirsutum* extracts. To obtain extracts with high antibacterial and antifungal activity, it is advisable to use glucose and yeast extract as the carbon and nitrogen sources, respectively. Media with molasses provide the highest yield of submerged biomass. The obtained results provide the basis for the development of biotechnology for producing antimicrobial preparations based on *S. hirsutum* metabolites.

Keywords: basidiomycetes; culture liquid extract; mycelial extract; antibacterial activity; antifungal activity; *Stereum hirsutum*

For citation: Ziangirova M. Yu., Leonteva M. I., Lysakova V. S., Avtonomova A. V., Isakova E. B., Krasnopol'skaya L. M. Antimicrobial activity of *Stereum hirsutum* extracts depending on the nutrient medium composition. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2025; 70 (7–8): 10–18. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2025-70-7-8-10-18>. EDN: NUIEZC. (in Russian)

Введение

Поиск активных антимикробных метаболитов и их продуцентов остаётся важным аспектом современной науки в условиях растущей антимикробной резистентности [1]. Природные молекулы могут проявлять высокую биологическую активность, а также служить основой для химической модификации, позволяя получать полусинтетические аналоги с улучшенными фармакологическими свойствами. Важным ресурсом для отбора продуцентов метаболитов с антимикробной активностью являются базидиомицеты, метаболитный профиль которых существенно зависит от условий культивирования.

Одним из наиболее значимых соединений, выделенных из базидиомицетов, является плевромутилин, полученный из видов *Clitopilus* и *Omphalina* и высокоактивный в отношении грамположительных бактерий [2, 3]. Первый системный антибиотик класса плевромутилинов, лефамулин, был одобрен для лечения внебольничной бактериальной пневмонии [4].

Представители рода *Stereum* известны способностью продуцировать разнообразные биологически активные соединения, включая вещества с противоопухолевыми, гепатопротекторными, цитотоксическими, антипаразитарными и антимикробными свойствами [5]. *Stereum hirsutum* (стереем жестковолосистый) — широко распространённый несъедобный гриб из порядка руссуловых, произрастающий как на мёртвой, так и на ослабленной живой древесине. Плодовые тела однолетние, окрашенные в серые, охристые и жёлтые тона с оранжевым краем.

Известны результаты изучения как экстрактов, так и индивидуальных метаболитов этого вида. Из *S. hirsutum* выделены биологически активные сесквитерпеноиды, в том числе проявляющие антимикробные свойства. Хирсутенолы А–С, выделенные из культуральной жидкости, показали активность в отношении грамотрицательной бактерии *Escherichia coli* [6]. Стереумамиды А, D и стеростерин Q, также выделенные из культуральной жидкости, обладали антибактериальной

активностью против грамположительных и грамотрицательных бактерий. Стереумамиды А и D показали значения минимальной подавляющей концентрации (МПК) 12,5 мкг/мл в отношении *E. coli* и *Staphylococcus aureus*, в то время как для стеростерина Q характерны более высокие значения МПК [7].

Из мицелия *S. hirsutum* были выделены производные поликетидов: 2,4-дигидрокси-6-метилбензоат и 4'-гидрокси-6-(3"-метил-2"-бутенил)-фенил-2,4-дигидрокси-6-метилбензоат, проявляющие одинаковую активность в отношении *S. aureus* с МПК 25 мкг/мл [8]. Стеренин D проявлял в отношении *Botrytis cinerea* фунгистатическую активность в концентрации 20 мкг/мл и фунгицидную — 50 мкг/мл [9]. Эпидоксистеролы 1 и 2, стерольные соединения, выделенные из плодовых тел, показали активность в отношении *Mycobacterium tuberculosis* с МПК 16 мкг/мл [10].

Поскольку в литературе отсутствует информация о зависимости биосинтетической активности *S. hirsutum* от условий культивирования, целью настоящей работы явилось изучение влияния состава питательной среды на антимикробную активность экстрактов культуральной жидкости и погружённого мицелия базидиомицета *S. hirsutum*.

Задачами исследования было проведение погружённого культивирования штамма *S. hirsutum* 1 на средах с различными сочетаниями источников углерода и азота; оценка выхода биомассы и получение экстрактов из культуральной жидкости и мицелия; определение антибактериальной активности полученных экстрактов культуральной жидкости в отношении клинически значимых грамположительных и грамотрицательных бактерий; оценка антифунгальной активности экстрактов культуральной жидкости и мицелия; выявление условий культивирования для увеличения антимикробной активности экстрактов.

Материал и методы

Объект исследования и условия культивирования. В работе использовали штамм базидиомицета *S. hirsutum* 1 из коллекции лаборатории ББАС ФГБНУ «НИИНА». Видовая при-

надлежность подтверждена секвенированием ITS1 и ITS2 участков по Сэнгеру, GenBank № PV918712.

Штамм *S. hirsutum* 1 выращивали на картофельно-глюкозном агаре (КГА) в термостате при 26°C до полного освоения культурой поверхности питательного среды. Хранение осуществляли в холодильниках при 4°C. Погружённое культивирование проводили в два этапа согласно методикам, описанным в работах [11, 12]. Посевной мицелий выращивали в течение 6 сут на среде [11] следующего состава (г/л): глюкоза — 20, пептон — 10, соевая мука — 10, KH_2PO_4 — 2,5, MgSO_4 — 0,25. Для этапа ферментации использовали шесть опытных сред, различающихся источником углерода и азота (табл. 1). Минеральная основа для всех сред включала KH_2PO_4 — 2,5 г/л, MgSO_4 — 0,25 г/л. Значение pH всех сред до стерилизации составляло 6,1. Все среды стерилизовали при 0,25 доб. атм. в течение 20 мин.

Погружённое культивирование осуществляли в 750 мл колбах Эрленмейера, содержащих 100 мл среды, на орбитальном большегрузном шейкере Infors RC-406 (200 об./мин, 25°C). Инокулом вносили в количестве 10%. Продолжительность ферментации составляла до 8 сут. Полученный мицелий отделяли от культуральной жидкости фильтрованием через лавсановую ткань, замораживали при -49°C, а затем лиофильно высушивали (лиофильная сушилка ЛС-500, ООО «Проинтех», Россия). Выход биомассы определяли гравиметрическим методом. Значение pH культуральной жидкости измеряли потенциометрически с помощью pH-метра PHS-3C.

Получение экстрактов. Экстракцию культуральной жидкости проводили однократно этилацетатом (АО «БЕКТОН», Россия) в соотношении 1:1. Лيوфилизированную биомассу измельчали с помощью ступки и пестика и экстрагировали 96% этанолом в соотношении 1 г/10 мл в течение 15 мин на магнитной мешалке при комнатной температуре. Все полученные экстракты упаривали на ротонном испарителе KnF RC600 (KNE, Германия) при 40 °C. Выход экстрактов определяли гравиметрически.

Определение минимальной подавляющей концентрации (МПК). Для определения антибактериальной активности полученных экстрактов были использованы штаммы тест-организмов из коллекции ФГБНУ НИИНА: грамположительные бактерии — *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* 10, *Staphylococcus epidermidis* 533, *Staphylococcus haemolyticus* 585, *Enterococcus faecium* 569; грамотрицательные бактерии — *Acinetobacter baumannii* ATCC 5696, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Salmonella choleraesuis* ATCC 14028, *Proteus vulgaris* ATCC 13315.

Антибактериальную активность экстрактов оценивали путём определения их МПК микрометодом серийных разведений, согласно рекомендациям CLSI [13]. Стоковые растворы экстрактов готовили в 5% растворе диметилсульфоксида (ДМСО, АО «БЕКТОН», Россия) до концентрации 10 мг/мл. В качестве контроля использовали левофлоксацин («Белмедпрепараты РУП», Беларусь).

Для культивирования *Staphylococcus* spp., *A. baumannii*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. choleraesuis*, *P. vulgaris* использовали готовую сухую среду — триптиказо-соевый агар (Trypticase Soy Agar, BBL). Для культивирования *Enterococcus* spp. использовали готовую сухую среду — колумбийский агар (Columbia

Agar Base, BBL). Среды стерилизовали автоклавированием при 121°C в течение 15 мин.

Суточные культуры ресуспендировали в изотоническом растворе до плотности 0,5 по стандарту МакФарланда ($1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл), затем разводили бульоном Мюллера-Хинтона (Acumedia, Baltimore, США) до 5×10^5 КОЕ/мл. В 96-луночные планшеты вносили по 100 мкл бульона, после чего готовили серийные разведения: в первую лунку добавляли экстракт в начальной концентрации 2560 мкг/мл или левофлоксацин 32 мкг/мл, затем последовательно переносили по 100 мкл в следующие лунки, получая двухкратные разведения до 10 мкг/мл для экстрактов и до 0,25 мкг/мл для левофлоксацина. После добавления 100 мкл бактериальной суспензии (конечное разведение 1:2) планшеты инкубировали при 36°C в течение 24 ч.

МПК регистрировали как минимальную концентрацию, полностью подавляющую визуально определяемый рост бактерий. Контроль включал чистоту сред и рост микроорганизмов без экстрактов. Воспроизводимость результатов подтверждалась тремя независимыми экспериментами с допустимым отклонением в одно разведение.

Световая микроскопия. Микроскопию погружённого мицелия, полученного в результате культивирования, проводили на стереоскопическом микроскопе (Микромед MC3 Zoom LED, Россия) с увеличением $\times 50$.

Определение антифунгальной активности. Антифунгальную активность экстрактов оценивали диффузионным методом из лунок в агар. В качестве тест-объектов использовали следующие штаммы мицелиальных грибов и дрожжей: *Candida albicans* MBC2D-098, *Candidozyma auris* 124/263, *Fusarium* spp. 1222, *Mucor racemosus* 1, *Rhizopus* spp. 12/2, *Syncephalastrum racemosum* 765, *Penicillium commune* MHF235, *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, *Aspergillus fumigatus* 6, *Nannizzia gypsea* 343 (ранее *Microsporium gypseum*).

Тест-культуры выращивали на чашках Петри со средой Сабуро. Суспензию грибов — тест-объектов бактериологической петлём вносили в стерильный изотонический раствор и доводили до значения 5 по стандарту мутности МакФарланда, измерения проводили на денситометре DEN-1 (BioSan, Латвия). Затем суспензию добавляли в охлаждённую до (40±2)°C агаризованную среду Сабуро в соотношении 1:20 (суспензия : среда) и разливали в чашки Петри из расчёта 20 мл среды на чашку.

В плотной среде с засеянными микроорганизмами формировали лунки диаметром 7 мм. Сухие экстракты ресуспендировали в 25% этаноле. В каждую лунку вносили по 100 мкл полученного раствора экстракта. Чашки инкубировали при (27±1)°C. Оценивали наличие зоны подавления роста тест-объекта и её величину в мм через 24 ч для *C. albicans* MBC2D-098, *C. auris* 124/263, *P. commune*, *M. racemosus* 1, *Rhizopus* spp. 12/2, *S. racemosum* 765, через 48 ч для *A. brasiliensis* ATCC 16404, *A. fumigatus* 6, *N. gypsea* 343.

Статистический анализ. Все эксперименты по культивированию *S. hirsutum* 1 проводили в двух биологических повторностях. Результаты представлены как среднее значение и стандартное отклонение. Обработка результатов исследования проводилась при помощи пакета программ Microsoft Excel.

Таблица 1. Источники углерода и азота в жидких питательных средах

Table 1. Carbon and nitrogen sources of liquid nutrient media

№ среды	Источник углерода	Источник азота
1	Глюкоза, 20 г/л	Дрожжевой экстракт, 10 г/л + пептон, 2 г/л
2	Глюкоза, 20 г/л	Дрожжевой экстракт, 12 г/л
3	Меласса, 30 г/л	Дрожжевой экстракт, 10 г/л + пептон, 2 г/л
4	Меласса, 30 г/л	Дрожжевой экстракт, 12 г/л
5	Глицерин, 20 г/л	Дрожжевой экстракт, 10 г/л + пептон, 2 г/л
6	Глицерин, 20 г/л	Дрожжевой экстракт, 12 г/л

Результаты и обсуждение

Влияние состава среды на рост биомассы и выход экстрактов. В процессе культивирования мицелий *S. hirsutum* 1 формировал рыхлые пеллеты преимущественно округлой формы с многочисленными отростками (рис. 1). Диаметр пеллет варьировал от 2 до 10 мм и зависел от состава питательной среды. На некоторых средах наблюдали объединение отдельных пеллет за счёт контакта отростков, что приводило к образованию конгломератов. Наблюдаемые различия морфологии пеллет в зависимости от состава сред указывали на сложный характер адаптации штамма к условиям культивирования.

Первоначально был изучен процесс роста штамма *S. hirsutum* 1 на ферментационной среде № 1, используемой при проведении скрининга культур базидиомицетов — продуцентов антимикробных метаболитов [12]. Максимальный выход биомассы, составивший $12,45 \pm 0,05$ г/л, наблюдали на 7-е сутки культивирования. В процессе выращивания отмечали постепенное повышение pH культуральной жидкости от 3,91 до 5,55 (табл. 2, рис. 2).

Для направленного синтеза биологически активных метаболитов штамм культивировали на шести опытных средах, различающихся источником углерода (глюкоза, меласса, глицерин) и азота (дрожжевой экстракт; дрожжевой экстракт+пептон). Полученные результаты (табл. 3, рис. 3) демонстрируют существенную зависимость накопления биомассы и выхода экстрактов от состава среды. Наибольший выход биомассы ($15,45 \pm 0,45$ г/л) был достигнут на среде № 3, содержащей мелассу в качестве источника углерода, которая, помимо сахарозы, включает микрорезлементы и факторы роста, стимулирующие развитие мицелия. Напротив, среды на основе глицерина (№ 5 и № 6) показали наименьшую продуктивность по биомассе (3,6 и 4,05 г/л), что

Таблица 2. Характеристики погружённого культивирования *S. hirsutum* 1 на среде № 1

Table 2. Submerged-cultivation characteristics of *S. hirsutum* 1 on medium No. 1

Сутки культивирования	Выход сухой биомассы, г/л	pH культуральной жидкости
4	$7,75 \pm 0,55$	$3,91 \pm 0,01$
5	$10,4 \pm 0,3$	$4,4 \pm 0,06$
6	$11,1 \pm 0,5$	$5,34 \pm 0,05$
7	$12,45 \pm 0,05$	$5,55 \pm 0,09$
8	$10,65 \pm 0,25$	$5,54 \pm 0,01$

Таблица 3. Характеристики погружённого культивирования *S. hirsutum* 1 на средах с различными источниками углерода и азота

Table 3. Submerged-cultivation characteristics of *S. hirsutum* 1 on media with different carbon and nitrogen sources

№ среды	Состав среды	Выход биомассы, г/л	pH	Выход экстракта, мг/л
1	Глюкоза + пептон + дрожжевой экстракт	$11,75 \pm 0,95$	$4,48 \pm 0,06$	116,5
2	Глюкоза + дрожжевой экстракт	$13,15 \pm 0,75$	$4,07 \pm 0,1$	40,5
3	Меласса + пептон + дрожжевой экстракт	$15,45 \pm 0,45$	$4,49 \pm 0,24$	154,0
4	Меласса + дрожжевой экстракт	$10,76 \pm 0,34$	$4,07 \pm 0,02$	163,0
5	глицерин + пептон + дрожжевой экстракт	$4,05 \pm 0,05$	$5,4 \pm 0,01$	122,0
6	Глицерин + дрожжевой экстракт	$3,6 \pm 0,1$	$5,45 \pm 0,03$	184,5

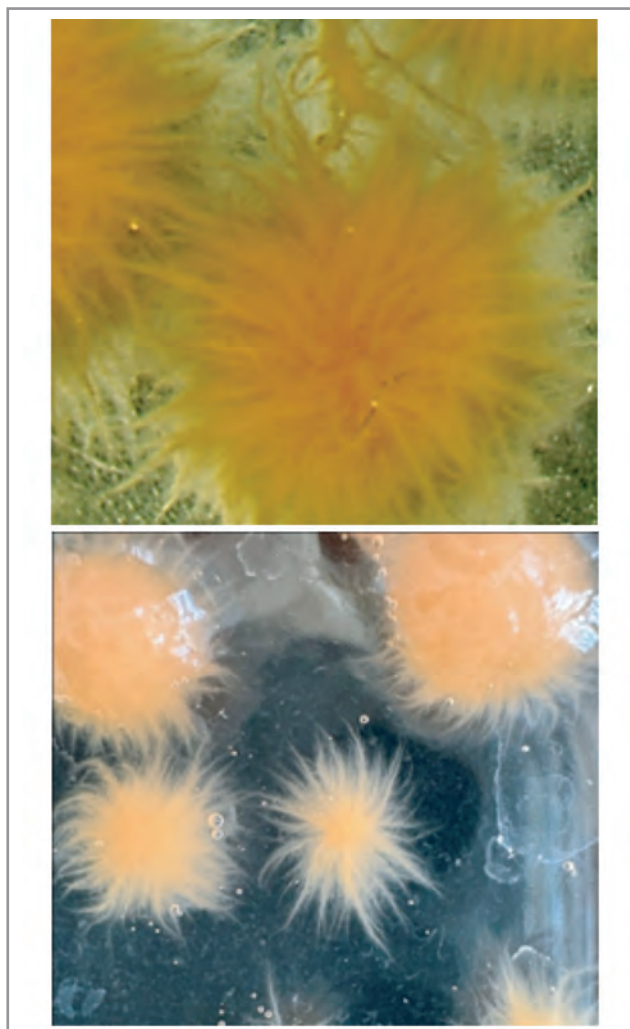


Рис. 1. Морфология пеллет *S. hirsutum* 1 при культивировании на среде № 1, увеличение $\times 50$.

Fig. 1. Morphology of *S. hirsutum* 1 pellets cultivated on medium No. 1, magnification $\times 50$.

может быть связано с его менее доступной формой в качестве углеродного субстрата для данного штамма.

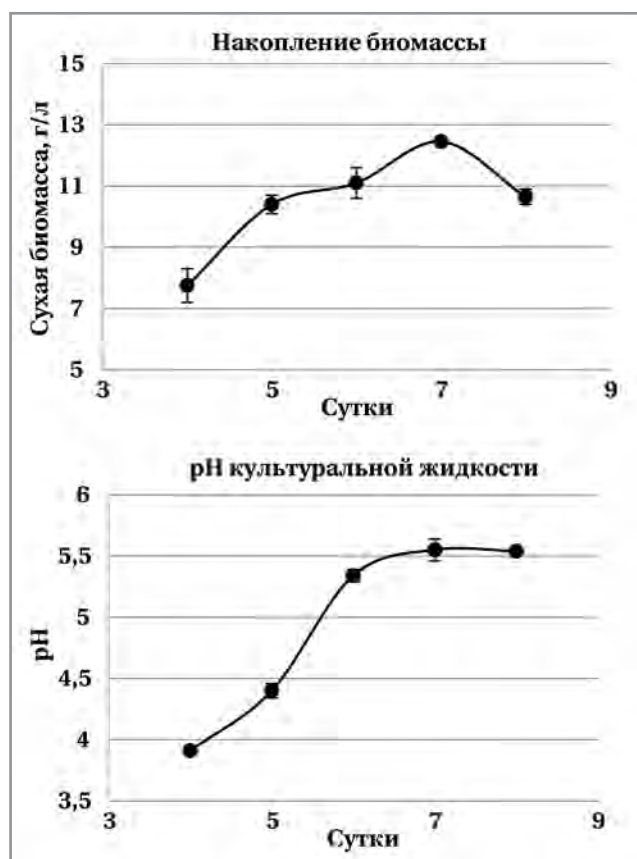


Рис. 2. Накопление биомассы *S. hirsutum* 1 и изменение pH культуральной жидкости на среде № 1.
Fig. 2. Biomass accumulation of *S. hirsutum* 1 and changes in culture liquid pH on medium No. 1.

Выход экстрактов культуральной жидкости варьировал от 40,5 до 184,5 мг/л. Максимальный выход экстракта был зафиксирован на среде № 6 (глицерин+дрожжевой экстракт), несмотря на низкий выход биомассы. Это позволяет предположить, что глицерин плохо усваивается в качестве ростового субстрата и выступает индуктором вторичного метаболизма, перенаправляя ресурсы клетки с пролиферации на синтез биологически активных соединений в условиях стресса [7, 14].

Антибактериальная активность экстрактов погружённой культуры *S. hirsutum* и её зависимость от условий культивирования. В проведённых экспериментах не было обнаружено антибактериальной активности экстрактов погружённого мицелия *S. hirsutum* 1. Антибактериальная активность экстрактов культуральной жидкости существенно варьировала в зависимости от состава питательной среды (табл. 4), что подтверждает гипотезу о возможности направленной регуляции биосинтеза антимикробных метаболитов. Наибольшую активность проявил экстракт, полученный на среде № 2 (глюкоза+дрожжевой экстракт), показав наименьшую МПК в отношении *S. haemolyticus* 585 (320 мкг/мл) и широкий спектр

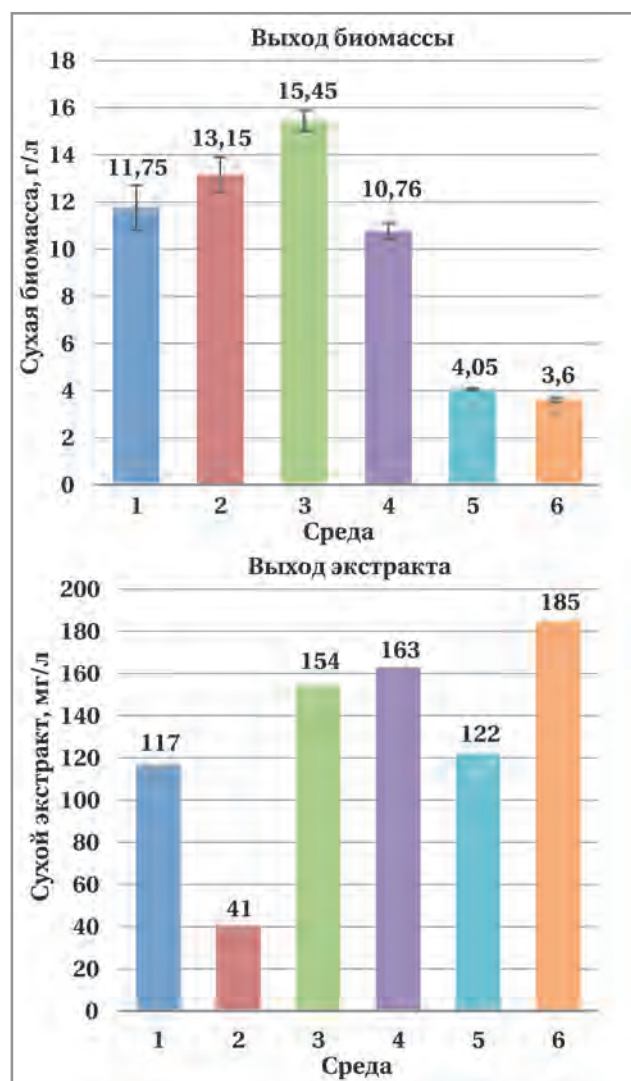


Рис. 3. Влияния различных источников углерода и азота на выход погружённой биомассы и экстрактов культуральной жидкости *S. hirsutum* 1.
Fig. 3. Effect of different carbon and nitrogen sources on the yield of submerged biomass and culture liquid extracts from *S. hirsutum* 1.

действия. Высокая антибактериальная активность не всегда коррелировала с высоким выходом экстракта, что указывает на качественное различие метаболитов в составе экстрактов культуральных жидкостей, полученных на средах с разными источниками питания. Примером таких различий служит сравнение экстрактов культуральных жидкостей сред № 2 и № 6. Экстракты, полученные на средах №№ 1 и 3–5, демонстрировали более узкий спектр и меньшую выраженность активности.

Были определены МПК экстрактов культуральных жидкостей *S. hirsutum* 1, полученные на 5–8-е сутки культивирования на среде № 2 (табл. 5, рис. 4, 5) в отношении самой чувствительной для этих экстрактов бактерии *S. haemolyticus* 585. Наименьшие значения МПК (320 мкг/мл) были зафик-

Таблица 4. МПК экстрактов культуральной жидкости *S. hirsutum* 1 в отношении Гр+ и Гр– микроорганизмов
Table 4. MIC of *S. hirsutum* 1 culture liquid extracts against Gram-positive and Gram-negative microorganisms

№ среды	Минимальная подавляющая концентрация (МПК), мкг/мл									
	Гр+ бактерии					Гр- бактерии				
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>S. aureus</i> 10	<i>S. epidermidis</i> 533	<i>S. haemolyticus</i> 585	<i>E. faecium</i> 569	<i>A. baumannii</i> ATCC 5696	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>K. pneumoniae</i> ATCC 13883	<i>S. choleraesuis</i> ATCC 14028	<i>P. vulgaris</i> ATCC 13315
1	1280	1280	640	640	1280	1280	1280	1280	1280	640
2	>1280	640	640	320	640	640	640	1280	>1280	640
3	1280	>1280	1280	640	1280	1280	1280	1280	>1280	1280
4	1280	1280	640	640	640	640	1280	>1280	>1280	1280
5	1280	640	1280	640	640	1280	1280	1280	>1280	1280
6	>1280	>1280	1280	1280	1280	1280	1280	>1280	>1280	1280

Таблица 5. Характеристики погруженного культивирования *S. hirsutum* 1 на среде № 2
Table 5. Submerged-cultivation characteristics of *S. hirsutum* 1 on medium No. 2

Сутки культивирования	Выход сухой биомассы, г/л	pH культуральной жидкости
5	12,24±0,64	4,23±0,1
6	12,85±0,04	5,85±0,02
7	13,45±0,21	6,04±0,08
8	12,84±0,78	6,25±0,15

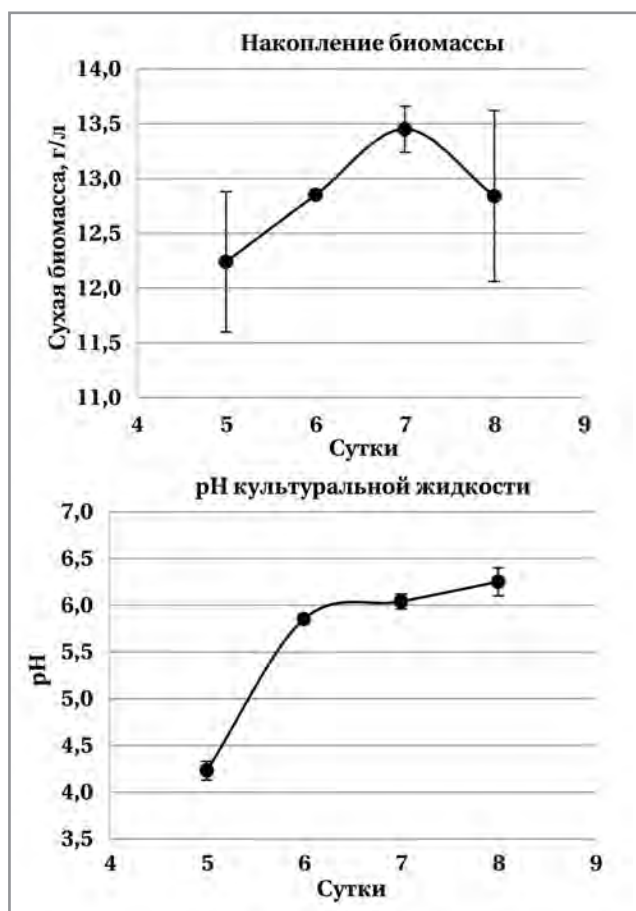


Рис. 4. Накопление биомассы *S. hirsutum* 1 и изменение pH культуральной жидкости в процессе погружённого культивирования на среде № 2.

Fig. 4. Biomass accumulation of *S. hirsutum* 1 and changes in culture liquid pH during submerged cultivation on medium No. 2.



Рис. 5. МПК экстрактов культуральной жидкости *S. hirsutum* 1, выращенном на среде № 2, в отношении *S. haemolyticus* 585.

Fig. 5. MIC of culture liquid extracts from *S. hirsutum* 1 grown on medium No. 2 in relation to *S. haemolyticus* 585.

сированы на 7–8-е сутки, что соответствует идиофазе. Это однозначно указывает на то, что синтез активных соединений является процессом вторичного метаболизма [5]. Полученные результаты также свидетельствуют о сокращении продолжительности культивирования до 7–8 суток по сравнению с более длительными сроками (20–28 дней), применяемыми в других исследованиях [7, 14] за счёт более эффективных условий выращивания продуцента.

Антифунгальная активность экстрактов. Экстракты культуральной жидкости и мицелия, полученные из культуры *S. hirsutum* 1, выращен-

Таблица 6. Антифунгальная активность экстрактов *S. hirsutum* 1, выращенном на среде № 2 на 7-е сутки
Table 6. Antifungal activity of *S. hirsutum* 1 extracts after 7-day cultivation on medium No. 2

Объект экстракции	Зоны подавления роста, мм										
	Концентрация экстракта, мг/мл	<i>C. albicans</i> MBC 2D098	<i>C. auris</i> 124/263	<i>Mucor racemosus</i> 1	<i>Rhizopus</i> spp. 12/2	<i>S. racemosus</i> 765	<i>P. commune</i> MHF 235	<i>A. brasiliensis</i> ATCC 16404	<i>A. fumigatus</i> 6	<i>Fusarium</i> spp. 1222	<i>N. gypsea</i> 343
Культуральная жидкость	18	15,0	11,5	0	0	12,5	16,5	32,5	0	14,5	20,0
Мицелий	40	0	0	0	0	14,0	19,0	36,0	14,0	26,0	0

ной на среде № 2 в течение 7 сут, проявили антифунгальную активность в отношении ряда патогенных и условно-патогенных грибов (табл. 6), среди которых были представители дрожжевых грибов, дерматофитов и мицелиальных грибов, вызывающих инвазивные микозы.

Экстракт культуральной жидкости *S. hirsutum* 1 обладал более широким спектром антифунгального действия, чем экстракт мицелия, и проявлял активность в отношении семи тест-объектов: фунгицидную активность в отношении дрожжевых грибов *C. albicans* MBC2D098 и *C. auris* 124/263, а также мицелиального гриба *Fusarium* spp. 1222 и фунгистатическую активность в отношении мицелиальных грибов *A. brasiliensis* ATCC16404, *P. commune* MHF 235, *S. racemosus* 765 и дерматофита *N. gypsea* 343. Экстракт мицелия продемонстрировал действие только в отношении мицелиальных грибов *A. brasiliensis* ATCC 16404, *A. fumigatus* 6, *P. commune* MHF 235, *N. gypsea* 343 и *S. racemosus* 765 (см. табл. 6).

Исходя из разницы в спектре антифунгального действия, можно предположить, что *S. hirsutum* 1 продуцирует более одного метаболита с антифунгальной активностью. Наибольшая активность как экстракта культуральной жидкости, так и экстракта мицелия была отмечена в отношении *A. brasiliensis* ATCC16404 (рис. 6). При этом в отношении другого вида из рода *Aspergillus* — *A. fumigatus* 6 — активность либо отсутствовала (у экстракта культуральной жидкости), либо была слабо выражена (у экстракта мицелия).

Представители рода *Aspergillus* разнообразны и в рамках систематики организованы в шесть подродов, которые в свою очередь делятся на секции, включающие виды *Aspergillus* [15]. Протестированные *A. brasiliensis* (секция Nigri) и *A. fumigatus* (секция Fumigati) относятся к разным клинически значимым секциям рода *Aspergillus*, обладающим различными характеристиками, в том числе по отношению к антимикробным средствам [15, 16]. Разная чувствительность представителей рода *As-*

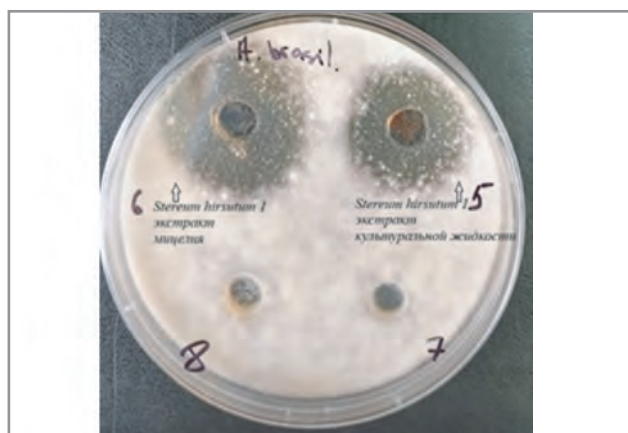


Рис. 6. Зоны подавления роста *A. brasiliensis* ATCC 16404 экстрактами мицелия *S. hirsutum* 1.

Fig. 6. Inhibition zones of *A. brasiliensis* ATCC 16404 growth by *S. hirsutum* 1 mycelial extracts.

pergillus к антифунгальным метаболитам *S. hirsutum* 1 может быть вызвана природной устойчивостью одного вида или же, напротив, повышенной восприимчивостью к метаболитам *S. hirsutum* 1 другого.

Общее обсуждение и перспективы. Проведённое исследование подтвердило исходную гипотезу о том, что состав питательной среды является мощным инструментом для управления не только ростом, но и направленным биосинтезом антимикробных метаболитов у *S. hirsutum* 1. Наиболее перспективными стратегиями являются использование глицерина для индукции синтеза большого количества метаболитов и оптимизация соотношения C:N на среде с глюкозой (среда № 2) для получения экстрактов с максимальной специфической антибактериальной активностью.

Полученные результаты имеют практическую значимость для разработки биотехнологии получения антимикробных препаратов на основе метаболитов *S. hirsutum*. Составы сред № 2 и № 6 могут быть использованы для погружённого культивирования продуцента с целью эффективного накопления антимикробных метаболитов

или биомассы *S. hirsutum* 1 соответственно. Перспективными направлениями будущих исследований являются выделение и установление структуры индивидуальных антимикробных соединений из активных экстрактов, изучение механизмов действия выявленных метаболитов, а также испытание активности очищенных соединений на более широкой панели клинических изолятов, включая полирезистентные штаммы микроорганизмов.

Ограничения исследования. Анализ проводили на уровне экстрактов, что явилось ограничением этого исследования. Для выделения и идентификации индивидуальных активных соединений, ответственных за выявленную активность, будут проведены дальнейшие исследования с применением хроматографических и спектроскопических методов (ВЭЖХ, МС, ЯМР).

Заключение

Проведённое исследование продемонстрировало значительное влияние состава питательной среды на рост биомассы и антимикробную активность экстрактов погружённой культуры *S. hirsutum* 1. Наибольший выход биомассы получали при культивировании продуцента на средах с углеводами в качестве источника углерода. Максимальный выход экстракта культуральной жидкости был отмечен на среде с глицерином и дрожжевым экстрактом, стабильно высокие выходы экстрактов культуральных жидкостей обеспечивали среды с мелассой. Образование антимикробных метаболитов зависело от сочетаний источников углерода и азота.

Наиболее высокая антимикробная активность у экстрактов культуральной жидкости и мицелия *S. hirsutum* 1 была зафиксирована при использовании для культивирования среды № 2 с глюкозой и дрожжевым экстрактом. МПК экстракта культуральной жидкости в отношении *S. haemolyticus* 585 была равна 320 мкг/мл. Этот экстракт обладал наибольшей шириной антибактериального спектра.

Экстракт культуральной жидкости *S. hirsutum* 1 (среда № 2) проявил активность в отношении как дрожжевых, так и мицелиальных грибов. Экстракт мицелия продуцента, выращенного на этой среде, был активен в отношении только мицелиальных культур. Наибольшая активность экстрактов как культуральной жидкости, так и мицелия была отмечена в отношении *A. brasiliensis* ATCC16404. Поскольку спектр антифунгального

действия экстракта культуральной жидкости и мицелия различался, можно предположить, что *S. hirsutum* 1 продуцирует более одного метаболита с антифунгальной активностью.

Полученные результаты создают необходимую базу для разработки эффективного биотехнологического способа направленного получения метаболитов *S. hirsutum* 1 с антибактериальной и антифунгальной активностями.

Дополнительная информация

Благодарности. Авторы выражают искреннюю благодарность Никите Сергеевичу Комиссарову (Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, биологический факультет) за предоставление штамма *S. hirsutum* и его передачу в коллекцию института, что сделало возможным проведение данного исследования.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Участие авторов. *Зиангирова М. Ю., Леонтьева М. И., Лысакова В. С., Автономова А. В.* — разработка схем исследования и выполнение экспериментальной части, написание текста; *Автономова А. В., Исакова Е. Б.* — разработка моделей для изучения антимикробной активности, анализ и интерпретация результатов; *Краснопольская Л. М.* — разработка структуры исследования, редактирование текста, финальное утверждение рукописи.

Additional Information

Acknowledgments. The authors express their sincere gratitude to Nikita Sergeevich Komissarov (Lomonosov Moscow State University, Faculty of Biology) for providing the *S. hirsutum* strain and transferring it to the institute's collection, which made this study possible.

Financing. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare that there is no conflict of interest related to the publication of this article.

Authors' participation. *Ziangirova M. Yu., Leonteva M. I., Lysakova V. S., Avtonomova A. V.* — research design, performing the experimental part, writing the text; *Avtonomova A. V., Isakova E. B.* — development of models for studying antimicrobial activity, analysis and interpretation of results; *Krasnopolskaya L. M.* — research concept development, text editing, final approval of the manuscript.

Литература/References

1. World Health Organization. Antimicrobial resistance fact sheet [Internet]. Geneva: WHO; 2023 [cited 2023 Nov 21]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
2. *Kavanagh E, Hervey A, Robbins W J.* Antibiotic substances from basidiomycetes: VIII. *Pleurotus multilus* (Fr.) Sacc. and *Pleurotus passeckerianus* Pilat. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1951; 37 (9): 570–574.
3. *Hartley A. J., De Mattos-Shingley K., Collins C. M., Kilaru S., Foster G. D., Bailey A. M.* Investigating pleuromutilin-producing *Clitopilus* species and related basidiomycetes. *FEMS Microbiol Lett.* 2009; 297 (1): 24–30. doi: 10.1111/j.1574-6968.2009.01656.x.
4. *Liu Y., Zhou Q., Huo Y., Sun X., Hu J.* Recent advances in developing modified C14 side chain pleuromutilins as novel antibacterial agents. *Eur J Med Chem.* 2024; 116313. doi: 10.1016/j.ejmech.2024.116313.
5. *Tian M., Zhao P., Li G., Zhang K.* In depth natural product discovery from the basidiomycetes *Stereum* species. *Microorganisms.* 2020; 8 (7): 1049. doi: 10.3390/microorganisms8071049.
6. *Yun B. S., Lee I. K., Cho Y., Cho S. M., Yoo I. D.* New tricyclic sesquiterpenes from the fermentation broth of *Stereum hirsutum*. *J Nat Prod.* 2002; 65 (5): 786–788. doi: 10.1021/np010602b.
7. *Duan Y. C., Feng J., Bai N., Li G. H., Zhang K. Q., Zhao P. J.* Four novel antibacterial sesquiterpene- α -amino acid quaternary ammonium hybrids from the mycelium of mushroom *Stereum hirsutum*. *Fitoterapia.* 2018; 128: 213–217. doi: 10.1016/j.fitote.2018.05.026.
8. *Ma K., Bao L., Han J., Jin T., Yang X., Zhao E. et al.* New benzoate derivatives and hirsutane type sesquiterpenoids with antimicrobial activity and cytotoxicity from the solid-state fermented rice by the medicinal mushroom *Stereum hirsutum*. *Food Chem.* 2014; 143: 239–245. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.07.124.
9. *Aqueveque P., Céspedes C. L., Becerra J., Aranda M., Sterner O.* Antifungal activities of secondary metabolites isolated from liquid fermentations of *Stereum hirsutum* (Sh134-11) against *Botrytis cinerea* (grey mould agent). *Food Chem Toxicol.* 2017; 109 (Pt 2): 1048–1054. doi: 10.1016/j.fct.2017.05.036.
10. *Cateni F, Doljak B, Zacchigna M., Anderluh M., Piltaver A., Scialino G. et al.* New biologically active epidioxysterols from *Stereum hirsutum*. *Bioorg Med Chem Lett.* 2007; 17 (22): 6330–6334. doi: 10.1016/j.bmcl.2007.08.072.
11. *Краснопольская Л. М., Белицкий И. В., Федорова Г. Б., Катруха Г. С.* *Pleurotus djamor*: методы культивирования и антимикробные свойства. Микология и фитопатология. 2001; 35 (1): 62–67. [*Krasnopol'skaya L. M., Belitsky I. V., Fedorova G. B., Katrukha G. S. Pleurotus djamor*: Cultivation Methods and Antimicrobial Properties. *Mikologiya i Fitopatologiya.* 2001; 35 (1): 62–67. (in Russian)]
12. *Лысакова В. С., Синева О. Н., Бычкова О. П., Краснопольская Л. М.* Скрининг антибактериальной и антифунгальной активности экстрактов базидиомицетов. Антибиотики и химиотер. 2024; 69 (1): 11–18. [*Lysakova V. S., Sineva O. N., Bychkova O. P., Krasnopol'skaya L. M.* Screening of Antibacterial and antifungal activities of basidiomycetes extracts. *Antibiot Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy.* 2024; 69 (1): 11–18. (in Russian)]
13. Clinical and Laboratory Standards Institute. M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 35th ed. Wayne, PA: CLSI; 2025. [cited 2025 Jan 27]. Available from: <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/>
14. *Zhao Z. Z., Zhang F., He H. J., Wang Y., Du J. H., Wang Z. Z. et al.* Stereuis A–F: Isopentenyl benzene congeners with antibacterial and neurotrophic activities from *Stereum hirsutum* HFG27. *Phytochemistry.* 2024; 228: 114253. doi: 10.1016/j.phytochem.2024.114253.
15. *Samson R. A., Visagie C. M., Houbbraken J., Hong S. B., Hubka V., Klaassen C. H. W. et al.* Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. *Stud Mycol.* 2014; 78: 141–173. doi: 10.1016/j.smyco.2014.07.004
16. *Lass-Flörl C., Cuenca-Estrella M.* Changes in the epidemiological landscape of invasive mould infections and disease. *J Antimicrob Chemother.* 2017; 72 (suppl_1): i5–i11. doi: 10.1093/jac/dkx028.

Поступила / Received 30.07.2025

Принята в печать / Accepted 08.08.2025

Информация об авторах

Зиангирова Майя Юрьевна — к. т. н., научный сотрудник лаборатории биосинтеза биологически активных веществ Научно-исследовательского института по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0002-9063-5928. eLIBRARY SPIN-код: 7804-5830

Леонтьева Мария Ильинична — инженер лаборатории биосинтеза биологически активных веществ Научно-исследовательского института по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0003-2213-8767. eLIBRARY SPIN-код: 7407-2770

Лысакова Валерия Сергеевна — младший научный сотрудник лаборатории биосинтеза биологически активных веществ Научно-исследовательского института по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе, Москва, Россия. ORCID ID: 0009-0000-3188-7386. eLIBRARY SPIN-код: 8319-5690

Автономова Анастасия Витальевна — к. б. н., старший научный сотрудник лаборатории биосинтеза биологически активных веществ Научно-исследовательского института по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0001-5098-5379. eLIBRARY SPIN-код: 4409-8108

Исакова Елена Борисовна — научный сотрудник лаборатории фармакологии и химиотерапии Научно-исследовательского института по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе, Москва, Россия. РИНЦ AuthorID: 171219

Краснопольская Лариса Михайловна — д. б. н., ведущий научный сотрудник, заведующая лабораторией биосинтеза биологически активных веществ Научно-исследовательского института по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0002-0391-0339. eLIBRARY SPIN-код: 7880-7074

About the authors

Mayya Yu. Ziangirova — Ph. D. in Engineering, Researcher at the Laboratory of Biosynthesis of Biologically Active Substances, Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0002-9063-5928. eLIBRARY SPIN-code: 7804-5830

Maria I. Leonteva — Engineer at the Laboratory of Biosynthesis of Biologically Active Substances, Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0003-2213-8767. eLIBRARY SPIN-code: 7407-2770

Valeria S. Lysakova — Junior Researcher at the Laboratory of Biosynthesis of Biologically Active Substances, Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, Russia. ORCID ID: 0009-0000-3188-7386. eLIBRARY SPIN-code: 8319-5690

Anastasia V. Avtonomova — Ph. D. in Biology, Senior Researcher at the Laboratory of Biosynthesis of Biologically Active Substances, Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0001-5098-5379. eLIBRARY SPIN-code: 4409-8108

Elena B. Isakova — Researcher at the Laboratory of Pharmacology and Chemotherapy, Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, Russia. RSCI AuthorID: 171219

Larissa M. Krasnopol'skaya — D. Sc. in Biology, Leading Researcher, Head of the Laboratory of Biosynthesis of Biologically Active Substances, Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0002-0391-0339. eLIBRARY SPIN-code: 7880-7074

Исследование противоопухолевой активности четырёх новых производных фенилпиразолотриазина *in vitro* при изучении цитотоксичности и цитостатичности на культурах клеток рака молочной железы

*А. Х. ХУМАИРИ^{1,2}, В. В. НОВОЧАДОВ³

¹ ФБУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет», Волгоград, Россия

² ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет», Томск, Россия

³ ФГАОУ ВО «Волгоградский государственный университет», Волгоград, Россия

Резюме

Актуальность. В работе представлены результаты изучения новых производных фенилпиразолотриазина с целью установления возможности их использования в качестве противоопухолевых средств, в том числе для химиотерапии рака молочной железы (РМЖ). Актуальность работы обусловлена широким распространением онкологических заболеваний и высокой смертностью от РМЖ, что диктует необходимость постоянной разработки новых противоопухолевых препаратов. **Цель исследования.** Скрининг противоопухолевого потенциала четырёх новых производных фенилпиразолотриазина путём тестирования их цитотоксической (ЦТА) и цитостатической (ЦСА) активности на культурах клеток РМЖ. **Материал и методы.** Культивирование клеток MCF-7, MDAMB231, BT474 и MCF-10a и определение ЦТА и ЦСА производных фенилпиразолотриазина в концентрациях от 0,25 до 10,0 ммоль/л. **Результаты.** Для культуры MCF-7 максимальное подавление выживаемости клеток (МПВ) препарата сравнения темозоломида было равно 2,44, а концентрация, вызывающая 50% гибель клеток (IC₅₀) — 6,81 мм/л, для других культур показатели ЦТА были несколько ниже. Фенилпиразолотриазин 3 продемонстрировал активность ниже темозоломида, IC₅₀ в большинстве достигнут не был. Это производное было классифицировано как соединение с низкой ЦТА и умеренной ЦСА. Фенилпиразолотриазины 1 и 4 проявили более высокую активность, чем у препарата сравнения, и были классифицированы как соединения с низкой или умеренной ЦТА и умеренной ЦСА. Наконец, фенилпиразолотриазин 2 с МПВ 3,70 и IC₅₀ 1,66 ммоль/л показал максимально высокие значения ЦТА и ЦСА. **Заключение.** По результатам исследования *in vitro* четыре новых производных фенилпиразолотриазина могут быть расположены по возрастанию совокупности ЦТА и ЦСА в порядке: фенилпиразолотриазин 3 < темозоломид < фенилпиразолотриазин 1, фенилпиразолотриазин 4 < фенилпиразолотриазин 2. Таким образом, 3-(3'-Фенил-4'-метоксикарбонил-изоксазолил)-7-(п-толил)пиразоло[5,1-с][1,2,4]-триазин (фенилпиразолотриазин 2) является безусловным лидером в протестированной серии новых производных имидазотриазина и рекомендуется для дальнейших доклинических исследований.

Ключевые слова: фенилпиразолотриазин; цитотоксическая активность; цитостатическая активность; рак молочной железы; клеточная линия MCF-7; клеточная линия MDAMB231; клеточная линия BT474; клеточная линия MCF-10a

Для цитирования: Хумаири А. Х., Новочадов В. В. Исследование противоопухолевой активности четырёх новых производных фенилпиразолотриазина *in vitro* при изучении цитотоксичности и цитостатичности на культурах клеток рака молочной железы. *Антибиотики и химиотер.* 2025; 70 (7–8): 19–27. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2025-70-7-8-19-27>. EDN: XNQQIZ.

Analysis of the Antitumor Activity of Four New Phenylpyrazolotriazine Derivatives *In Vitro* in a Cytotoxicity and Cytostatic Study on Breast Cancer Cell Cultures

*AHMED H. AL-HUMAIRI^{1,2}, VALERIY V. NOVOCHADOV²

¹ Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia

² National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia

³ Volgograd State University, Volgograd, Russia

*Адрес для корреспонденции:
E-mail: ahmed.h.mneahil@gmail.com



EDN: XNQQIZ

*Correspondence to:
E-mail: ahmed.h.mneahil@gmail.com



Abstract

Background. The work presents the results of a study of new phenylpyrazolotriazine derivatives in order to establish their potential use as anticancer agents, including for chemotherapy of metastatic breast cancer. The relevance of the work is due to the widespread prevalence of oncological diseases and high breast cancer mortality, which dictate the need for the continuous development of new antitumor drugs. **The aim of the study.** Screening of the antitumor potential of four new phenylpyrazolotriazine derivatives by testing their cytotoxic (CTA) and cytostatic (CSA) activity on breast cancer cell cultures. **Materials and methods.** The base methods used in this study are the culturing of MCF-7, MDAMB231, BT474, and MCF-10a cells, as well as determining the CTA and CSA activity of four new phenylpyrazolotriazine derivatives at concentrations from 0.25 to 10.0 mM/L. **Results.** For the MCF-7 culture, the maximum cell viability inhibition of the comparison drug temozolomide was equal to 2.44 and the concentration causing 50% cell death (IC_{50}) was 6.81 mM/L; for other cultures, CTA indicators were lower. Phenylpyrazolotriazine 3 demonstrated lower activity compared to temozolomide, IC_{50} was not achieved in most cases. This derivative has been classified as a compound with low CTA and moderate CSA. Phenylpyrazolotriazines 1 and 4 showed higher activity than the comparison drug and were classified as compounds with low or moderate CTA and moderate CSA. Finally, phenylpyrazolotriazine 2 with a maximum cell viability inhibition of 3.70 and IC_{50} of 1.66 mM/L showed the highest values of CTA and CSA. **Conclusion.** According to the results of the *in vitro* study, four new phenylpyrazolotriazine derivatives can be evaluated in ascending order of the CTA and CSA combination: phenylpyrazolotriazine 3 < temozolomide < phenylpyrazolotriazines 1 and 4 < phenylpyrazolotriazine 2. Thus, 3-(3'-Phenyl-4'-methoxycarbonyl-isoxazolyl)-7-(p-tolyl)-pyrazolo[5,1-c][1,2,4]triazine (phenylpyrazolotriazine 2) is the undisputed leader in the tested series of new imidazotriazine derivatives and is recommended for further preclinical trials.

Keywords: phenylpyrazolotriazine; cytotoxic activity; cytostatic activity; breast cancer; MCF-7 cell line; MDAMB231 cell line; BT474 cell line; MCF-10a cell line

For citation: Al-Humairi A. H., Novochadov V. V. Analysis of the antitumor activity of four new phenylpyrazolotriazine derivatives *in vitro* in a cytotoxicity and cytostatic study on breast cancer cell cultures. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2025; 70 (7–8): 19–27. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2025-70-7-8-19-27>. EDN: XNQQIZ. (in Russian)

Введение

Среди онкологических заболеваний рак молочной железы (РМЖ) занимает отдельное место, доминируя как по масштабам распространённости, смертности, так и выделяясь комплексом не только медицинских, но социальных и экономических задач, предъявляемых человечеству. В настоящий момент РМЖ составляет свыше 12% онкологической заболеваемости женщин, в мире от него ежегодно умирает почти 700 тыс. женщин [1–3]. Основой химиотерапии РМЖ по-прежнему остаются алкилирующие агенты, и они становятся методом выбора в лечении метастатических форм заболевания.

Среди множества мишеней воздействия алкилирующих агентов, к которым в клетках и межклеточном веществе относятся разнообразные белки, нуклеиновые кислоты, липиды, радикальной для противоопухолевых препаратов становится их способность атаковать атомы кислорода и азота пуриновых и пиримидиновых оснований с последующим разрывом информационной молекулы и прекращением транскрипции. Бифункциональные алкилирующие агенты за счёт образования межцепочечных перекрёстных связей вызывают наиболее серьёзные повреждения ДНК и РНК.

Разрывы одноцепочечных молекул, образующихся в период репликации ДНК и одноцепочечных молекул РНК, спонтанно или под влиянием эндонуклеаз, приводят к необратимой супрессии транскрипции и биосинтеза белка, что в итоге приводит клетки к гибели, тем более вероятной, чем больший пролиферативный потенциал они имеют. Наличие других мишеней алкилирования, таких как ферменты и транспортные белки мембран, предопределяет неизбежное повреждение

нормальных клеток организма и возникновение тяжёлых побочных эффектов [4–6].

Проблема химиотерапии РМЖ, как и большинства злокачественных новообразований человека, заключается в крайне высоком генетическом и морфологическом разнообразии вариантов опухоли [7, 8], а также в динамичности их трансформации, которая в том числе предопределяет формирование химиорезистентности. Это, собственно, и является ведущим посылом к постоянной разработке новых лекарственных средств для борьбы с этим заболеванием [9–11].

В последнее время мы изучаем широкий спектр потенциальных противоопухолевых препаратов на основе производных азолазинов. Наиболее известным из них является темозоломид, производное имидазотетразина [12]. К сожалению, на настоящий момент большинство опухолей резистентны к этому препарату [13]. Первым этапом отбора перспективных веществ для доклинических исследований является определение их цитотоксической (ЦТА) и цитостатической (ЦСА) активности на опухолевых и неопухолевых клетках эпителия молочной железы [14]. Следующим этапом становится отбор наиболее перспективных веществ, и здесь необходимо тщательно подходить к выбору нескольких наиболее подходящих клеточных линий [15].

В предыдущих исследованиях мы описали цитотоксическую и цитостатическую активность пяти новых производных имидазотетразина, — был выбран один лидер для дальнейшего исследования и пяти производных имидазотриазина — было выбрано одно производное для доклинических исследований в качестве противоопухолевого средства [16, 17]. Согласно публикациям

в области разработки лекарственных средств, не все химические соединения, показавшие эффективность в доклинических исследованиях, демонстрируют эффективность на пациентах в клинических исследованиях в связи с быстрым развитием опухолей.

Тем самым появляется необходимость синтезировать несколько групп из данного класса химических соединений, что и было осуществлено учёными Волгоградского государственного медицинского университета совместно с НИИ онкологии, НИИФиРМ им. Е. Д. Гольдберга Томского НИМЦ в рамках проекта по разработке противоопухолевого средства, обладающего цитотоксичным и цитостатичным механизмом действия, из класса алкилирующих агентов — представителей групп имидазотетразина, имидазотриазина и фенилпиразолотриазина. Настоящее исследование посвящено тестированию производных фенилпиразолотриазина, поскольку, по данным научной литературы, производные этой группы обладают более высокой токсичностью в отношении клеточных моделей по причине их нестабильности и потенциально имеют более оптимальные фармакокинетические характеристики, поэтому актуален синтез новых производных фенилпиразолотриазина со стабильным химическим составом и тестирование их эффективности против клеток РМЖ [18–20].

Цель исследования — оценить потенциал четырёх новых производных фенилпиразолотриазина в качестве возможных противоопухолевых препаратов путём изучения их ЦТА и ЦСА активности на линиях опухолевых и неопухолевых клеток эпителия молочной железы (для сведения: карциномы — опухоли из клеток эпителия, саркомы — клеток соединительной ткани).

Материал и методы

В работе исследовано четыре производных фенилпиразолотриазина: диэтиловый эфир 3-(3'-Фенил-4'-метоксикарбонил-изоксазолил)-7-фенилпиразоло [5,1-с][1,2,4] триазин (фенилпиразолотриазин 1); 3-(3'-Фенил-4'-метоксикарбонил-изоксазолил)-7-(п-толил) пиразоло [5,1-с][1,2,4] триазин (фенилпиразолотриазин 2); 3-(3'-Фенил-4'-метоксикарбонил-изоксазолил)-7-(п-метоксифенил)-пиразоло [5,1-с]-[1,2,4] триазин (фенилпиразолотриазин 3); 3-(3'-Фенил-4'-метоксикарбонил-изоксазолил)-7-(п-хлорфенил) пиразоло-[5,1-с][1,2,4] триазин (фенилпиразолотриазин 4). Синтез этих соединений был осуществлён на кафедре технологии органического синтеза Уральского федерального университета имени первого Президента России Б. Н. Ельцина, сотрудники которой любезно предоставили их для исследования [21, 22]. Темозоломид был использован в качестве препарата сравнения.

Исследование проводили на трёх линиях клеток РМЖ человека [15, 23]. MCF-7 — самая популярная линия клеток РМЖ, клетки люминального типа содержат рецепторы эстрогена и прогестерона, рецепторы HER2 отсутствуют. MDA-MB-231 — клетки тройного негативного РМЖ базального типа, эта линия является идеальной моделью для изучения новых препаратов в химиотерапии РМЖ. Клетки BT474 являются тройной по-

ложительной моделью люминального типа РМЖ с наиболее неблагоприятным клиническим прогнозом. Клетки линии MCF-10a являются нормальными и получены из люминального эпителия молочной железы человека. Эта линия используется в качестве контроля воздействия исследуемых веществ на здоровые ткани.

После размораживания клеток их дважды отмывали в растворе Хенкса, после чего центрифугировали 5 мин при 500 g и после ресуспензирования помещали во флаконы ёмкостью 10 мл по 10^6 клеток. Далее проводили культивирование в CO_2 -инкубаторе на среде Eagle MEM/DMEM с добавлением 1% глутамина, смеси антибиотиков (по 1% стрептомицина и пенициллина) и 10% эмбриональной телячьей сыворотки производства ПанЭко (Россия) при температуре 37°C до получения монослоя. По завершении культивирования среду удаляли, а клетки переводили в суспензию 0,25% раствором трипсин-ЭДТА, центрифугировали 5 мин при 500 g, вновь ресуспензировали в питательной среде и помещали на 96-луночные планшеты из расчёта 10^4 клеток на лунку.

Для определения ЦТА использовали классический метилтетразолиевый тест [24]. Исследуемые производные и препарат сравнения добавляли в лунки в конечных концентрациях 0,25; 1,0; 2,5; 5,0 и 10,0 мкмоль/л, использовали отрицательный контроль в виде 1% ДМСО и положительный контроль в виде 10% ДМСО. После проведения реакции проводили фотометрию на планшетном фотометре MARK (BioRad, США) и рассчитывали выживаемость клеток как отношение оптической плотности образца и контроля и максимальное подавление выживаемости клеток (МПВ) как отношение оптической плотности в контроле к минимальной оптической плотности в эксперименте. Концентрацию вещества, вызывающего 50% гибель клеток (IC_{50} , мкмоль/л) рассчитывали, используя программное обеспечение Origin (OriginLab Corporation, США).

Для определения ЦСА использовали аналогичный протокол, но для первоначального выращивания высевали в 96-луночные планшеты по 5000 клеток, общее время тестирования составляло 72 ч. Жизнеспособность клеток определяли как отношение оптической плотности в лунках с тестируемыми соединениями и в контрольных лунках.

Статистические методы. После исключения нормального характера распределения в тесте Шапиро–Уилка данные были представлены в виде медианы и квартилей (Me [$\text{Q1} \div \text{Q3}$]). Внутригрупповой сравнительный анализ проводился по критерию Краскела–Уоллиса, сравнение между группами — по критерию Манна–Уитни. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Для анализа использовался пакет программ Statistica 12.0 (Dell, США).

Результаты и обсуждение

Темозоломид снижал жизнеспособность клеток во всех используемых культурах дозозависимым образом, МПВ наблюдалось при концентрации 10,0 ммоль/л и составило 2,44 для линии MCF-7; 1,63 — для линии MDA-MB-231; 1,82 — для линии Bt-474 и 1,45 — для линии неопухолевых клеток MCF-10a.

Рассчитанный IC_{50} оказался равным 6,81 ммоль/л на культуре клеток MCF-7, в других случаях он превышал концентрацию в 10,0 ммоль/л. Жизнеспособность клеток после введения препарата во всех опухолевых культурах варьировала в пределах от 0,76–0,83 при концентрации 0,25 ммоль/л до 0,46–0,55 при концентрации 10,0 ммоль/л и оставалась на более высоком уровне в культуре MCF-10a. Таким образом, темозоломид продемонстрировал умеренную ЦТА и ЦСА в отношении

Таблица 1. Цитотоксическая и цитостатическая активность темозоломида
Table 1. Cytotoxic and cytostatic activity of temozolomide

Показатель	Клеточная линия			
	MCF-7	MDA-MB-231	Bt-474	MCF-10a
Минимальная выживаемость клеток (действующая концентрация, ммоль/л)	0,41*# [0,36÷0,45] (10,0)	0,61* [0,55÷0,68] (10,0)	0,55* [0,48÷0,61] (10,0)	0,69* [0,62÷0,75] (10,0)
Минимальная жизнеспособность клеток (действующая концентрация, ммоль/л)	0,55* [0,48÷0,60] (10,0)	0,54* [0,48÷0,60] (10,0)	0,46*# [0,39÷0,51] (10,0)	0,69 [0,62÷0,77] (10,0)

Примечание. Здесь и табл. 2–5: * — статистически значимые различия со значениями в контрольных образцах (принятых за единицу); # — различия между значениями в культурах опухолевых и неопухолевых клеток.

Note. Here and in Tables 2–5: * — the sign indicates statistically significant differences with the values in the control samples (taken as 1); # — the sign indicates differences between the values in the cultures of tumor and non-tumor cells.

Таблица 2. Цитотоксическая и цитостатическая активность фенилпиразолотриазина 1
Table 2. Cytotoxic and cytostatic activity of phenylpyrazolotriazine 1

Показатель	Клеточная линия			
	MCF-7	MDA-MB-231	Bt-474	MCF-10a
Минимальная выживаемость клеток (действующая концентрация, ммоль/л)	0,75* [0,68÷0,84] (5,0)	0,48*# [0,43÷0,54] (10,0)	0,37*# [0,32÷0,41] (10,0)	0,66* [0,59÷0,73] (5,0)
Минимальная жизнеспособность клеток (действующая концентрация, ммоль/л)	0,38*# [0,33÷0,42] (10,0)	0,37*# [0,33÷0,41] (10,0)	0,35*# [0,31÷0,40] (10,0)	0,57* [0,50÷0,63] (10,0)

опухолевых клеток и низкую активность — в отношении неопухолевых клеток (табл. 1).

Для фенилпиразолотриазина 1 не было отмечено ЦТА в культуре клеток MCF-7 до концентрации 5 мкмоль/л, когда регистрировали максимальное подавление, равное 1,34. В максимальной исследуемой дозе токсический эффект достоверно не проявлялся. Концентрация, при которой была отмечена гибель половины клеток (IC_{50}) прогнозировалась значительно выше 10 мкмоль/л. Итогом этой части исследования стало заключение об отсутствии ЦТА производного. МПВ клеток при исследовании фенилпиразолотриазина 1 было достигнуто при концентрации 10,0 мкмоль/л, и это в 1,45 раза превышало эффект препарата сравнения. Как итог, сделано заключение об умеренной ЦСА соединения в отношении опухолевых клеток линии MCF-7.

При исследовании фенилпиразолотриазина 1 был обнаружен достоверный эффект в отношении опухолевых клеток линии MDA-MB-231. МПВ составило 2,08 при концентрации, равной 10,0 мкмоль/л. IC_{50} составила 7,28 мкмоль/л. По итогам исследования фенилпиразолотриазин 1 был отнесён к веществам с умеренной цитотоксичностью в отношении клеток линии MDA-MB-231. Минимальная жизнеспособность клеток была достигнута при концентрации 10,0 мкмоль/л на уровне 0,37 от контроля, эффект дозозависимости присутствовал, что в итоге привело к заключению об умеренной ЦСА фенилпиразолотриазина 1 в отношении клеток линии MDA-MB-231.

Соединение демонстрировало умеренную ЦТА в диапазоне исследованных концентраций

в отношении линии клеток Bt-474: МПВ составило 2,71 при концентрациях 5,0 и 10 мкмоль/л, IC_{50} — 4,33 мкмоль/л. ЦСА находилась в пределах от 0,45 до 0,25 в зависимости от концентрации исследуемого соединения, что в целом расценено как высокая активность фенилпиразолотриазина 1 в отношении опухолевых клеток линии Bt-474.

ЦТА в отношении неопухолевых клеток линии MCF 10a на всём диапазоне исследованных концентраций была низкой. МПВ составило 1,52 при концентрации фенилпиразолотриазина 1, равной 5,0 мкмоль/л. Расчётная IC_{50} в исследуемом диапазоне концентрации не была достигнута, то есть была выше 10 мкмоль/л. ЦСА вещества, определённая по проценту жизнеспособных клеток в культуре находилась в пределах от 0,75 до 0,57 в зависимости концентрации, что в целом расценено как низкий ЦСА в отношении неопухолевых клеток линии MCF 10a (табл. 2).

Фенилпиразолотриазин 2 показал цитотоксичность в отношении культуры клеток MCF-7. МПВ составило 1,35 при концентрации 10 мкмоль/л, а расчётная IC_{50} — значительно выше 10 мкмоль/л. Как итог, было высказано заключение о низкой ЦТА этого соединения. Определение жизнеспособности клеток показало, что минимальное её значение наблюдается при концентрации 10,0 мкмоль/л, когда она в 2,12 раза ниже величины показателя при тестировании препарата сравнения, присутствуют признаки дозозависимости. Это расценено как высокая ЦСА фенилпиразолотриазина 2 в отношении культуры клеток MCF-7.

Производное продемонстрировало умеренный ЦТА в отношении клеток линии MDA-MB-231

Таблица 3. Цитотоксическая и цитостатическая активность фенилпиразолотриазина 2
Table 3. Cytotoxic and cytostatic activity of phenylpyrazolotrazine 2

Показатель	Клеточная линия			
	MCF-7	MDA-MB-231	Bt-474	MCF-10a
Минимальная выживаемость клеток (действующая концентрация, ммоль/л)	0,74* [0,67÷0,83] (10,0)	0,42*# [0,36÷0,48] (10,0)	0,27*# [0,22÷0,30] (10,0)	0,59* [0,52÷0,67] (10,0)
Минимальная жизнеспособность клеток (действующая концентрация, ммоль/л)	0,26* [0,22÷0,29] (10,0)	0,25* [0,22÷0,29] (10,0)	0,24* [0,21÷0,27] (10,0)	0,51* [0,44÷0,56] (10,0)

на всём диапазоне исследованных концентраций без признаков дозозависимости. МПВ составило 2,38 при концентрации фенилпиразолотриазина 2, равной 10,0 мкмоль/л. Расчётная IC_{50} в исследуемом диапазоне концентраций составила 5,10 мкмоль/л. Жизнеспособность клеток оказалась в 2,16 раза меньше, чем при аналогичном тестировании препарата сравнения, эффект дозозависимости был выраженным. По итогам исследования сделано заключение о высокой ЦСА фенилпиразолотриазина 2 в отношении клеток линии MDA-MB-231.

Фенилпиразолотриазин 2 в дозозависимой манере снижал выживаемость клеток Bt-474 во всём диапазоне исследованных концентраций. МПВ составило 3,70 при концентрациях 5,0 и 10 мкмоль/л, IC_{50} составила 1,66 мкмоль/л, что в итоге привело к заключению о высокой активности тестируемого соединения в отношении опухолевых клеток линии Bt-474. ЦСА вещества, определённая по проценту жизнеспособных клеток в культуре, находилась в пределах от 0,45 до 0,25 в зависимости от концентрации исследуемого соединения, что в целом расценено как высокая активность фенилпиразолотриазина 2 в отношении опухолевых клеток линии Bt-474.

Производное незначительно снижало жизнеспособность клеток линии MCF 10a с дозозависимым эффектом. МПВ составляло 1,69 при концентрации 10,0 мкмоль/л, концентрация половинного торможения IC_{50} в исследуемом диапазоне концентраций так и не была достигнута. Максимальное подавление жизнеспособности клеток при исследовании фенилпиразолотриазина 2 было достигнуто при концентрации 10,0 мкмоль/л, когда оно в 1,35 раза превышало величину показателя у препарата сравнения. Как итог, сделано заключение о низкой ЦТА и умеренной ЦСА соединения в отношении неопухолевых клеток линии MCF 10a (табл. 3).

При исследовании производного фенилпиразолотриазин 3 не было обнаружено цитотоксического эффекта в отношении линии опухолевых клеток MCF-7. МПВ составило 1,12 при концентрации фенилпиразолотриазина 3, равной 10,0 мкмоль/л. Концентрация половинного торможения IC_{50} лежала за пределами исследуемого диапазона концентраций. В тесте на жизнеспособность клеток

она дозозависимо снижалась от 0,74 при концентрации 0,25 мкмоль/л до 0,39 при концентрации 10,0 мкмоль/л. В итоге, фенилпиразолотриазин 3 был отнесён к веществам с отсутствием цитотоксичности, и умеренной ЦСА в отношении клеток линии MCF-7.

Производное 3 практически не снижало выживаемости клеток линии MDA-MB-231 в исследованном диапазоне концентраций, зависимость от дозы отсутствовала. МПВ было достигнуто при концентрации 5,0 мкмоль/л и составило всего 1,23. Соответственно, IC_{50} для фенилпиразолотриазина 3 лежала за пределами исследованного диапазона концентрации, то есть была ниже 10 мкмоль/л. Производное было отнесено к соединениям с крайне низкой ЦТА в отношении клеток линии MDA-MB-231. Минимальная жизнеспособность клеток была достигнута при концентрации 10,0 мкмоль/л, когда она была в 1,46 раза ниже, чем при аналогичной концентрации препарата сравнения. Эффект дозозависимости присутствовал, что в итоге привело к заключению об умеренной ЦСА производного в отношении клеток линии MDA-MB-231.

Фенилпиразолотриазин 3 вызывал снижение выживаемости клеток Bt-474 в исследованном диапазоне концентраций, с умеренно выраженным дозозависимым эффектом. МПВ составило 2,00 при концентрации 10,0 мкмоль/л, IC_{50} — 8,67 мкмоль/л. Определение жизнеспособности клеток показало, что минимальное её значение (0,36 от контроля) наблюдается при концентрации 10,0 мкмоль/л, присутствует эффект дозозависимости. Общее заключение: фенилпиразолотриазин 3 отнесён к соединениям с низкой ЦТА и умеренной ЦСА в отношении культуры клеток Bt-474.

Производное 3 незначительно снижало жизнеспособность неопухолевых клеток линии MCF 10a в исследованном диапазоне концентраций, не проявляя дозозависимый эффект. МПВ составляло 1,47 при концентрации 10,0 мкмоль/л, IC_{50} достигнута не была. Максимальное подавление жизнеспособности клеток для фенилпиразолотриазина 3 было достигнуто при концентрации 10,0 мкмоль/л, оно было сопоставимо с эффектом препарата сравнения. В итоге, сделано заключение об умеренной ЦТА и низкой ЦСА

Таблица 4. Цитотоксическая и цитостатическая активность фенилпиразолотриазина 3
Table 4. Cytotoxic and cytostatic activity of phenylpyrazolotriazine 3

Показатель	Клеточная линия			
	MCF-7	MDA-MB-231	Bt-474	MCF-10a
Минимальная выживаемость клеток (действующая концентрация, ммоль/л)	0,89 [#] [0,80÷1,00] (10,0)	0,81 [#] [0,72÷0,91] (5,0)	0,50 ^{*#} [0,44÷0,57] (10,0)	0,56 [*] [0,49÷0,62] (5,0)
Минимальная жизнеспособность клеток (действующая концентрация, ммоль/л)	0,39 ^{*#} [0,35÷0,44] (10,0)	0,37 ^{*#} [0,33÷0,41] (10,0)	0,36 ^{*#} [0,33÷0,40] (10,0)	0,75 [*] [0,68÷0,84] (10,0)

Таблица 5. Цитотоксическая и цитостатическая активность фенилпиразолотриазина 4
Table 5. Cytotoxic and cytostatic activity of phenylpyrazolotriazine 4

Показатель	Клеточная линия			
	MCF-7	MDA-MB-231	Bt-474	MCF-10a
Минимальная выживаемость клеток (действующая концентрация, ммоль/л)	0,56 ^{*#} [0,49÷0,62] (2,5)	0,60 ^{*#} [0,54÷0,67] (10,0)	0,37 ^{*#} [0,33÷0,41] (10,0)	0,77 [*] [0,68÷0,85] (10,0)
Минимальная жизнеспособность клеток (действующая концентрация, ммоль/л)	0,41 ^{*#} [0,35÷0,45] (10,0)	0,40 ^{*#} [0,35÷0,44] (10,0)	0,37 ^{*#} [0,34÷0,41] (10,0)	0,67 [*] [0,60÷0,75] (10,0)

соединения в отношении неопухолевых клеток линии MCF 10a (табл. 4).

Фенилпиразолотриазин 4, как показано в табл. 5, в изученном диапазоне концентраций снижал выживаемость опухолевых клеток линии MCF-7. МПВ составило 1,54 при концентрации 2,5 мкмоль/л, а расчётная концентрация половинного торможения IC₅₀ оказалась значительно выше 10 мкмоль/л. Как итог, было высказано заключение о низкой ЦТА этого соединения в отношении клеток линии MCF-7. Определение жизнеспособности клеток показало, что минимальное её значение наблюдается при концентрации 10,0 мкмоль/л, и оно при этом оказывается в 1,34 ниже, чем при действии препарата сравнения, активность тестируемого соединения зависит от дозы, что соответствует его умеренной ЦСА в отношении культуры опухолевых клеток MCF-7.

Производное снижало выживаемость клеток линии MDA-MB-231 во всём диапазоне исследуемых концентраций, дозозависимый эффект присутствовал. МПВ составляло 1,66 при концентрации 10,0 мкмоль/л, концентрация половинного торможения IC₅₀ в исследуемом диапазоне концентраций так и не была достигнута. Эффект соединения в отношении опухолевых клеток линии MDA-MB-231 был низкий. Процент жизнеспособных клеток в культуре находился в пределах от 0,88 до 0,40 с выраженной зависимостью от концентрации фенилпиразолотриазина 4, что в целом расценено как умеренный ЦСА в отношении клеток линии MDA-MB-231.

Фенилпиразолотриазин 4 продемонстрировал умеренную ЦТА в культуре клеток Bt-474 в дозозависимой манере с МПВ клеток, равным 2,70 при концентрации тестируемого соединения 10,0 мкмоль/л, IC₅₀ составила 4,45 мкмоль/л.

Определение жизнеспособности клеток показало, что минимальное её значение наблюдается при концентрации производного 10,0 мкмоль/л с ярко выраженной зависимостью «доза — эффект», это снижение по амплитуде в 1,24 раза больше, чем у препарата сравнения, что соответствует умеренной ЦСА соединения в отношении культуры клеток Bt-474.

Производное 4 незначительно снижало выживаемость неопухолевых клеток линии MCF 10a без признаков зависимости от концентрации. МПВ было достигнуто при концентрации 10,0 мкмоль/л и составило 1,29. Расчётная IC₅₀ не была достигнута. Соединение отнесено к веществам с низкой цитотоксичностью в отношении неопухолевых клеток линии MCF 10a. В тесте на ЦСА жизнеспособность клеток варьировала от 0,90 при концентрации 0,25 мкмоль/л до 0,67 при концентрации 10,0 мкмоль/л, дозозависимый эффект присутствовал. Общее заключение: низкая ЦТА и ЦСА фенилпиразолотриазина 4 в отношении неопухолевых клеток линии MCF 10a.

Настоящее исследование показало, во-первых, что использование ароматических заместителей в молекуле азолотриазина не устраняет её цитотоксических и цитостатических свойств в отношении малигнизированных клеток. Все четыре тестируемых соединения демонстрировали в той или иной степени эти эффекты, но абсолютные значения показателей варьировали в очень широком диапазоне. ЦТА и ЦСА фенилпиразолотриазин 1, 2 и 4 превышала аналогичные значения для препарата сравнения темозоламида, как полученных в данном исследовании, так и известным по данным литературы [13, 25].

Важно, что ЦТА и ЦСА исследуемых производных на нетрансформированные клетки линии

MCF-10a в большинстве случаев оказывались ниже, чем воздействие на культуры клеток РМЖ. В то же время цитотоксическое воздействие, хотя и не столь выраженное, имело место, что является основанием для прогнозирования побочных эффектов химиотерапии в случае использования этих соединений *in vivo*, и в будущем сделает необходимым разработку мероприятий по снижению этой токсичности.

Сопоставление ЦТА тестируемых производных в отношении отдельных клеточных линий показало, что минимальная активность была выявлена в отношении клеток линии MCF-7, что было расценено как снижение цитотоксических эффектов азолотриазина при использовании ароматических заместителей в отношении этой линии клеток. Максимальная ЦТА была выявлена в отношении клеток линии BT474. Фенилпиразололтриазин 1 и фенилпиразололтриазин 4 превышали по этой способности темозоламид в 1,49 раза, фенилпиразололтриазин 2 — в 2,04 раза, а фенилпиразололтриазин 3 имел сходную ЦТА с препаратом сравнения. Выявленный факт весьма ценен, поскольку именно химиотерапия тройного негативного РМЖ является наиболее проблемной для этой области клинической онкологии [26, 27].

При анализе результатов определения ЦСА были получены несколько иные взаимоотношения. Активность каждого тестируемого соединения в отношении клеток РМЖ варьировала в очень узком диапазоне и во всех случаях была выше, чем в отношении неопухолевых клеток линии MCF 10a, превышая последнюю в 1,50–2,13 раза. ЦСА фенилпиразололтриазинов 1 и 3 была выше величины показателя для темозоломида в 1,45 раза, активность фенилпиразололтриазина 2 — в 2,12 раза, фенилпиразололтриазина 4 — в 1,34 раза.

Можно выделить как минимум три основных фактора, определяющих различия в химиотерапевтической активности гомологичных соединений: различия фармакокинетики и распределения в организме, способность проникать в клетки-мишени и особенности взаимодействия с таргетными молекулами. Второй фактор безусловно связан с типом использованных клеточных линий РМЖ, тогда как фармакокинетические характеристики и степень повреждения ДНК — с остальными, в том числе с использованием производных, образованных путём включения в молекулу ароматических заместителей. Полученные данные хорошо согласуются с результатами изучения других алкилирующих соединений [5, 28, 29] и подтверждают важную роль описанных механизмов в реализации фармакологических эффектов этих производных азолотриазина.

Что касается значимости полученных данных, необходимо повторить о том, что это не сугубо медицинская, а насущная социальная и экономическая проблема, и её решение на национальном

и мировом уровне отнесено к важнейшим аспектам охраны здоровья женщин [30]. Выбранный класс соединений привлекателен в связи с достаточно высокой противоопухолевой активностью, позволяющим лидерам успешно входить до настоящего времени в состав химиотерапевтических схем для лечения достаточно широкого спектра злокачественных новообразований.

Заключение

Исследование с использованием культур клеток РМЖ MCF-7, MDA-MB231 и BT474 и культуры неопухолевых клеток MCF-10a показало, что все взятые в эксперимент производные фенилпиразололтриазина обладают ЦТА и ЦСА и могут быть расположены в следующем порядке по возрастанию активности: фенилпиразололтриазин 3 < темозоломид < фенилпиразололтриазин 1, фенилпиразололтриазин 4 < фенилпиразололтриазин 2. Таким образом, 3-(3'-Фенил-4'-метоксикарбонил-изоксазол-7-ил)-5-метил-1H-пиразол-4-ил (фенилпиразололтриазин 2) является безусловным лидером в тестируемой серии новых производных азолотриазина. Дальнейшие исследования следует вести как в направлении расширения спектра клеточных линий для изучения ЦТА и ЦСА этого соединения, так в направлении изучения других его эффектов, таких как генотоксическая и метаболическая активность, а также на моделях трансплантации опухолевых клеток РМЖ человека на лабораторных животных. При получении убедительных доказательств его активности в этих экспериментах целесообразно рекомендовать это производное азолотриазина для дальнейших доклинических испытаний.

Дополнительная информация

Благодарности. Авторы выражают признательность чл.-корр. РАН, проф. В. В. Удугу (заведующему лабораторией физиологии, молекулярной и клинической фармакологии, заместителю директора по научной и лечебной работе НИИ фармакологии и регенеративной медицины им. Е. Д. Гольдберга Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук) за полезные обсуждения; также авторы признательны чл.-корр. РАН, проф. Н. В. Чердынцевой (заведующей лабораторией молекулярной онкологии и иммунологии рака, заместителю директора по научной работе НИИ онкологии Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук) за предоставленные клеточные линии и материалы и их структурирование для последующего анализа.

Информация о финансировании. Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Additional information

Acknowledgements. The authors express their gratitude to Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Prof. V. V. Udut (Head of the Laboratory of Physiology, Molecular and Clinical Pharmacology, Deputy Director for Scientific and Therapeutic Work of the E. D. Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine of the Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences) for useful discussions; the au-

thors are also grateful to Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Prof. N. V. Cherdyntseva (Head of the Laboratory of Molecular Oncology and Cancer Immunology, Deputy Director for Scientific Work of the Research Institute of Oncology of the Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences) for provided cell lines and materials and their structuring for subsequent analysis.

Financial support. The authors declare a lack of funding.

Conflict of interests. The authors have no conflict of interest to declare.

Литература/References

1. Caswell-Jin J. L., Sun L. P., Munoz D. et al. Analysis of Breast Cancer Mortality in the US-1975 to 2019. *JAMA*. 2024; 331 (3): 233–241. doi: 10.1001/jama.2023.25881.
2. Sung H., Ferlay J., Siegel R. L. et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA A Cancer J Clin*. 2021; 71: 209–249. doi: 10.3322/caac.21660.
3. Wilkinson L., Gathani T. Understanding breast cancer as a global health concern. *British Journal of Radiology*. 2022; 95: 20211033. doi: https://doi.org/10.1259/bjr.20211033.
4. Maugeri S., Sibbitts J., Privitera A. et al. The anti-cancer activity of the naturally occurring dipeptide carnosine: Potential for breast cancer. *Cells*. 2023; 12 (22): 2592. doi: 10.3390/cells12222592.
5. Delahousse J., Molina L., Paci A. Cyclophosphamide and analogues; a matter of dose and schedule for dual anticancer activities. *Cancer Lett*. 2024; 598: 217119. doi: 10.1016/j.canlet.2024.217119.
6. Saito Y., Takekuma Y., Takahashi M. et al. Association of oral mucositis induced by anthracycline-cyclophosphamide and subsequent docetaxel treatment for perioperative breast cancer. *Support Care Cancer*. 2024; 32 (8): 513. doi: 10.1007/s00520-024-08733-7.
7. Roy M., Fowler A. M., Ulaner G. A., Mahajan A. Molecular classification of breast cancer. *PET Clinics*. 2023; 18 (4): 441–458. doi: 10.1016/j.cpet.2023.04.002.
8. Zhang Y., Chen F., Balic M., Creighton C. J. An essential gene signature of breast cancer metastasis reveals targetable pathways. *Breast Cancer Res*. 2024; 26 (1): 98. doi: 10.1186/s13058-024-01855-0.
9. Rositch A. E., Unger-Saldana K., DeBoer R. J. et al. The role of dissemination and implementation science in global breast cancer control programs: Frameworks, methods, and examples. *Cancer*. 2020; 126: 2394–2404. doi: 10.1002/cnrc.32877.
10. Cao J., Zhang M., Wang B. et al. Chemoresistance and metastasis in breast cancer molecular mechanisms and novel clinical strategies. *Frontiers in Oncology*. 2021; 11: 658552. doi: 10.3389/fonc.2021.658552.
11. Will M., Liang J., Metcalfe C., Chandraratna S. Therapeutic resistance to anti-oestrogen therapy in breast cancer. *Nature Reviews Cancer*. 2023; 23 (10): 673–685. doi: 10.1038/s41568-023-00604-3.
12. Moody C., Wheelhouse R. The medicinal chemistry of imidazotetrazine prodrugs. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2014; 7: 797–838. doi: 10.3390/ph7070797.
13. Zhu W., Zhang F., Wang M. et al. Temozolomide alleviates breast carcinoma via the inhibition of EGFR/ERK/ MMP-1 pathway with induction of apoptotic events. *Acta Cir Bras*. 2024 May 24; 39: e391624. doi: 10.1590/acb391624.
14. Кутаева К. В., Ризванов А. А., Соловьева В. В. Современные методы доклинического скрининга противоопухолевых препаратов с применением тест-систем на основе культур клеток. Учёные записки Казанского университета. Серия Естественные науки. 2021; 163 (2): 155–176. doi: https://doi.org/10.26907/2542-064X.2021.2.155-176. [Kutaeva K. V., Rizvanov A. A., Solov'eva V. V. Sovremennyye metody doklinicheskogo skrininga protivopukholyevykh preparatov s primeneniem test-sistem na osnove kul'tur kletok. Uchenye zapiski Kazanskogo universiteta. Seriya Estestvennyye nauki. 2021; 163 (2): 155–176. doi: https://doi.org/10.26907/2542-064X.2021.2.155-176. (in Russian)]
15. Zhang R., Jiang Q., Zhuang Z. et al. A bibliometric analysis of drug resistance in immunotherapy for breast cancer: trends, themes, and research focus. *Front Immunol*. 2024; 15: 1452303. doi: 10.3389/fimmu.2024.1452303.
16. Хумаири А. Х., Сперанский Д. Л., Садчикова Е. В. Синтез и цитотоксическая активность новых производных азолотриазина при изучении на клеточных культурах. Химико-фармацевтический журнал. 2022; 56 (6): 17–22. doi: https://doi.org/10.30906/0023-1134-2022-56-6-17-22. [Khumairi A. Kh., Speranskij D. L., Sadchikova E. V. Sintez i tsitotoksicheskaya aktivnost' novykh proizvodnykh azolotriazina pri izuchenii na kletochnykh kul'turakh. Khimiko-Farmatsevticheskij Zhurnal. 2022; 56 (6): 17–22. doi: https://doi.org/10.30906/0023-1134-2022-56-6-17-22. (in Russian)]
17. Al-Humairi A. H., Sitnikova S. E., Novochadov V. V. Cytotoxic and cytostatic activity of five new imidazotetrazine derivatives on breast cancer cell cultures MDAMB231, BT474, and MCF-7. *Research Results in Pharmacology*. 2024; 10 (3): 17–26. doi: https://doi.org/10.18413/rpharmacology.10.479
18. Şeker Karatoprak G., Dumlupınar B., Çelep E. et al. A comprehensive review on the potential of coumarin and related derivatives as multi-target therapeutic agents in the management of gynecological cancers. *Front Pharmacol*. 2024; 15: 1423480. doi: 10.3389/fphar.2024.1423480.
19. Kumar S., Arora A., Sapra S. et al. Recent advances in the synthesis and utility of thiazoline and its derivatives. *RSC Advances*. 2024; 14 (2): 902–953. doi: 10.1039/d3ra06444a20.
20. Villa-Reyna A. L., Perez-Velazquez M., González-Félix M. L. et al. The structure-antiproliferative activity relationship of pyridine derivatives. *Int J Mol Sci*. 2024; 25 (14): 7640. doi: 10.3390/ijms25147640.
21. Sadchikova E. V., Mokrushin V. S. Interaction of 3,8-disubstituted imidazo[5,1-c][1,2,4]triazines with nucleophiles. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. 2014; 50 (7): 1014–1020. doi: https://doi.org/10.1007/s10593-014-1557-5.
22. Alexeeva D. L., Sadchikova E. V., Volkova N. N., et al. Reactivity of 3-substituted pyrazole-5-diazonium salts towards 3-azolyl enamines. Synthesis of novel 3-azolylpyrazolo[5,1-c][1,2,4]triazines. *Archive for Organic Chemistry*. 2016; IV: 114–129. doi: https://doi.org/10.3998/ark.5550190.p009.571.
23. Witt B. L., Tollefsbol T. O. Molecular, cellular, and technical aspects of breast cancer cell lines as a foundational tool in cancer research. *Life (Basel)*. 2023; 13 (12): 2311. doi: 10.3390/life13122311.
24. Stockert J. C., Horobin R. W., Colombo L. L., Blázquez-Castro A. Tetrazolium salts and formazan products in cell biology: viability assessment, fluorescence imaging, and labeling perspectives. *Acta Histochem*. 2018; 120: 159–167. doi: 10.1016/j.acthis.2018.02.005.
25. Jezierzański M., Nafalska N., Stopyra M. et al. Temozolomide (TMZ) in the treatment of glioblastoma multiforme — a literature review and clinical outcomes. *Curr Oncol*. 2024; 31 (7): 3994–4002. doi: 10.3390/curroncol31070296.
26. Zhu S., Wu Y., Song B. et al. Recent advances in targeted strategies for triple-negative breast cancer. *J Hematol Oncol*. 2023; 16 (1): 100. doi: 10.1186/s13045-023-01497-3.
27. Masci D., Naro C., Puxeddu M. et al. Recent advances in drug discovery for triple-negative breast cancer treatment. *Molecules*. 2023; 28 (22): 7513. doi: 10.3390/molecules28227513.
28. Andrés C. M. C., Pérez de la Lastra J. M., Munguira E. B. et al. Dual-action therapeutics: DNA alkylation and antimicrobial peptides for cancer therapy. *Cancers (Basel)*. 2024; 16 (18): 3123. doi: 10.3390/cancers16183123.
29. Peng Y., Pei H. DNA alkylation lesion repair: outcomes and implications in cancer chemotherapy. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2021; 22 (1): 47–62. doi: 10.1631/jzus.B2000344.
30. Zhukova L. G., Andreeva I. I., Zavalishina L. E. et al. Breast cancer. *Journal of Modern Oncology*. 2021; 23: 5–40. doi: https://doi.org/10.26442/18151434.2021.1.200823.

Поступила / Received 19.11.2024
Принята в печать / Accepted 22.12.2024

Информация об авторах

Ахмед Хамид Хумаири — Phd по специальностям «Фармакология, клиническая фармакология», «Онкология, лучевая терапия», ст. преподаватель кафедры медицины катастроф Института общественного здоровья ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет», Волгоград, Россия. ORCID ID: 0000-0001-7545-8567

Валерий Валерьевич Новочадов — д. м. н., профессор кафедры биологии и биоинженерии Института естественных наук, ФГАОУ ВО «Волгоградский государственный университет» ВолГУ, Волгоград, Россия. ORCID ID: 0000-0001-6317-7418

About the authors

Ahmed H. Al-Humairi — Lecturer at the Department of Disaster Medicine, Institute of Public Health, Volgograd State Medical University; National Research Tomsk State University of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, Volgograd, Russia. ORCID ID: 0000-0001-7545-8567.

Valeriy V. Novochadov — D. Sc. in Medicine, Professor at the Department of Biology and Bioengineering, Institute of Natural Sciences, Volgograd State University, Volgograd, Russia. ORCID ID: 0000-0001-6317-7418

Лейкоцитарный пептидный комплекс с антибактериальным и противовоспалительным эффектом

Л. В. ВОЛКОВА¹, А. Г. ВОЛКОВ¹, Т. В. ПОЛЮДОВА², И. П. РУДАКОВА³

¹ Пермский национальный исследовательский политехнический университет (ПНИПУ), Пермь, Россия

² Институт экологии и генетики микроорганизмов уральского отделения российской академии наук (ИЭГМ УРО РАН), Пермь, Россия

³ Пермская государственная фармацевтическая академия (ПГФА), Пермь, Россия

Резюме

Цель — изучение ингибирующей и бактерицидной активностей в отношении бактерий разных систематических групп в условиях *in vitro*, а также противовоспалительной активности лейкоцитарного пептидного комплекса в модельном эксперименте каррагенинового отёка. **Материал и методы.** Лейкоцитарный белково-пептидный комплекс получали ультразвуковым воздействием на лейкоциты крови здоровых доноров с последующим фракционированием посредством высокоэффективной жидкостной хроматографии. Антибактериальную активность выделенной фракции определяли методом двукратных разведений. Противовоспалительную активность исследовали на модели острого каррагенинового отёка, вызванного субплантарным введением в заднюю лапу белых нелинейных крыс раствора каррагенина. **Результаты.** Показана выраженная антибактериальная активность лейкоцитарного пептидного комплекса, состоящего из пептидов с молекулярной массой менее 6,5 кДа в отношении представителей бактерий *Escherichia coli*, *Mycobacterium smegmatis* и *Staphylococcus aureus*. Минимальные подавляющие концентрации комплекса составляли 0,5, 0,25 и 0,125 мг/мл соответственно. Внутривентральное введение лейкоцитарного белково-пептидного комплекса по сравнению с препаратом сравнения (нимесулид) обеспечивает статистически значимое торможение воспалительной реакции, достигающее 62,3%. Эффективность противовоспалительного действия лейкоцитарного белково-пептидного комплекса превышала таковую нимесулида более чем на 13%. **Выводы.** Показана возможность создания противовоспалительного препарата с выраженной антибактериальной активностью на основе пептидного комплекса, выделенного из лейкоцитов крови человека при помощи простого, быстрого и эффективного метода ультразвукового воздействия.

Ключевые слова: антибактериальные пептиды; противовоспалительная активность; каррагениновый отёк; лейкоцитарный пептидный комплекс

Для цитирования: Волкова Л. В., Волков А. Г., Полюдова Т. В., Рудакова И. П. Лейкоцитарный пептидный комплекс с антибактериальным и противовоспалительным эффектом. *Антибиотики и химиотерапия*. 2025; 70 (7–8): 28–33. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2025-70-7-8-28-33>. EDN: UJZEZS.

Leukocyte Peptide Complex with Antibacterial and Anti-Inflammatory Effects

LARISA V. VOLKOVA¹, ALEXANDER G. VOLKOV¹,
TATYANA V. POLYUDOVA², IRINA P. RUDAKOVA³

¹ Perm National Research Polytechnic University, Perm, Russia

² Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Perm, Russia

³ Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, Russia

Abstract

The aim was to study the inhibitory and bactericidal activity against bacteria of different systematic groups *in vitro*, as well as the anti-inflammatory activity of the leukocyte peptide complex in a model experiment of carrageenan edema. **Material and Methods.** Leukocyte protein-peptide complex was obtained by ultrasound treatment of healthy donors' blood leukocytes with subsequent fractionation via high-performance liquid chromatography. Antibacterial activity of the isolated fraction was determined using the twofold dilution method. Anti-inflammatory activity was studied on the model of acute carrageenin edema caused by subplantar injection of carrageenin solution into the hind paw of white nonlinear rats. **Results.** The leukocyte peptide complex consisting of peptides with molar mass less than 6.5 kDa demonstrated a pronounced antibacterial activity against *Escherichia coli*, *Mycobacterium smegmatis*, and *Staphylococcus aureus*. The minimum inhibitory concentrations of the complex were 0.5, 0.25, and 0.125 mg/mL, respectively. Intraperitoneal administration of leukocyte protein-peptide complex compared to the reference drug (nimesulide) provides a statistically significant inhibition of the inflammatory response, reaching 62.3%. The anti-inflammatory efficacy of the leukocyte protein-peptide

*Адрес для корреспонденции:
E-mail: wolkowalw@mail.ru



*Correspondence to:
E-mail: wolkowalw@mail.ru



EDN: UJZEZS

complex exceeded that of nimesulide by more than 13%. **Conclusion.** The possibility of creating an anti-inflammatory drug with pronounced antibacterial activity based on a peptide complex isolated from human blood leukocytes using a simple, fast, and effective method of ultrasound exposure has been shown.

Keywords: antibacterial peptides; anti-inflammatory activity; carrageenan edema; leukocyte peptide complex

For citation: Volkova L. V., Volkov A. G., Polyudova T. V., Rudakova I. P. Leukocyte peptide complex with antibacterial and anti-inflammatory effects. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2025; 70 (7–8): 28–33. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2025-70-7-8-28-33>. EDN: UJZEZS. (in Russian)

Введение

Одной из актуальных проблем современной медицины является поиск и разработка новых высокоэффективных лекарственных субстанций, сочетающих несколько биологических свойств, в том числе антимикробные и противовоспалительные эффекты. Инфекционные заболевания по своей частоте находятся на первом месте среди прочих болезней. По некоторым данным, более 70% всех известных патогенных бактерий устойчивы как минимум к одному из используемых антибиотиков, а антибиотикорезистентность является одной из основных проблем современного здравоохранения. Воспаление, в свою очередь, универсальный ответ организма на различные негативные факторы, лежащий в основе большого количества заболеваний различной природы. Бактериальная инфекция всегда сопровождается воспалительной реакцией, которая при длительном течении приводит к повреждению ткани, поэтому ингибирование медиаторов воспаления может уменьшить негативные эффекты инфекции. Для подавления воспалительного процесса применяют нестероидные противовоспалительные препараты, которые зачастую являются причиной нежелательных осложнений [1]. В связи с этим поиск новых безопасных противовоспалительных и антибактериальных соединений является высокоактуальной задачей.

Антимикробные пептиды (АМП) являются наиболее перспективной альтернативой традиционным антибиотикам, а возможно и нестероидным противовоспалительным препаратам. АМП сочетают в себе ряд свойств — это противомикробная активность, противовоспалительные и иммуномодулирующие эффекты [2].

Ранее из лейкоцитов крови человека была выделена пептидная субстанция с выраженными антимикробными свойствами [3]. Лейкоцитарный комплекс содержит 15 основных пептидов с молекулярной массой от 440 до 3000 Да [4]. Учитывая происхождение исследуемого пептидного комплекса, было спрогнозировано и экспериментально доказано отсутствие его токсичности [5, 6]. Выделенный нами лейкоцитарный пептидный комплекс (ЛПК) может стать основой для получения иммунобиологического препарата со свойствами, характерными для известных АМП.

Цель работы — изучение основных свойств ЛПК, а именно ингибирующей и бактерицидной активностей в отношении представителей бактерий с принципиально разным строением клеточной стенки в условиях *in vitro*, а также противовоспалительной активности ЛПК в модельном эксперименте каррагенинового отёка.

Материал и методы

Объектом исследования был лейкоцитарный пептидный комплекс (ЛПК), полученный в результате ультразвуковой обработки донорских лейкоцитов. Выделение ЛПК из лейкоцитов человека проводили следующим образом: кровь донора собирали в контейнер с раствором гемоконсерванта Фаглюцид, отделяли форменные клетки крови от плазмы центрифугированием в течение 20 мин при 1300 об/мин и температуре $6 \pm 2^\circ\text{C}$. Надосадочную жидкость удаляли, осадок фракционировали с помощью метилцеллюлозы 0,3% в растворе натрия цитрата 50% с целью получения «чистых лейкоцитов». Лейкоциты концентрацией 6,7 млн/мл 0,9% раствора NaCl подвергали воздействию ультразвука (УЗ) с использованием гомогенизатора UP50H (Hielscher Ultrasonics, Германия) мощностью 50 Вт и частотой 30 кГц, амплитуду УЗ волн варьировали в пределах от 60 до 80%. Продолжительность обработки клеток ультразвуком 90, 120 и 150 с. Эффективность УЗ обработки оценивали по количеству разрушенных лейкоцитов, количество которых должно быть не менее $73,2 \pm 2,5\%$. Для оценки степени разрушения образец суспензии помещали в 1% раствор эозина натрия и проводили подсчёт лейкоцитов в окрашенной суспензии при помощи камеры Горяева под микроскопом Axiostar plus (Zeiss, Германия). Суспензию разрушенных лейкоцитов подвергали центрифугированию в течение 15 мин при 4000 об/мин для удаления клеточной стромы. Надосадочную жидкость стерилизовали фильтрованием (Millex-GV Filter, 0,22 μm , Merck, Германия) и лиофильно высушивали. Хранили в сухом, защищённом от света месте при температурах 4–8°C. Определение молекулярных параметров ЛПК проводили с использованием метода ВЭЖХ на хроматографе Knauer (Германия) со спектрофотометрическим детектором аналитических длин волн 280 нм и 293 нм. Разделение ЛПК осуществляли на хроматографических колонках Superdex 200 increase (Sigma-Aldrich, США) длиной 300 мм, диаметром 10 мм с сорбентом Диасфер-110-Диол. Хроматографирование проводили при 22°C, скорости потока 0,75 мл/мин. В качестве подвижной фазы применяли водный раствор следующего состава: 4,87 г/л динатрия дигидрофосфата натрия моногидрата, 11,69 г/л натрия хлорида и 0,05 г/л азида натрия. В качестве маркеров молекулярной массы использовали соединения, представленные в табл. 1.

Антибактериальную активность ЛПК изучали на бактериях *Escherichia coli* M-17, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P, *S. epidermidis* ATCC 12228, *Mycobacterium smegmatis* mc²155, *Proteus vulgaris* HX 19/222, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, которые выращивали на питательной среде Luria Bertani (LB) (HiMedia, Индия) до середины логарифмической фазы роста. Готовили суспензию бактерий в свежей стерильной среде Muller Hinton, содержа-

Таблица 1. Белки-маркеры молекулярного веса, использованные для калибровки хроматографической колонки
Table 1. Molar mass marker proteins used for chromatographic column calibration

Название маркеров	Молекулярная масса, кДа	Время удержания, мин
Aprotinin (Sigma-Aldrich, США)	6,5	25,6
Ribonuclease Acros Organics, Бельгия	13,7	23,6
Carbonic Anhydrase (Thermo Fisher Scientific, США)	29,0	21,8
Ovalbumin (Cytiva, Великобритания)	43,0	19,8
Conalbumin (Cytiva, Великобритания)	75,0	18,5
Aldolase (Cytiva, Великобритания)	158,0	16,7
Ferritin (Cytiva, Великобритания)	440,0	13,7
Thyroglobulin (Cytiva, Великобритания)	660,0	11,9

щей 10^6 колониеобразующих единиц в мл (КОЕ/мл). Антибактериальную активность (АБА) определяли методом двукратных разведений в жидкой питательной среде Muller Hinton («HiMedia», Индия), а для бактерий *M. smegmatis* mc2155 в жидкой питательной среде Middelbrook 7H9 («HiMedia», Индия). По 100 мкл питательной среды вносили в лунки 96-луночных планшетов («Медполимер», Россия), готовили серию двукратных разведений раствора ЛПК (2 мг/мл). Затем в каждую лунку добавляли по 10 мкл суспензии тест-бактерий, содержащей 10^6 КОЕ/мл [7]. Планшеты инкубировали при 37°C в течение 24 ч. За минимальную подавляющую концентрацию (МПК) ЛПК принимали наименьшую концентрацию, при которой не наблюдался видимый рост бактерий. Для определения минимальных бактерицидных концентраций (МБК) из лунок, без видимого роста бактерий, удаляли содержимое и вносили в них по 100 мкл свежей питательной среды LB. Планшеты вновь помещали в термостат и инкубировали не менее 24 ч. Бактерии, оставшиеся живыми, после удаления антибактериального агента, возобновляли свой рост. Концентрация раствора ЛПК, после удаления которого рост бактерий не возобновлялся, принималась за МБК.

Определение противовоспалительной активности ЛПК проводили на нелинейных половозрелых крысах массой 180–250 г, обоего пола (каждая группа включала 6 животных). Животные содержались в типовом виварии с естественным 12-часовым свето-теневым циклом, при температуре $20 \pm 2^\circ\text{C}$. Их питание осуществлялось в соответствии с нормами кормов для экспериментальных животных, животные имели неограниченный доступ к питьевой воде. В опыт отбирались здоровые животные после предварительной адаптации их в условиях вивария в течение 5 дней с ежедневной оценкой их состояния. Исследования проводились в соответствии с принципами биомедицинской этики, сформулированными в Хельсинкской декларации 1964 г. и её последующих обновлениях, и одобренными Комиссией по биоэтике ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России (протокол № 5 от 15.10.2023).

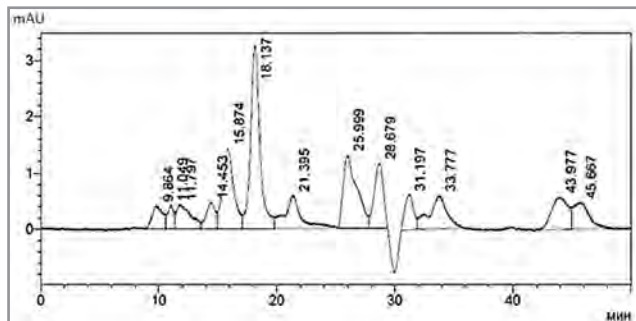


Рис. 1. ВЭЖХ экстракта, полученного при воздействии на лейкоциты человека ультразвуком мощностью 50 Вт, частотой 30 кГц, амплитудой 60% в течение 90 с.
Fig. 1. HPLC of the extract obtained by exposing human leukocytes to ultrasound with a power of 50 W, a frequency of 30 kHz, and a range of 60% for 90 s.

Раствор ЛПК и препарат сравнения — нимесулид (CJSC «Berezovsky Pharmaceutical Plant», Россия) вводили животным разных групп однократно внутрибрюшинно в 0,9% растворе натрия хлорида производства ОАО «ДАЛЬХИМФАРМ» (Россия) в дозе 50 мг/кг за 0,5 ч до введения флогогенного агента. Контрольная группа животных получала эквивалентный объем 0,9% раствора натрия хлорида. Моделирование острого воспалительного отека осуществляли субплантарным введением в заднюю лапу крысы 0,1 мл 1% стерильного водного раствора каррагинена. Увеличение объема стопы, свидетельствующее о развитии отека, оценивали онкометрически [8] перед введением и через 3 ч после введения каррагинена.

Статистическую обработку проводили с помощью программы MS Excel 2010, рассчитывая средние значения и доверительные интервалы ($\alpha=0,05$), достоверность отличий между группами оценивали с вычислением *t*-критерия Стьюдента.

Результаты

После воздействия УЗ мощностью 50 Вт, частотой 30 кГц с амплитудой 60% от общей мощности прибора на лейкоциты в течение 90 с наблюдалось появление в инкубационной среде белковых соединений. Сравнение полученного спектра с временем удержания белков-маркеров (см. табл. 1) позволило предположить, что в составе полученной белковой смеси преобладают крупномолекулярные соединения более 6500 Да, и лишь незначительная доля соединений, выявляемых на хроматограмме в виде четырех пиков со временем удержания 25,8, 28,7, 31,1 и 33,5 мин. Увеличение времени УЗ воздействия до 120 с приводило к возрастанию количества низкомолекулярных фракций, время удержания которых было более 23 мин (рис. 1), что свидетельствует о их низкой молекулярной массе, не превышающей 6500 Да. Дальнейшее увеличение амплитуды и времени УЗ воздействия не приводило к изменению хроматографического профиля получаемого экстракта. При подсчете процентного содержания пептидов с массой менее 6500 Да в полученном препарате, оказалось, что их доля составляет около 17 %.

Известно, что наибольшей биологической активностью обладают пептиды млекопитающих с молекулярной массой менее 10 кДа, такие как кателицидины [9], бактенецины [10], дефензины [11]. Ранее было показано, что антибактериальная активность ЛПК выявляется лишь во

Таблица 2. Минимальная подавляющая и бактерицидная концентрации ЛПК, мкг/мл

Table 2. Minimum inhibitory and bactericidal concentrations of LPC, µg/ml

Бактерии	Концентрация ЛПК	
	МИК/МІС	МБК/МВС
<i>Escherichia coli</i> M-17	25,0	100
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	50,0	200
<i>Mycobacterium smegmatis</i> mc2155	12,5	25,0
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538-P	1,5	12,5
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	6,5	25,0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	125,0	62,5
<i>Proteus vulgaris</i> HX 19/222	25,0	50,0

фракциях, содержащих низкомолекулярные пептидные компоненты [4]. В связи с этим, дальнейшие исследования проводили с биологически активной субстанцией, содержащей комплекс низкомолекулярных пептидов с молекулярной массой менее 6,5 кДа. В настоящем исследовании проведена количественная оценка антибактериального действия, выделенных из лейкоцитов человека, пептидов с определением минимальной подавляющей концентрации (МИК) и МБК для бактерий разных систематических групп (табл. 2). Используемые в работе тест-бактерии обладают принципиально разным строением клеточной стенки. *E. coli*, *P. vulgaris* и *P. aeruginosa* ATCC 9027 являются грамотрицательными, представитель рода *Staphylococcus* и *E. faecalis* обладают грамположительной клеточной стенкой, как и бактерии *M. smegmatis*, которые также являются кислотоустойчивыми [12]. Полученные данные свидетельствуют о широком спектре антибактериальной активности выделенных лейкоцитарных пептидов. Наибольшая чувствительность к ЛПК обнаружена у бактерий рода *Staphylococcus*. Важно отметить, что антибактериальная активность ЛПК выявлена и в отношении бактерий *M. smegmatis*, которые являются модельным организмом для поиска потенциальных противотуберкулезных средств [13].

При изучении процесса воспаления в лапе крыс, вызванного введением раствора каррагенина установлено, что флогогенный агент вызывал острую воспалительную реакцию, пик которой наблюдался через 3 ч после введения. На пике воспалительной реакции были проведены замеры объемов поражённых конечностей животных всех групп. Оказалось, что объёмы стоп крыс на пике воспаления существенно различались. Максимальный объём стоп фиксировался у животных контрольной группы, которым вводили 0,9% раствор натрия хлорида, предварительное введение нимесулида животным приводило к снижению воспалительной реакции примерно в 2 раза, а введение ЛПК снижало воспалительный эффект более чем в 2 раза по сравнению с контролем (рис. 2). О наличии противовоспалительного действия судили по выраженности торможения воспалительной реакции, которая при

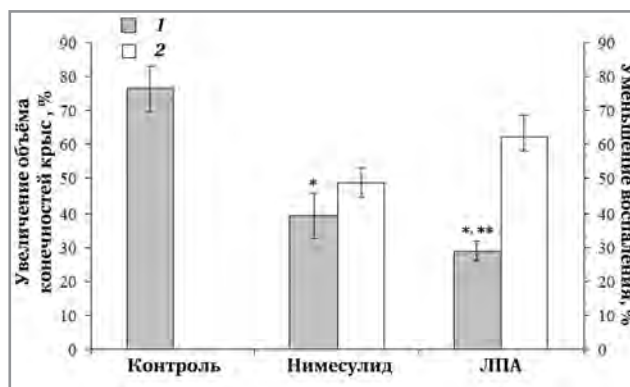


Рис. 2. Увеличение объёма конечностей крыс через 3 ч после введения раствора каррагенина (1) и противовоспалительное действие нимесулида и ЛПА (2).

Примечание. * — разница с контролем статистически значима ($p < 0,001$); ** — разница с нимесулидом статистически значима ($p < 0,05$).

Fig. 2. Rat limb volume increase 3 hours after administration of carrageenan solution (1) and the anti-inflammatory effect of nimesulide and LPC (2).

Note. * — the difference with the control is statistically significant ($P < 0.001$); ** — the difference with nimesulide is statistically significant ($P < 0.05$).

применении ЛПК оказалась в 2,7 раза меньше, чем в контрольной группе. Ингибирование воспаления при этом составило 62,3%. Противовоспалительная активность исследуемого пептидного комплекса не уступала препарату сравнения нимесулиду и даже превышала его действие на 13% (см. рис. 2).

Обсуждение

Важной проблемой поиска новых лекарственных соединений животного происхождения является обнаружение пептидных компонентов со специфической биологической активностью, выделение и получение в больших количествах активных пептидных фракций. Не менее важной является разработка из них новых лекарств или других пептидных продуктов, необходимых для практических целей человека.

Выделение и очистку антимикробных пептидов из лейкоцитарной массы обычно проводят посредством агрессивного воздействия на лейко-

циты кислотами [14] или поверхностно активными веществами [15], при этом процесс гомогенизации лейкоцитарной массы занимает несколько часов с обязательным охлаждением [14, 15]. В настоящем исследовании показана возможность получения биологически активных фракций лейкоцитарных пептидов быстрым и недорогим способом ультразвукового воздействия на лейкоцитарную массу. Краткосрочное действие низкочастотного ультразвука позволяет разрушить клетки, но при этом низкомолекулярные белки и пептиды сохраняют свою стабильность, что проявляется в их биологической активности — антибактериальной и противовоспалительной. Использование для детекции пептидов при хроматографии длин волн 280 и 293 нм, позволило выделить пептиды, содержащие ароматические аминокислоты, структурно схожие α -дефенсинами HNP-1, HNP-2 и HNP-3, содержащими в составе остатки тирозина, фенилаланина и триптофана и обладающие выраженной антимикробной активностью [16]. Подобными характеристиками обладают некоторые β -дефенсины, как например hBD-1 [17]. Высокое содержание в этих дефенсинах остатков цистеина способствует образованию дисульфидных связей в молекуле, а также наличие консервативного мостика Arg-Glu, придаёт структурную стабильность и большую устойчивость этих пептидов к протеазам [18, 19]. В этой связи данная фракция, выделенных нами устойчивых к протеазам пептидов была исследована на предмет её противовоспалительной активности методом внутрибрюшинного введения и показала выраженный противовоспалительный эффект.

В настоящее время известно, что пептиды имеют первостепенное значение в регуляции иммунитета, кровяного давления, уровня холесте-

рина, обладают противовирусной и антибактериальной активностью [20]. Использование в качестве исходного сырья донорских лейкоцитов, включающих в свой состав большой диапазон пептидных соединений, позволяет выявить у них широкий спектр биологической активности [21, 22].

В настоящем исследовании продемонстрирована антибактериальная активность ЛПК в отношении представителей разных клинически значимых групп бактерий. Выявление фракции пептидов с наиболее выраженным противомикробным эффектом и раскрытие механизма антибактериального действия будут являться целью наших дальнейших исследований. Вместе с тем, биоактивные пептиды выполняют важную функцию в регулировании и балансировании воспалительных реакций врождённого иммунитета. В наших экспериментах убедительно продемонстрирован противовоспалительный эффект ЛПК, превышающий таковой известного нестероидного противовоспалительного средства нимесулида.

Заключение

Показана возможность создания противовоспалительного препарата с выраженной антибактериальной активностью на основе пептидного комплекса, выделенного из лейкоцитов крови человека при помощи простого, быстрого и эффективного метода ультразвукового воздействия. Сочетание противовоспалительных и антибактериальных свойств ЛПК представляет собой высокий практический интерес для создания эффективного лекарственного средства. Комплексное действие ЛПК на моделях инфекционного воспаления требует дальнейшего детального изучения.

Литература/References

1. Bindu S., Mazumder S., Bandyopadhyay U. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and organ damage: A current perspective. *Biochem Pharmacol.* 2020; 180: 114147. doi: 10.1016/j.bcp.2020.114147.
2. Luo Y., Song Y. Mechanism of antimicrobial peptides: antimicrobial, anti-inflammatory and antibiofilm activities. *Int J Mol Sci.* 2021; 22 (21): 11401. doi: 10.3390/ijms222111401.
3. Волкова Л. В., Гришина Т. А., Волков А. Г. Метод фракционирования лейкоцитарных белков. Пат. РФ № 2737730; опубликовано 02.12.2020. [Volkova L. V., Grishina T. A., Volkov A. G. Method for fractionation of leukocyte proteins. Patent RF № 2737730; published 02.12.2020. (in Russian)]
4. Волков А. Г., Кононова Л. И., Коробов В. П., Волкова Л. В. Изучение молекулярных параметров и антибактериальная активность пептидного препарата, полученного из лейкоцитов человека. Антибиотики и химиотер. 2023; 68 (9–10): 20–24. doi: https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-9-10-20-24. [Volkov A. G., Kononova L. I., Korobov V. P., Volkova L. V. Study of molecular parameters and antibacterial activity of a peptide preparation derived from human leukocytes. *Antibiot Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy.* 2023; 68 (9–10): 20–24. doi: https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-9-10-20-24. (in Russian)]
5. Гришина Т. А., Волков А. Г., Волкова Л. В. Цитотоксичность и токсикологическая характеристика нового лейкоцитарного полипептида. *Вопр биол мед фарм хим.* 2020; 23 (5): 54–58. doi: https://doi.org/10.29296/25877313-2020-05-08. [Grishina T. A., Volkov A. G., Volkova L. V. Cytotoxicity and toxicological characteristics of the new leukocitar polypeptide. *Probl Bio Med Pharm Chem.* 2020; 23 (5): 54–58. doi: https://doi.org/10.29296/25877313-2020-05-08. (in Russian)]
6. Волкова Л. В. Острая и хроническая токсичность антибактериального пептидного комплекса. *Биофарм ж.* 2022; 14 (1): 51–54. doi: https://doi.org/10.30906/2073-8099-2022-14-1-51-54. [Volkova L. V. Acute and chronic toxicity of antibacterial peptide complex. *Rus J Biopharmaceuticals.* 2022; 14 (1): 51–54. doi: https://doi.org/10.30906/2073-8099-2022-14-1-51-54. (in Russian)]
7. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) (2020) Version 8. <http://www.eucast.org/>
8. Тринус Ф. П., Клебанов Б. М., Кондратьев В. И. Методические рекомендации по экспериментальному (доклиническому) исследованию нестероидных противовоспалительных фармакологических веществ. М.: Минздрав СССР 1983; 16. [Trinus F. P., Klebanov B. M., Kondratyuk V. I. Methodological recommendations for experimental (preclinical) research of non-steroidal anti-inflammatory pharmacological substances. Moscow: Ministry of Health of the USSR. 1983; 16. (in Russian)]
9. Чернов А. Н., Орлов Д. С., Шамова О. В. Пептиды врождённого иммунитета как потенциальные противоопухолевые агенты: плюсы и минусы. *Мед иммунол.* 2021; 23 (6): 1285–1306. doi: https://doi.org/10.15789/1563-0625-POT-2303. [Chernov A. N., Orlov D. S., Shamova O. V. Peptides of the innate immunity as potential anticancer agents: pros and cons. *Med Immunol.* 2021; 23 (6): 1285–1306. doi: https://doi.org/10.15789/1563-0625-POT-2303. (in Russian)]
10. Шамова О. В., Орлов Д. С., Жаркова М. С., Баландин С. В., Ямицкова Е. В., Кнаппе Д., Хоффманн Р., Кокряков В. Н., Овчинникова Т. В. Мини-

- бактенецины ChBac7.5N α ChBac7.5N β — антимикробные пептиды из лейкоцитов козы *Capra hircus*. *Acta Naturae*. 2016; 8 (30): 147–157. doi: <https://doi.org/10.32607/20758251-2016-8-3-136-146>. [Shamova O. V., Orlov D. S., Zharkova M. S., Balandin S. V., Yamshchikova E. V., Knappe D., Hoffmann R., Kokryakov V. N., Ovchinnikova T. V. Minibactenecins ChBac7.N α and ChBac7.N β — Antimicrobial Peptides from Leukocytes of the Goat *Capra hircus*. *Acta Naturae*. 2016; 8 (30): 136–146. doi: <https://doi.org/10.32607/20758251-2016-8-3-136-146>. (in Russian)]
11. Будихина А. С. Пинегин Б. В. Дефензины — мультифункциональные катионные пептиды человека. Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2008; 2: 31–40. [Budikhina A. S., Pinegin B. V. Defensins are multifunctional human cationic peptides. *Int J Immunopathology, Allergology, Infectology*. 2008; 2: 31–40. (in Russian)]
 12. Определитель бактерий Берджи. В 2-х томах. Под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уилльямса. М.: Мир, 1997; 800. [Identifier of bacteria Bergey. In 2 volumes: Transl. With. English. J. Hoult, N. Krieg, P. Sneath, J. Staley, S. Williams (eds.). Moscow: Mir, 1997; 800.
 13. Коробов В. П., Шагдарова Б. Ц., Варламов В. П., Есаев Л. Л., Полюдова Т. В. Ингибирующее действие низкомолекулярного хитозана на рост бактерий с различными тинкториальными свойствами. *Микробиология*. 2023; 92 (2): 197–203. doi: <https://doi.org/10.31857/S0026365622600754>. [Korobov V. P., Shagdarova B. Ts., Varlamov V. P., Esaev A. L., Polyudova T. V. Inhibitory action of low-molecular chitosan on growth of bacteria with different tinctorial properties. *Microbiology*. 2023; 92 (2): 215–220. doi: doi.org/10.1134/S0026261722603347. (in Russian)]
 14. Цветкова Е. В., Алешина Г. М., Шамова О. В., Леонова Л. Е., Лерер Р. И., Кокряков В. Н. α -Дефензины из лейкоцитов крови обезьяны *Papio hamadryas*. *Биохимия*. 2006; 71 (8): 1083–1090. [Tsvetkova E. V., Aleshina G. M., Shamova O. V., Kokryakov V. N., Leonova L. E., Lehrer R. I. α -Defensins from blood leukocytes of the monkey *Papio hamadryas*. *Biochemistry*. 2006. 71 (8): 879–883. (in Russian)]
 15. Юхнев В. А., Шартукова М. А., Луговкина Н. В., Кокряков В. Н., Шамова О. В. Поиск новых антимикробных пептидов из семейства кателицидинов и дефензинов в лейкоцитах лося (*Alces alces*). Вестник Санкт-Петербургского университета. Серия 3. Биология. 2014; 1: 115–131. [Yuhnev V. A., Shartukova M. A., Lugovkina N. V., Kokryakov V. N., Shamova O. V. Search of novel antimicrobial peptides of the cathelicidins and defensins families in moose (*Alces alces*) leucocytes. *Bulletin of St. Petersburg University. Episode 3. Biology*. 2014; 1: 115–131. (in Russian)]
 16. Selsted M. E., Harwig S. S., Ganz T., Schilling J. W., Lehrer R. I. Primary structures of three human neutrophil defensins. *J Clin Invest*. 1985. 76 (4): 1436–9. doi: [10.1172/JCI112121](https://doi.org/10.1172/JCI112121)
 17. Bensch K. W., Raida M., Magert H. J., Schulz-Knappe P., Forssmann W. G. hBD-1: a novel β -defensin from human plasma. *FEBS Letters*. 1995. 368: 331–335. doi: [10.1016/0014-5793\(95\)00687-5](https://doi.org/10.1016/0014-5793(95)00687-5).
 18. Lu S., Cao Y., Fan S. B., Chen Z. L., Fang R. Q., He S. M., Dong M. Q. Mapping disulfide bonds from sub-micrograms of purified proteins or micrograms of complex protein mixtures. *Biophys Rep*. 2018; 4 (2): 68–81. doi: [10.1007/s41048-018-0050-6](https://doi.org/10.1007/s41048-018-0050-6).
 19. Wu Z., Li X., Leeuw E., Ericksen B., Lu W. Why Is the Arg5-Glu13 Salt Bridge Conserved in Mammalian α -Defensins? *J Biol Chem*. 2005; 280 (52): 43039–43047. doi: [10.1074/jbc.M510562200](https://doi.org/10.1074/jbc.M510562200)
 20. Sparks I. L., Derbyshire K. M., Jacobs W. R., Morita Y. S. Mycobacterium smegmatis: The vanguard of mycobacterial research. *J Bacteriol*. 2023; 205 (1): e0033722. doi: [10.1128/jb.00337-22](https://doi.org/10.1128/jb.00337-22).
 21. Kang L., Han T., Cong H., Yu B., Shen Y. Recent research progress of biologically active peptides. *Biofactors*. 2022; 48 (3): 575–596. doi: [10.1002/biof.1822](https://doi.org/10.1002/biof.1822).
 22. Panerai A. E. Lymphocytes as a source of hormones and peptides. *J Endocrinol Invest*. 1993; 16: 549–557. doi: [10.1007/BF03348904](https://doi.org/10.1007/BF03348904).

Поступила / Received 11.05.2024

Принята в печать / Accepted 20.06.2024

Информация об авторах

Волкова Лариса Владимировна — д. м. н., профессор; профессор кафедры, кафедра охраны окружающей среды, Пермский национальный исследовательский политехнический университет, Пермь, Россия. ORCID ID: 0000-0002-7445-5943

Волков Александр Геннадьевич — к. м. н., доцент кафедры, кафедра охраны окружающей среды Пермский национальный исследовательский политехнический университет, Пермь, Россия. ORCID ID: 0009-0001-8516-6143

Полюдова Татьяна Вячеславовна — к. б. н., заведующая лабораторией, «Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» — филиал Пермского Федерального исследовательского центра УРО РАН, Пермь, Россия. ORCID ID: 0000-0003-2618-762X

Рудакова Ирина Петровна — д. м. н., доцент, заведующая кафедрой физиологии, Пермская государственная фармацевтическая академия, Пермь, Россия. ORCID ID: 0000-0003-2227-8313

About the authors

Larisa V. Volkova — D. Sc. in Medicine, Professor; Professor at the Environmental Protection Department, Perm National Research Polytechnic University, Perm, Russia. ORCID ID: 0000-0002-7445-5943

Aleksandr G. Volkov — Ph. D. in Medicine, Associate Professor at the Environmental Protection Department, Perm National Research Polytechnic University, Perm, Russia. ORCID ID: 0009-0001-8516-6143

Tatyana V. Polyudova — Ph. D. in Biology, Head of the Laboratory, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences — Branch of the Perm Federal Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Perm, Russia. ORCID ID: 0000-0003-2618-762X

Irine P. Rudakova — D. Sc. in Medicine, Associate Professor, Head of the Physiology Department, Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, Russia. ORCID ID: 0000-0003-2227-8313

Влияние кишечной микробиоты на риск мочекаменной болезни

Н. В. СТУРОВ, *С. В. ПОПОВ, З. А. ИВАНОВ, В. А. ЖУКОВ

Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы, Москва, Россия

Резюме

Цель: изучить особенности кишечной микробиоты (КМ) при мочекаменной болезни (МКБ) в сравнении со здоровыми добровольцами с определением бактерий, изменение содержания которых влияет на риск развития уrolитиаза, с установлением пороговых значений данных показателей. **Материал и методы.** С помощью метода газовой хроматографии-масс-спектрометрии (ГХМС) образцов фекалий был изучен состав КМ у 35 пациентов с МКБ и 31 здорового добровольца. Выполнен статистический анализ полученных результатов с целью определения бактерий, изменение численности которых ассоциируется с риском развития уrolитиаза. **Результаты.** В группе пациентов с МКБ было отмечено увеличение численности следующих бактерий: *Alcaligenes* spp. / *Klebsiella* spp., *C. hystolyticum* / *S. pneumonia*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile*. Состав КМ пациентов с МКБ отличался в зависимости от типа мочевых камней: при оксалатном уrolитиазе наблюдалось повышение количества условно-патогенных бактерий *Peptostreptococcus anaerobius* 18623 и *Clostridium perfringens*, а при мочекишлом уrolитиазе — снижение представителей здоровой микробиоты *Propionibacterium jensenii* и *Clostridium propionicum*. Повышение количества *Peptostreptococcus anaerobius* 18623 более 37996×10^5 кл/г и/или снижение численности *Clostridium propionicum* менее 2178×10^5 кл/г ассоциировалось с повышением риска уrolитиаза. **Выводы.** КМ пациентов с МКБ статистически достоверно отличается от КМ здоровых добровольцев. Состав КМ различен в зависимости от типа мочевых камней. Повышение количества *P. anaerobius* 18623 и/или снижение числа *Clostridium propionicum* в КМ могут рассматриваться в качестве потенциальных факторов риска развития МКБ.

Ключевые слова: мочекаменная болезнь; кишечная микробиота; газовая хроматография-масс-спектрометрия; оксалатные камни; мочекишлые камни; факторы риска

Для цитирования: Стуров Н. В., Попов С. В., Иванов З. А., Жуков В. А. Влияние кишечной микробиоты на риск мочекаменной болезни. *Антибиотики и химиотер.* 2025; 70 (7–8): 34–40. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2025-70-7-8-34-40>. EDN: PWUMWG.

Impact of the Gut Microbiota on the Risk of Urolithiasis

NIKOLAY V. STUROV, *SERGEY V. POPOV,
ZAKHAR A. IVANOV, VLADIMIR A. ZHUKOV

RUDN University, Moscow, Russia

Abstract

The aim was to study the characteristics of the gut microbiota (GM) in urinary stone disease (urolithiasis) in comparison with healthy volunteers (HV), to identify bacteria whose content changes affect the risk of developing urolithiasis, as well as to establish threshold values for these indicators. **Material and methods.** The composition of GM in 35 patients with urolithiasis and 31 healthy volunteers was conducted using the method of gas chromatography-mass spectrometry (GCMS) of fecal samples; subsequent statistical analysis of the obtained results was performed to identify the bacteria whose changes in abundance are associated with the risk of urolithiasis. **Results.** In the group of patients with urolithiasis, an increase in the numbers of the following bacteria was noted: *Alcaligenes* spp. / *Klebsiella* spp., *C. hystolyticum* / *S. pneumonia*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile*. The GM composition in patients with urolithiasis differed depending on the type of urinary stones: in case of oxalate urolithiasis, there was an increase of opportunistic bacteria *Peptostreptococcus anaerobius* 18623 and *Clostridium perfringens*, while in uric acid urolithiasis, a decrease in healthy microbiota representatives *Propionibacterium jensenii* and *Clostridium propionicum* was observed. An increase in the number of *Peptostreptococcus anaerobius* 18623 over 37996×10^5 cells/g and/or a decrease in the number of *Clostridium propionicum* to fewer than 2178×10^5 cells/g were associated with increased risk of urolithiasis. **Conclusions.** The GM of patients with urolithiasis significantly differs from the GM of healthy volunteers. The composition of GM varies depending on the type of urinary stones. An increase in the amount of *Peptostreptococcus anaerobius* 18623 and/or a decrease in the amount of *Clostridium propionicum* in GM can be considered as potential risk factors of urolithiasis.

Keywords: urolithiasis; gut microbiota; gas chromatography-mass spectrometry; oxalate stones; uric acid stones; risk factors

*Адрес для корреспонденции:
E-mail: popov-serv@rudn.ru



*Correspondence to:
E-mail: popov-serv@rudn.ru



For citation: Sturov N. V., Popov S. V., Ivanov Z. A., Zhukov V. A. Impact of the gut microbiota on the risk of urolithiasis. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2025; 70 (7–8): 34–40. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2025-70-7-8-34-40>. EDN: PWUMWG. (in Russian)

Введение

Мочекаменная болезнь (МКБ) — это хроническое системное заболевание, являющееся следствием метаболических нарушений и/или влияния факторов внешней среды и проявляющееся образованием камней в верхних мочевых путях [1]. В среднем риск заболеваемости уролитиазом колеблется от 1 до 20%, при этом МКБ чаще встречается у мужчин (соотношение около 3 : 1), хотя в последние десятилетия это соотношение обрело обратную тенденцию: так, по данным авторов [2, 3], на основании регистра NHANES, эта пропорция составила 1,75 к 1. Заболеваемость МКБ наиболее распространена в возрасте от 35 до 50 лет.

На сегодняшний день имеются данные о связи нарушений КМ с риском развития уролитиаза [4]. А. W. Miller и соавт. [5] показали, что у пациентов с МКБ отмечается снижение количества бактерий, продуцирующих короткоцепочечную жирную кислоту (КЦЖК) бутират, таких как *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Clostridium*, *Eggerthella*, *Providencia*, *Streptococcus* и *Leuconostoc* 35, что повышает проницаемость кишечной стенки и усиливает всасывание в кровоток основных субстратов для образования мочевых камней. По результатам исследования L. Guo и соавт. [6] были выявлены классы бактерий в составе КМ, которые опосредованно способны предотвращать уролитиаз, среди них семейство Actinomycetaceae, семейство Clostridiaceae 1, род *Clostridium sensu stricto* 1, род *Hungatella*, род *Lachnospiraceae* UCG001, род *Lachnospiraceae* UCG008 и порядок Actinomycetales. Бактерии родов *Haemophilus*, *Ruminococcaceae* UCG010, порядка Rhodospirillales и типа *Actinobacteria*, наоборот, могут повышать риск уролитиаза. Недавний метаанализ исследований, посвящённых изучению состава КМ у пациентов с МКБ, также продемонстрировал таксономические изменения в структуре КМ: у пациентов с МКБ была обнаружена более высокая численность *Bacteroides* (35,11 против 21,25%) и *Escherichia* — *Shigella* (4,39 против 1,78%), а также более низкая численность *Prevotella* (8,41 против 10,65%) в структуре общего количества бактерий [7].

Таким образом, современные данные литературы гетерогенны и в полной мере не описывают конкретные изменения состава КМ при уролитиазе, а также не позволяют применить накопленные знания в клинической практике.

Основной целью проведённого нами исследования было изучение нарушений КМ у пациентов с МКБ в сравнении со здоровыми добровольцами с определением бактерий, изменение содержания которых может влиять на риск раз-

вития уролитиаза, с установлением пороговых значений данных показателей.

Материал и методы

Набор участников исследования осуществлялся на базе ГБУЗ города Москвы «Поликлиника «Кузнецки»» Департамента здравоохранения города Москвы. В исследование включали пациентов старше 18 лет с подтверждённым диагнозом МКБ. Обязательным условием участия было подписание добровольного информированного согласия.

В качестве критериев исключения были определены такие сопутствующие заболевания, как сахарный диабет, аутоиммунный тиреоидит, хроническая болезнь почек, подагра, системные заболевания соединительной ткани, злокачественные новообразования, неспецифический язвенный колит, болезнь Крона, мочевые инфекции в предшествующие 3 мес., а также иные заболевания, по поводу которых был зафиксирован факт приёма антимикробных препаратов в течение предыдущих 4 нед. В исследование не включали пациентов с психическими заболеваниями, резекцией любого из отделов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) в анамнезе, а также беременных женщин и пациентов младше 18 лет.

В период с ноября 2022 г. по декабрь 2024 г. нами были отобраны и предоставлены образцы фекалий 35 пациентов с МКБ. Для формирования группы контроля образцы фекалий были получены от 31 здорового добровольца (ЗД). На основании данных о плотности камней, полученных по результатам МСКТ почек и мочевыводящих путей, пациенты с МКБ были разделены на две подгруппы: с оксалатными ($n=18$) и мочекислыми ($n=17$) камнями. Возрастно-половой состав участников исследования представлен в табл. 1.

Таблица 1. Возрастно-половой состав участников исследования, абс. (%)

Table 1. Age and gender composition of the study participants, x-axis (%)

Параметр	Оксалатные камни	Мочекислые камни	ЗД
<i>n</i> , чел.	18	17	31
Мужчины, чел	10 (55,6)	9 (52,9)	14 (45,2)
Женщины, чел	8 (44,4)	8 (47,1)	17 (54,8)
Мужчины, лет	49,3 ($\pm 10,47$)	44,9 ($\pm 9,48$)	28,6 ($\pm 4,15$)
Женщины, лет	42,3 ($\pm 8,4$)	42,8 ($\pm 9,86$)	38 ($\pm 12,22$)

Участники исследования самостоятельно собирали образцы фекалий в стерильный сухой контейнер; в тот же день образцы доставлялись в специализированную лабораторию для проведения ГХМС на приборе «Маэстро». ГХМС является высокочувствительным и селективным методом изучения состава КМ на основании измерения концентраций специфических микробных маркеров (жирных кислот) в анализируемом материале. Данный метод в настоящее время позволяет количественно определять в образцах фекалий содержание суммарно 57 бактерий, грибов и вирусов.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием пакетов прикладного программного обеспечения Statsoft Statistica 13, IBM SPSS Statistics 30, Past 4.03, Origin, CoDaPack, DATAtab, Microsoft Excel.

Для анализа многомерных данных и ординации применялись неметрическое многомерное шкалирование (NMDS) и линейный дискриминантный анализ (LDA). Достоверность различий оценивалась с помощью непараметрического пермутационного многофакторного дисперсионного анализа (PERMANOVA, Permutational multivariate analysis of variance)

и теста ANOSIM (Analysis of Similarity) при 9999 перестановках. Данный подход также известен как метод оценки бета-разнообразия микробиоты. В качестве метрик схожести использовались мера Брея–Кёртиса и Манхэттенское расстояние.

Для оценки степени влияния переменных на риск развития заболевания использовалась модель пошаговой логистической регрессии и анализ ROC-кривых. Значимость различий переменных считалась достоверной при $p < 0,05$.

Результаты

Изучение состава КМ методом анализа многомерных данных. Мы провели неметрическое многомерное шкалирование (NMDS) данных, полученных методом ГХМС образцов фекалий, предварительно удалив переменные с большинством нулевых значений как не вносящих свой вклад в описание микробиоты, а также убрав показатели, представляющие собой суммы отдельных переменных — суммарного количества микроорганизмов, суммарного количества маркеров вирусов и суммарной грибковой нагрузки, чтобы избежать искажений результатов. Всего в анализ вошло 48 переменных-биомаркеров микроорганизмов.

Было установлено, что КМ пациентов с МКБ значительно отличается от группы ЗД (PERMANOVA: мера Брея–Кёртиса $p = 0,0023$, Манхэттенское расстояние $p = 0,0009$; ANOSIM: мера Брея–Кёртиса $p = 0,0029$, Манхэттенское расстояние $p = 0,0179$) (рис. 1, 2).

Образцы КМ в группе ЗД, по результатам ординации, имеют более концентрированное расположение около центральной области диаграммы (синие кружочки), в то время как в группе МКБ имеется более высокий разброс

образцов (красные крестики). Несмотря на то, что часть образцов КМ обеих групп занимает близкое друг к другу центральное расположение, тенденция к разделению на диаграмме ординации и в особенности достоверность различий по тестам PERMANOVA и ANOSIM выглядит многообещающе, указывая на значительные различия в микробных сообществах как комплексных сложных системах, с большим количеством внутренних взаимодействий.

Удаление образцов КМ от центральной области диаграммы и большее соответствие группе МКБ было обусловлено увеличением численности следующих бактерий: *Alcaligenes* spp. / *Klebsiella* spp., *C. hystolyticum* / *S. pneumonia*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile*. При этом также стоит отметить направления вектора *Blautia coccoides* в сторону группы ЗД.

Для решения задачи классификации подгрупп участников в многомерном пространстве после преобразования данных с центрированным логарифмическим соотношением (CLR) применён линейный дискриминантный анализ (LDA), результаты которого представлены на рис. 3.

Было установлено, что большее абсолютное содержание в КМ таких патобионтов, как *Peptostreptococcus anaerobius* 18623 и *Clostridium perfringens*, лучше характеризует группу пациентов с оксалатными камнями, в то время как пропионат-продуцирующие *Propionibacterium jensenii* и *Clostridium propionicum* лучше характеризуют группу здоровых добровольцев. При этом группа пациентов с мочекислыми камнями преимущественно характеризовалась меньшей представ-

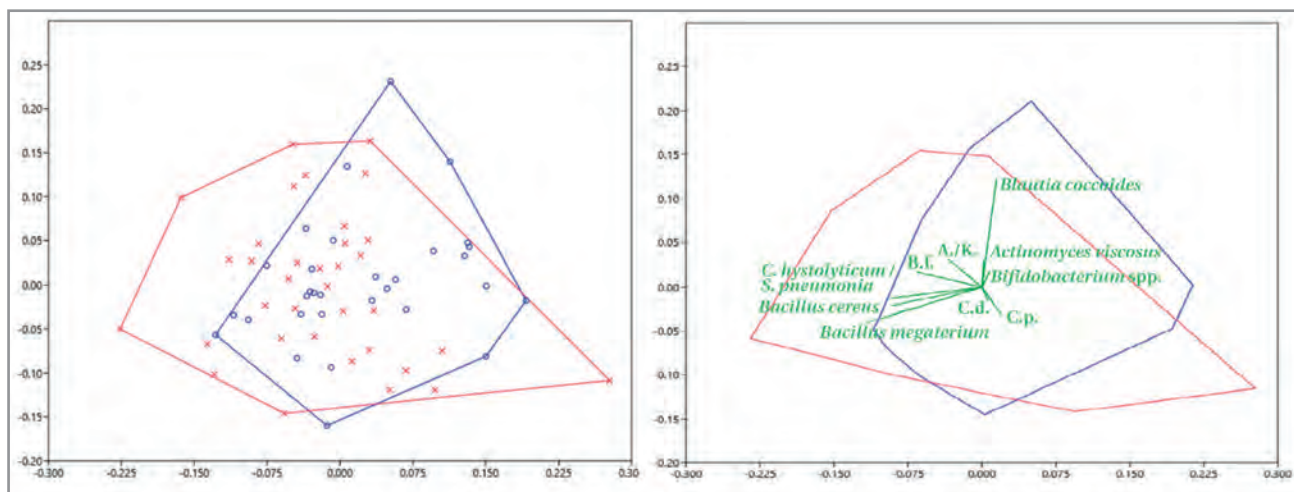


Рис. 1. Результаты ординации (NMDS) данных ГХМС образцов кала в зависимости от группы.

Примечание. Образцы МКБ — красный цвет, крестики; образцы ЗД — синий цвет, кружочки. Мера Брея–Кёртиса. B.f. — *Bacteroides fragilis*; A./K. — *Alcaligenes* spp. / *Klebsiella* spp.; C.d. — *Clostridium difficile*; C.p. — *Clostridium perfringens*.

Fig. 1. Results of the ordination (NMDS) of GCMS fecal samples data depending on the group.

Note. USD samples — red, crosses; HV samples — blue, circles. The Bray–Curtis measure. B.f. — *Bacteroides fragilis*; A./K. — *Alcaligenes* spp. / *Klebsiella* spp.; C.d. — *Clostridium difficile*; C.p. — *Clostridium perfringens*.

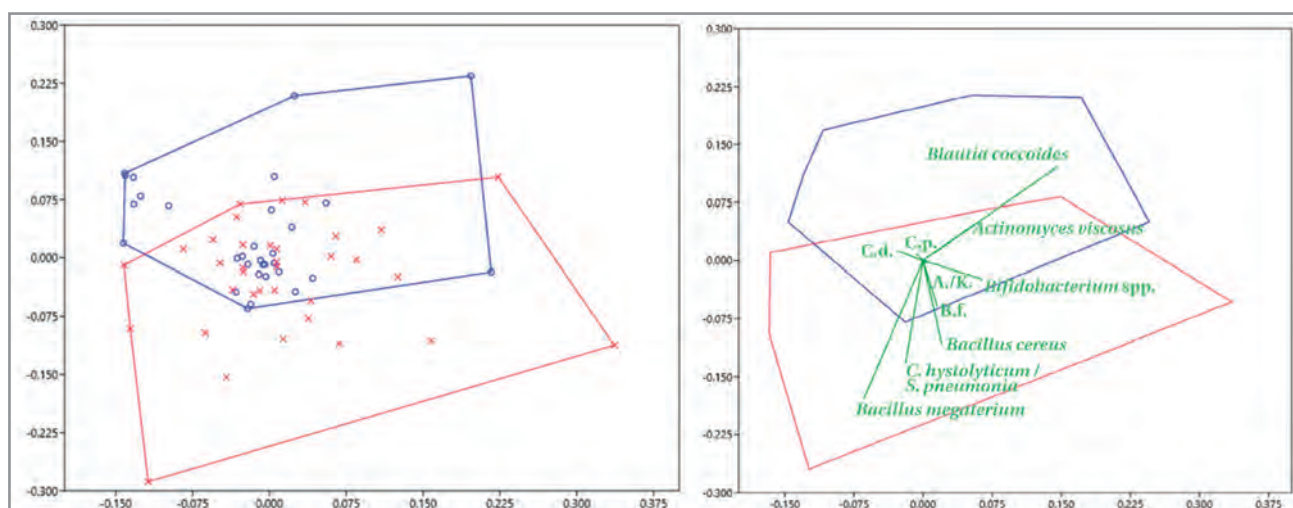


Рис. 2. Результаты ординации (NMDS) данных ГХМС образцов кала в зависимости от группы.

Примечание. Образцы МКБ — красный цвет, крестики; образцы ЗД — синий цвет, кружочки. Манхэттенское расстояние. B.f. — *Bacteroides fragilis*; A./K. — *Alcaligenes* spp. / *Klebsiella* spp.; C.d. — *Clostridium difficile*; C.p. — *Clostridium perfringens*.

Fig. 2. Results of the ordination (NMDS) of GCMS fecal samples data depending on the group.

Note. USD samples — red, crosses; HV samples — blue, circles. Manhattan distance. B.f. — *Bacteroides fragilis*; A./K. — *Alcaligenes* spp. / *Klebsiella* spp.; C.d. — *Clostridium difficile*; C.p. — *Clostridium perfringens*.

Таблица 2. Влияние численности микробных маркеров на вероятность МКБ.

Table 2. Effect of abundance changes of some microbial markers on the risk of USD.

Название бактерий	ОШ	95% ДИ		Уровень <i>p</i>
		Нижняя граница	Верхняя граница	
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> 18623, $\times 10^9$ кл/г	1,086	1,004	1,174	0,039
<i>Clostridium propionicum</i> , $\times 10^9$ кл/г	0,427	0,206	0,888	0,023
<i>Clostridium propionicum</i> , %	0,284	0,121	0,666	0,004
<i>Candida</i> spp., %	28,659	1,540	533,291	0,024
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> 18623, %	1,074	1,002	1,151	0,044
<i>Clostridium perfringens</i> , %	1,096	1,001	1,199	0,047

Примечание. ОШ — отношение шансов; ДИ — доверительный интервал.

Note. ОШ — odds ratio; ДИ — confidence interval.

ленностью *Propionibacterium jensenii* и *C. propionicum*. Таким образом, мы установили, что состав КМ пациентов с МКБ и здоровых добровольцев статистически значимо отличается.

Анализ факторов риска развития МКБ: логистическая регрессия, ROC-кривые. Для оценки влияния численности микробных маркеров на риск уролитиаза была построена модель логистической регрессии. Нами была проанализирована как абсолютная, так и относительная численность исследуемых микробных маркеров. В результате анализа были отобраны биомаркеры, численность которых значимо влияет на риск развития заболевания (табл. 2). Параметры оценки риска рассчитывались для абсолютной численности бактерий, представленной в 10^9 кл/г.

Как следует из данных, представленных в табл. 2, увеличение абсолютной численности *Peptostreptococcus anaerobius* 18623 на каждые 1×10^9 кл/г в составе КМ повышает вероятность наличия МКБ примерно на 8,6%, а снижение абсолютной численности *Clostridium propionicum*

на каждые 1×10^9 кл/г снижает вероятность МКБ на 57,3%. То же справедливо и для относительной численности этих маркеров: увеличение относительной численности *P. anaerobius* 18623 в структуре КМ на каждый 1% (процентный пункт, п. п.) повышает вероятность наличия МКБ примерно на 7,4%, а снижение *C. propionicum* на каждый 1% (п. п.) — понижает на 71,6%. Таким образом, как абсолютная, так и относительная численность имеют значимость в определении риска развития МКБ.

Для вычисления пороговых значений и определения факторов риска был проведён ROC-анализ (рис. 4, 5). Точки отсечения выбраны при оптимальном сочетании чувствительности и специфичности. На рис. 4 продемонстрирована ROC-кривая для повышения абсолютной численности биомаркеров *P. anaerobius* 18623 как фактора риска МКБ. Было установлено, что количество *P. anaerobius* 18623 в образцах фекалий более 37996×10^5 кл/г (AUC 0,684, 95% ДИ: 0,553; 0,815, $p=0,006$) является значимым фактором, повы-

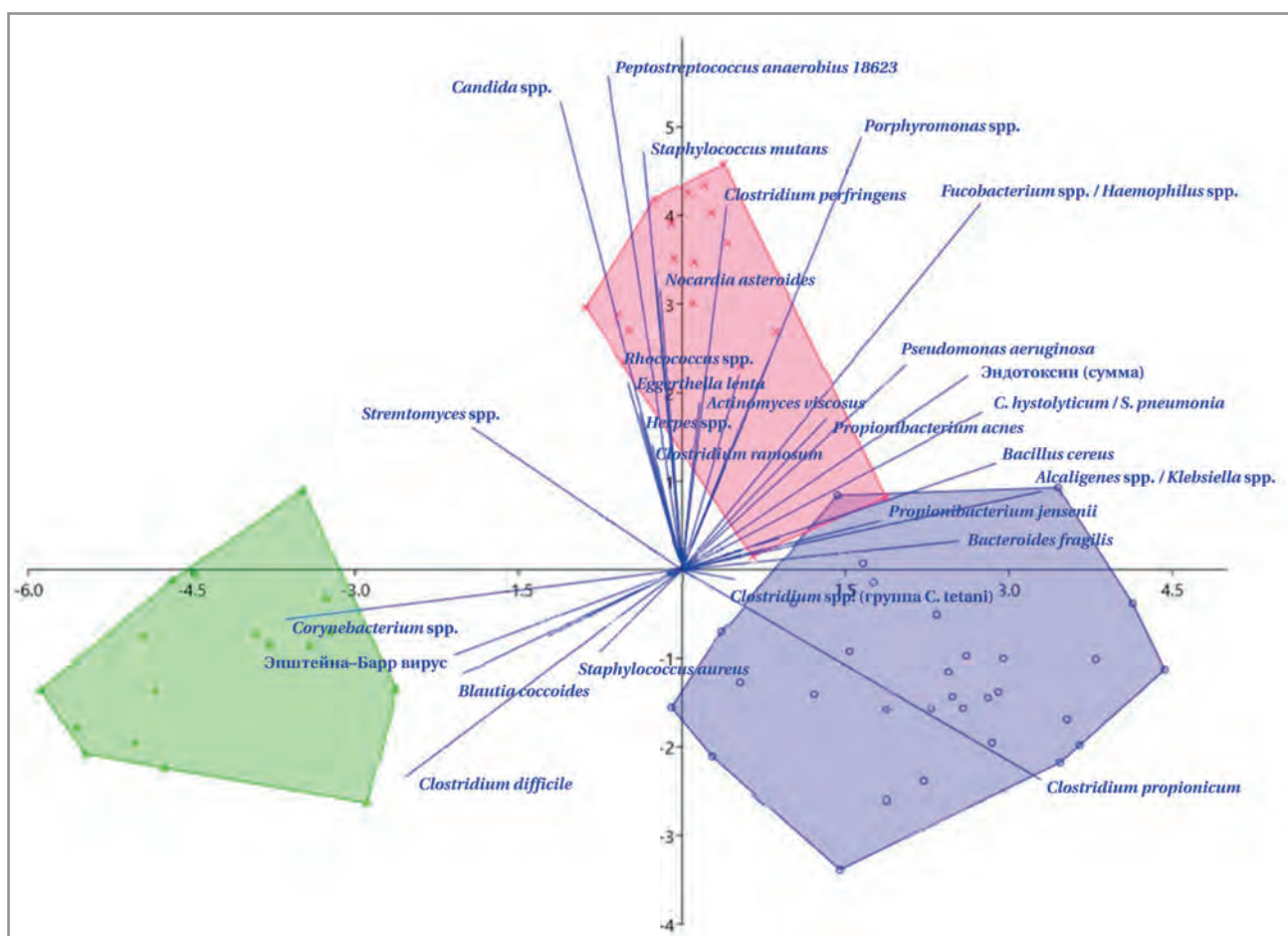


Рис. 3. Результаты ординации (LDA) данных ГХМС образцов кала в зависимости от подгруппы.

Примечание. Оксалатные — красный цвет, крестики; мочекислые камни — зеленый цвет, треугольники; ЗД — синий цвет, кружочки.

Fig. 3. Results of the ordination (LDA) of GCMS fecal samples data depending on the subgroup.

Note. Oxalate — red, crosses; uric acid stones — green, triangles; HV — blue, circles.

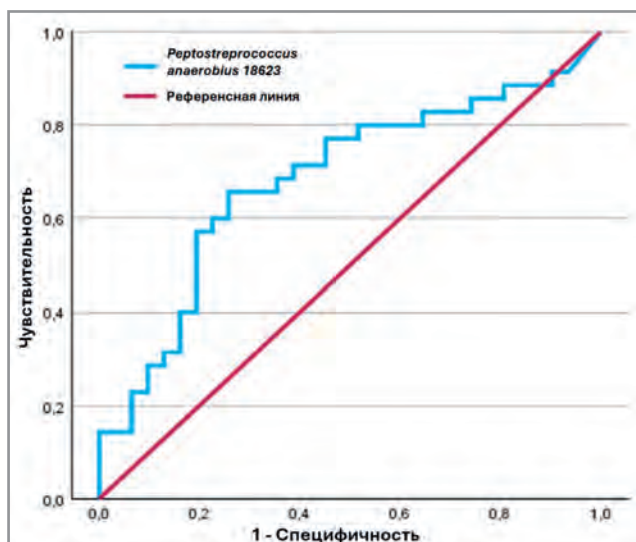


Рис. 4. ROC-кривая для повышения абсолютной численности биомаркеров *Peptostreptococcus anaerobius* 18623 в качестве фактора риска уролитиаза.

Fig. 4. ROC curve for the increase of the absolute number of *Peptostreptococcus anaerobius* 18623 biomarkers as a risk factor of urolithiasis.

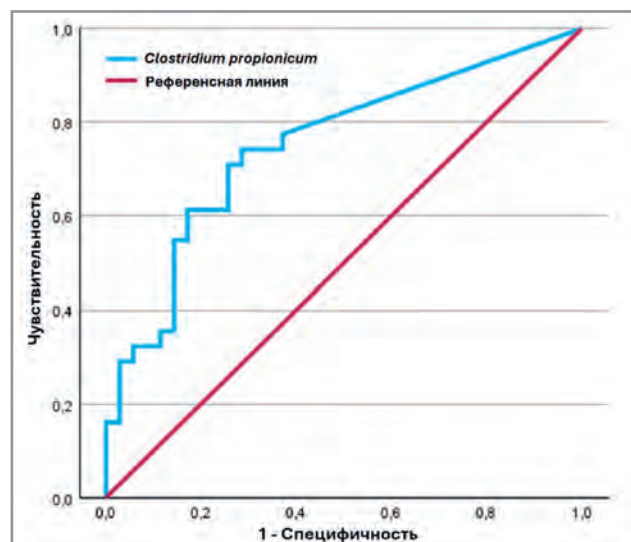


Рис. 5. ROC-кривая для снижения абсолютной численности биомаркеров *Clostridium propionicum* в качестве фактора риска уролитиаза.

Fig. 5. ROC curve for the reduction of the absolute abundance of *Clostridium propionicum* biomarkers as a risk factor of urolithiasis.

Таблица 3. Частоты встречаемости выявленных факторов риска уролитиаза

Table 3. Frequency of the identified urolithiasis risk factors

Фактор риска		Наличие МКБ		Уровень p^*
		Да	Нет	
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> 18623, $>38\,000 \times 10^5$ кл/г	Да	24	11	0,008
	Нет	11	20	
<i>Clostridium propionicum</i> , $<2\,200 \times 10^5$ кл/г	Да	25	8	<0,001
	Нет	10	23	

Примечание. * — сравнение частот по критерию χ^2 .

Note. * — frequency comparison using the Chi-square test

шающим риск развития уролитиаза. Чувствительность данного порогового значения составила 69%, специфичность — 65%.

Биомаркер *C. propionicum* был определён нами в качестве профилактического фактора в отношении МКБ, а его снижение — как фактор риска развития уролитиаза (см. рис. 5). Снижение численности *C. propionicum* менее 2178×10^5 кл/г (AUC 0,751, 95% ДИ: 0,631; 0,871, $p < 0,001$) оказалось значимым фактором, повышающим риск развития МКБ. Чувствительность данного порогового значения составила 74%, специфичность — 71%.

Сравнение частот встречаемости факторов *C. propionicum* менее 2178×10^5 кл/г и *Peptostreptococcus anaerobius* 18623 более 37996×10^5 кл/г представлены в табл. 3. Можно считать, что повышение численности *P. anaerobius* 18623 $> 38\,000 \times 10^5$ кл/г (ОШ 3,967, 95% ДИ: 1,423; 11,056) и/или снижение численности *C. propionicum* $< 2\,200 \times 10^5$ кл/г (ОШ 7,188, 95% ДИ: 2,420; 21,348) являются потенциальными факторами риска уролитиаза с относительно сильной связью.

Обсуждение

Результаты, полученные в ходе проведённого исследования, показали отличия в составе КМ у пациентов с МКБ в сравнении со здоровыми добровольцами. В структуре КМ испытуемых с уролитиазом преобладали преимущественно условно-патогенные бактерии с провоспалительной активностью.

P. anaerobius 18623 — грамположительный анаэробный кокк, условно-патогенный микроорганизм, встречающийся в КМ в норме и являющийся одним из самых многочисленных в её структуре. В литературе не представлено данных об изменении количества данной бактерии у пациентов с МКБ. Известно, что *P. anaerobius* 18623 является одним из редко встречающихся возбудителей инфекций мочевых путей (ИМП). Сообщается, что при нормальной функции КМ данный микроорганизм безвреден для макроорганизма, но при определённых условиях приобретает выражённую патогенность [8].

C. perfringens — известная своим патогенным потенциалом бактерия, которая вырабатывает более 20 токсинов и ферментов агрессии, но при

этом является частью нормальной микробиоты у людей [9]. Ранее Е. Т. Голощапов и соавт. [10] сообщали о присутствии *C. perfringens* в мочевых камнях в высоких титрах.

S. pneumoniae принадлежит к числу редких возбудителей ИМП, проявляет литогенные эффекты, оказывая значительное стимулирующее воздействие на рост и агрегацию кристаллов оксалата кальция [11, 12]. *Bacillus cereus* — патоген, ответственный за пищевые отравления у людей [13]. *Clostridium difficile* — известный патоген, который может вызывать кишечную инфекцию, симптомы которой варьируются от бессимптомной колонизации или лёгкой диареи до тяжёлых проявлений, таких как псевдомембранозный колит [14, 15]. Известно, что *Alcaligenes faecalis* может быть возбудителем цистита [16]. *Klebsiella pneumoniae* также является известным возбудителем ИМП и ассоциируется с дисбиозом кишечника [17, 18]. Сообщается о высокой распространённости *K. pneumoniae* с множественной лекарственной устойчивостью в моче пациентов с МКБ, а также об усилении процессов камнеобразования данным микроорганизмом, в том числе благодаря уреазопродуцирующей активности [19, 20].

В литературе не описана связь состава КМ с типом образующихся мочевых камней. Также на сегодняшний день отсутствуют данные по пороговым количественным значениям уровня бактерий в составе КМ, определённых при помощи ГХМС образцов фекалий, нарушение которых может считаться потенциальным фактором риска уролитиаза. Следует отметить, что ввиду относительно небольшой выборки пациентов наши результаты пока не могут быть рекомендованы к применению в клинической практике, тем не менее, они дополняют имеющиеся данные о нарушении КМ при МКБ и свидетельствуют в пользу продолжения исследований в данном направлении.

Заключение

Полученные в ходе нашего исследования результаты показали, что КМ пациентов с МКБ имеет характерные отличия от таковой у здоровых добровольцев, параллельно с этим была установлена разница в составе КМ в зависимости от типа развивающихся мочевых камней (мочекис-

лых или оксалатных). Определение количества *Peptostreptococcus anaerobius* 18623 и *Clostridium propionicum* в образцах фекалий методом ГХМС

Литература/References

1. Мочекаменная болезнь. 2024 Клинические рекомендации. <https://uroweb.ru/news/opublikovani-klinicheskie-rekomendatsii-mochekamennaya-bolezn-2024> (доступно на 30.05.2025). [Urinary stone disease. 2024 Clinical Guidelines. <https://uroweb.ru/news/opublikovani-klinicheskie-rekomendatsii-mochekamennaya-bolezn-2024> (accessed: 30.05.2025). (in Russian)]
2. Руденко В. И., Семенякин И. В., Малхасян В. А., Гаджиев Н. К. Мочекаменная болезнь. Урология. 2017; 2S: 30–63. [Rudenko V. I., Semenyakin I. V., Malkhasyan V. A., Gadzhiev N. K. Urolithiasis. Urologiya. 2017; 2S: 30–63. (in Russian)]
3. Каприн А. Д., Аполихин О. И., Сивков А. В., Анохин Н. В., Гаджиев Н. К., Малхасян В. А., Акопян Г. Н., Просяников М. Ю. Заболеваемость мочекаменной болезнью в Российской Федерации с 2005 по 2020 гг. Экспериментальная и клиническая урология. 2022; 15 (2): 10–7. doi: <https://doi.org/10.29188/2222-8543-2022-15-2-10-17>. [Kaprin A. D., Apolikhin O. I., Sivkov A. V., Anokhin N. V., Gadzhiev N. K., Malkhasyan V. A., Akopyan G. N., Prosyannikov M. Yu. The incidence of urolithiasis in the Russian Federation from 2005 to 2020. Experimental and Clinical Urology. 2022; 15 (2): 10–7. doi: <https://doi.org/10.29188/2222-8543-2022-15-2-10-17>. (in Russian)]
4. Sturov N. V., Popov S. V., Ivanov Z. A., Rusanova E. I., Kobylanu G. N. State of the gut microbiota in oxalate nephrolithiasis. J Renal Inj Prev. 2023; 12 (1): e32060. doi: <https://doi.org/10.34172/jrip.2022.32060>.
5. Miller A. W., Penniston K. L., Fitzpatrick K., Agudelo J., Tasian G., Lange D. Mechanisms of the intestinal and urinary microbiome in kidney stone disease. Nat Rev Urol. 2022 Dec; 19 (12): 695–707. doi: 10.1038/s41585-022-00647-5.
6. Guo L., Lan Q., Zhou M., Liu F From gut to kidney: microbiota modulates stone risk through inflammation — a mediated Mendelian randomization study. Mamm Genome. 2025 Mar; 36 (1): 250–261. doi: 10.1007/s00335-024-10094-9.
7. Yuan T., Xia Y., Li B., Yu W., Rao T., Ye Z., Yan X., Song B., Li L., Lin F., Cheng F Gut microbiota in patients with kidney stones: a systematic review and meta-analysis. BMC Microbiol. 2023 May 19; 23 (1): 143. doi: 10.1186/s12866-023-02891-0.
8. Legaria M. C., Nastro M., Camporro J., Heger F, Barberis C., Stecher D., Rodriguez C. H., Vay C. A. *Peptostreptococcus anaerobius*: pathogenicity, identification, and antimicrobial susceptibility. Review of monobacterial infections and addition of a case of urinary tract infection directly identified from a urine sample by MALDI-TOF MS. Anaerobe. 2021 Dec; 72: 102461. doi: 10.1016/j.anaerobe.2021.102461.
9. Ba X., Jin Y., Ning X., Gao Y., Li W., Li Y., Wang Y., Zhou J. *Clostridium perfringens* in the intestine: innocent bystander or serious threat? Microorganisms. 2024 Aug 7; 12 (8): 1610. doi: 10.3390/microorganisms12081610.

Информация об авторах

Николай Владимирович Стуров — к. м. н., доцент, заведующий кафедрой общей врачебной практики медицинского института, Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0002-3138-8410

Сергей Витальевич Попов — д. м. н., профессор кафедры общей врачебной практики медицинского института, врач-уролог, Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0002-0567-4616

Захар Андреевич Иванов — ассистент кафедры общей врачебной практики медицинского института, Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0002-6655-0369

Владимир Андреевич Жуков — к. м. н., доцент кафедры общей врачебной практики медицинского института, Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0001-9995-264X

можно считать перспективным для прогнозирования риска уролитиаза и определения типа мочевых камней.

10. Голощапов Е. Т., Четвериков А. В., Белозеров Е. С. Инфекционный фактор в генезе мочевого камнеобразования. Урологические ведомости. 2016; 6 (4): 21–27. doi: <https://doi.org/10.17816/uroved6421-27>. [Goloshapov E. T., Chetverikov A. V., Belozеров E. S. The infectious factor in the genesis of urinary stone formation. Urology reports (St.-Petersburg). 2016; 6 (4): 21–27. doi: <https://doi.org/10.17816/uroved6421-27> (in Russian)]
11. Juda M., Korona-Glowniak I., Prystupa A., Malm A. *Streptococcus pneumoniae* as an agent of urinary tract infection. J Pre Clin Clin Res. 2018; 12 (3): 87–88. doi: <https://doi.org/10.26444/jppccr/94205>.
12. Razi A., Ghiaei A., Dolatabadi F K., Haghighi R. Unraveling the association of bacteria and urinary stones in patients with urolithiasis: an update review article. Front Med (Lausanne). 2024 Aug 30; 11: 1401808. doi: 10.3389/fmed.2024.1401808.
13. Calvigioni M., Panattoni A., Biagini F., Donati L., Mazzantini D., Masimino M., Daddi C., Celandroni E., Vozzi G., Ghelardi E. Impact of *Bacillus cereus* on the human gut microbiota in a 3D *in vitro* model. Microorganisms. 2023 Jul 17; 11 (7): 1826. doi: 10.3390/microorganisms11071826.
14. Piccioni A., Rosa E., Manca E., Pignataro G., Zanza C., Savioli G., Covino M., Ojetti V., Gasbarrini A., Franceschi F., Candelli M. Gut microbiota and *Clostridium difficile*: What we know and the new frontiers. Int J Mol Sci. 2022 Nov 1; 23 (21): 13323. doi: 10.3390/ijms232113323.
15. Spigaglia P. *Clostridioides difficile* and gut microbiota: from colonization to infection and treatment. Pathogens. 2024 Jul 31; 13 (8): 646. doi: 10.3390/pathogens13080646.
16. Huang C. Extensively drug-resistant *Alcaligenes faecalis* infection. BMC Infect Dis. 2020 Nov 11; 20 (1): 833. doi: 10.1186/s12879-020-05557-8.
17. Jiang Q., Xu Q., Kenéz Á., Chen S., Yang G. *Klebsiella pneumoniae* infection is associated with alterations in the gut microbiome and lung metabolome. Microbiol Res. 2022 Oct; 263: 127139. doi: 10.1016/j.micres.2022.127139.
18. Vornhagen J., Rao K., Bachman M. A. Gut community structure as a risk factor for infection in *Klebsiella pneumoniae*-colonized patients. mSystems. 2024 Aug 20; 9 (8): e0078624. doi: 10.1128/mSystems.00786-24.
19. Razi A., Ghiaei A., Dolatabadi F K., Haghighi R. Unraveling the association of bacteria and urinary stones in patients with urolithiasis: an update review article. Front Med (Lausanne). 2024 Aug 30; 11: 1401808. doi: 10.3389/fmed.2024.1401808.
20. Wallace B., Chmiel J. A., Al K. F., Bjazevic J., Burton J. P., Goldberg H. A., Razvi H. The role of urinary modulators in the development of infectious kidney stones. J Endourol. 2023 Mar; 37 (3): 358–366. doi: 10.1089/end.2022.0458.

Поступила / Received 15.05.2025

Принята в печать / Accepted 30.05.2025

About the authors

Nikolay V. Sturov — Ph. D. in Medicine, Associate Professor, Head of the Department of General Practice, Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba (RUDN University), Moscow, Russia. ORCID: 0000-0002-3138-8410

Sergey V. Popov — D. Sc. in Medicine, Professor at the Department of General Practice, Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba (RUDN University), Moscow, Russia. ORCID: 0000-0002-0567-4616

Zakhar A. Ivanov — Assistant Professor at the Department of General Practice, Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba (RUDN University), Moscow, Russia. ORCID: 0000-0002-6655-0369

Vladimir A. Zhukov — Ph. D. in Medicine, Associate Professor at the Department of General Practice, Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba (RUDN University), Moscow, Russia. ORCID: 0000-0001-9995-264X

Метаболическая терапия в комплексной реабилитации пациентов после радиочастотной абляции

М. И. ИВАНОВА¹, В. М. ИВАНОВ², А. Ю. ПЕТРОВ³,
А. Л. КОВАЛЕНКО⁴, Е. В. ТАЛИКОВА⁵, К. В. ЛЕНСКАЯ³

¹ ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Минздрава России», Москва, Россия

² Сеть медицинских клиник «ИММА», Москва, Россия

³ ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», «Медицинский институт СПбГУ», Санкт-Петербург, Россия

⁴ ФГБУ «Научно-консультативный центр токсикологии им. С. Н. Голикова ФМБА России», Санкт-Петербург, Россия

⁵ ЧОУ ВО «Санкт-Петербургский медико-социальный институт», Санкт-Петербург, Россия

Резюме

Цель. Оценить эффективность включения препарата цитофлавин в комплексную реабилитацию больных после радиочастотной катетерной абляции. **Материал и методы.** Проанализированы результаты амбулаторного лечения 112 пациентов после проведения радиочастотной абляции, связанной с пароксизмальной формой фибрилляции предсердий. Обследованные были рандомизированы в две группы: в 1-й (основной, $n=59$), помимо стандартной терапии, назначался препарат Цитофлавин (инозин+никотинамид+рибофлавин+янтарная кислота) по двухступенчатой схеме: 20,0 мл внутривенно капельно в 200 мл 0,9% раствора хлорида натрия в течение 10 дней, затем по 2 таблетки 2 раза в день — 20 дней. Во 2-й группе (сравнения, $n=53$) пациенты, помимо стандартной терапии, получали десятидневный курс ежедневных внутривенных капельных инфузий по 10 мл плацебо, разведённого в 200,0 мл 0,9% раствора натрия хлорида, с последующим приёмом экстракта элеутерококка 100 мг по 2 таблетки 2 раза в сутки до еды и комбинированные препараты витаминов группы В в дозировке, рекомендуемой производителем. В динамике (до и после реабилитации) изучалось психоэмоциональное состояние пациентов (с помощью госпитальной шкалы тревоги и депрессии (HADS)) и качество жизни с балльной оценкой субъективных характеристик (с помощью многоцелевого опросника MOS SF-36). **Результаты.** Включение в схемы цитофлавина способствовало более существенному, чем у пациентов контрольной группы, уменьшению выраженности тревожности — в 5,3 раза, в то время как в контрольной — только в 1,75 раза ($p<0,05$), и признаков депрессии — в 2 и 1,5 раза соответственно ($p<0,05$). Эффективность представленной схемы амбулаторного лечения подтверждалась положительной динамикой показателей качества жизни пациентов по всем шкалам SF-36: исходный уровень физического здоровья пациентов 1-й группы повысился с $69,8\pm 13,2$ до $85,6\pm 4,2$ ($p<0,05$), а психического — с $62,3\pm 8,4$ до $78,4\pm 3,2$ ($p<0,05$), в то время как в группе сравнения — с $68,7\pm 13,4$ до $81,2\pm 3,2$ ($p<0,05$) и с $61,4\pm 7,3$ до $71,3\pm 2,2$ ($p<0,05$) соответственно. **Заключение.** Показана эффективность применения препарата цитофлавин в реабилитационном лечении пациентов после радиочастотной катетерной абляции, что проявляется более выраженным улучшением психоэмоционального состояния и качества жизни этих больных.

Ключевые слова: фибрилляция предсердий; депрессия; тревога; качество жизни; цитофлавин; антиоксидант; психоэмоциональное состояние

Для цитирования: Иванова М. И., Иванов В. М., Петров А. Ю., Коваленко А. Л., Таликова Е. В., Ленская К. В. Метаболическая терапия в комплексной реабилитации пациентов после радиочастотной абляции. Антибиотики и химиотер. 2025; 70 (7–8): 41–46. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2025-70-7-8-41-46>. EDN: DBWGNV.

Metabolic Therapy in Complex Rehabilitation of Patients After Radiofrequency Ablation

MARINA I. IVANOVA¹, VYACHESLAV M. IVANOV², ANDREY YU. PETROV³,
ALEKSEY L. KOVALENKO⁴, EKATERINA V. TALIKOVA⁵, KARINA V. LENSKAYA³

¹ Russian Medical Academy of Continuous Professional Education of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

² Medical Clinic Network IMMA, Moscow, Russia

³ Medical Institute of the St. Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia

⁴ Golikov Research Center of Toxicology, Saint Petersburg, Russia

⁵ Saint Petersburg Medical and Social Institute, Saint Petersburg, Russia

Abstract

The aim of the study was to evaluate the effectiveness of including the drug cytoflavin in the complex rehabilitation of patients after radiofrequency catheter ablation. **Material and methods.** The results of outpatient treatment of 112 patients

*Адрес для корреспонденции:
E-mail: e.talikova@mail.ru



EDN: DBWGNV

*Correspondence to:
E-mail: e.talikova@mail.ru



after radiofrequency ablation associated with paroxysmal atrial fibrillation were analyzed. The subjects were randomized into two groups: in group 1 (main, $N=59$), in addition to standard therapy, the drug Cytoflavin (inosine+nicotinamide+riboflavin+succinic acid) was prescribed according to a two-step regimen: 20.0 ml intravenously by drip in 200 ml of 0.9% sodium chloride solution for 10 days, then 2 tablets 2 times a day for 20 days. In the 2nd group (comparison, $N=53$), in addition to standard therapy, patients received a ten-day course of daily intravenous drip infusions of 10 ml of placebo diluted in 200.0 ml of 0.9% sodium chloride solution, followed by eleutherococcus extract 100 mg, 2 tablets 2 times a day before meals, and combination preparations of B vitamins in the dosage recommended by the manufacturer. The psychoemotional state of patients (using the Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS)) and quality of life with a point assessment of subjective characteristics (using the multi-purpose MOS SF-36 questionnaire) were studied dynamically (before and after rehabilitation). **Results.** The inclusion of cytoflavin in the regimens contributed to a more significant reduction in the severity of anxiety compared to the patients in the control group — 5.3 times, while in the control group the reduction amounted to only 1.75 times ($P<0.05$), and signs of depression — 2 and 1.5 times, respectively ($P<0.05$). The effectiveness of the presented outpatient treatment regimen was confirmed by the positive dynamics of patients' quality of life indicators on all SF-36 scales: the initial level of physical health of patients in group 1 increased from 69.8 ± 13.2 to 85.6 ± 4.2 ($P<0.05$), and mental health — from 62.3 ± 8.4 to 78.4 ± 3.2 ($P<0.05$), while in the comparison group — from 68.7 ± 13.4 to 81.2 ± 3.2 ($P<0.05$) and from 61.4 ± 7.3 to 71.3 ± 2.2 ($P<0.05$), respectively. **Conclusion.** The study shows the effectiveness of using Cytoflavin in the early restorative treatment of patients after radiofrequency catheter ablation, which is manifested by a more pronounced improvement in the psychoemotional state and quality of life of these patients.

Keywords: atrial fibrillation; depression; anxiety; quality of life; cytoflavin; antioxidant; psychoemotional state

For citation: Ivanova M. I., Ivanov V. M., Petrov A. Yu., Kovalenko A. L., Talikova E. V., Lenskaya K. V. Metabolic therapy in complex rehabilitation of patients after radiofrequency ablation. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2025; 70 (7–8): 41–46. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2025-70-7-8-41-46>. EDN: DBWGNV. (in Russian)

Введение

Согласно регламентирующим документам, фибрилляция предсердий (ФП) — это самая распространённая разновидность наджелудочковой тахикардии с хаотической электрической активностью предсердий с частотой 350–700 в минуту (с отсутствием Р-волны на ЭКГ), исключающей возможность их координированного сокращения, и, как правило, нерегулярным ритмом желудочков. По данным различных авторов, распространённость ФП в общей популяции составляет 0,4–2%, увеличиваясь до 8–10% в возрастной группе старше 80 лет [1]. В кардиологической практике аритмии обнаруживаются у каждого 3-го пациента. При этом отмечено, что за последние четверть века количество госпитализаций по поводу ФП значительно увеличилось, и по прогнозам экспертов ВНОК, количество пациентов с ФП в ближайшие 50 лет удвоится [2].

Согласно результатам эпидемиологических многоцентровых исследований, практически у каждого 3-го пациента с аритмией существуют выраженные психоэмоциональные расстройства (ПР) в виде тревоги и депрессии, которые расцениваются как факторы риска развития артериальной гипертензии (АГ) и ишемической болезни сердца (ИБС), а также повышают риск сердечной смертности [2, 3]. Кроме того установлено, что распространённость тревожных расстройств в популяции варьирует от 3 до 30%, а 5–12% пациентов, проходящих стационарное лечение из-за аритмий, страдают аффективными (депрессивными) расстройствами. Кроме того, коморбидность депрессивного состояния при аритмиях рассматривается как негативный фактор, усугубляющий исход соматической патологии: согласно результатам исследования КОМПАС (Клинико-эпидемиологическая программа из-

учения депрессии в практике врачей общесоматического профиля), 45% участников указывали на пережитые в течение года стрессы и психотравмирующие ситуации [3].

Частота развития тревожно-депрессивных расстройств (ТДР) у больных ФП, по данным литературы, достигает 80% и является одной из причин как ухудшения приверженности к лечению, так и снижения работоспособности. При этом наличие ФП негативно влияет на психическое состояние больных, способствуя развитию вторичных психовегетативных нарушений и прогрессированию аритмии [3]. Установлена взаимосвязь между ТДР и исходом сердечно-сосудистых заболеваний, что зависит от развития у больных эндотелиальной дисфункции, активации процессов воспаления и агрегации тромбоцитов, гиперактивации симпатической нервной системы и снижении вариабельности сердечного ритма. Кроме того, наличие психоэмоционального расстройства способствуют уменьшению гибкости вегетативной нервной системы, снижая её адаптацию к стрессорным факторам окружающей среды и тем самым увеличивая риск сердечно-сосудистых заболеваний [3].

Установлено, что тревожные расстройства чаще выявлялись у больных с пароксизмальной формой ФП, в то время как депрессия — при персистирующей форме патологии. При этом отмечено, что хронизация ФП происходит быстрее на фоне депрессивных нарушений, чем при повышенной тревожности. Таким образом, дезадаптивные личностные реакции (нозогенные расстройства) и нарушения психической адаптации являются одними из главных условий для возникновения аритмий во время стресса [3, 4].

Наряду с этим, кардиохирургическое лечение также является для пациента специфической

стрессовой ситуацией, связанной с неопределённостью, тревогой, физическим и психологическим дискомфортом. Поэтому актуальность проблемы ТДР у пациентов с ФП определяется не только их распространённостью и дезадаптирующим влиянием, но и тем, что своевременное их распознавание во многих случаях становится решающим условием эффективной терапевтической помощи.

Цель исследования — оценить эффективность включения цитофлавина в комплексную реабилитацию больных после радиочастотной катетерной абляции.

Материал и методы

Дизайн исследования: проспективное открытое одноцентровое рандомизированное плацебо-контролируемое. Проанализированы результаты комплексной реабилитации 112 пациентов (59 мужчин, 53 женщины) после кардиохирургического лечения (радиочастотной абляции — РЧА) по поводу пароксизмальной формы ФП. Средний возраст больных составил 58,3±7,2 года. Средний стаж пароксизмальной формы ФП составил 3,5 года (от 1 до 7 лет). Всем пациентам РЧА выполнялась впервые. Сроки после выписки из стационара и до начала реабилитации составили от 4 до 10 дней. Все пациенты подписали добровольное согласие на участие в исследовании.

Критерии включения: возраст старше 18 лет; установленный диагноз пароксизмальной формы ФП; проведение РЧА во время пребывания в стационаре; добровольное письменное информированное согласие пациента на участие в исследовании; способность выполнять процедуры программы клинического наблюдения; навыки пользования мобильным телефоном и/или электронной почтой.

Критерии исключения: возраст старше 80 лет; острый инфаркт миокарда и другие острые коронарные синдромы; острое нарушение мозгового кровообращения в предшествующие 12 мес.; гемодинамически значимые клапанные пороки сердца; хроническая сердечная недостаточностью III–IV функционального класса по классификации NYHA; острые инфекционные и онкологические заболевания; тяжёлые психические заболевания, алкогольная, наркотическая и иная зависимость; некомпенсированное течение сахарного диабета; наличие тяжёлых когнитивных нарушений (деменция).

Клинико-anamnestические данные пациентов приведены в табл. 1.

Анализ психоэмоционального состояния проводился в динамике (до и после курса реабилитации) с помощью госпитальной шкалы тревоги и депрессии — HADS (Hospital An-

xiety and Depression Scale), верифицированной в РФ, которая состоит из 2 подшкал: тревоги HADS-A и депрессии HADS-D. Оценку КЖ проводили по опроснику MOS SF-36 (MOS 36-Item Short-Form Health Survey), состоящему из 36 пунктов, сгруппированных в 8 шкал: 1) физическое функционирование (Physical Functioning — PF); 2) ролевое функционирование, обусловленное физическим состоянием (Role-Physical Functioning — RP); 3) интенсивность боли (Bodily Pain — BP); 4) общее состояние здоровья (General Health — GH); 5) жизненная активность (Vitality — VT); 6) социальное функционирование (Social Functioning — SF); 7) ролевое функционирование, обусловленное эмоциональным состоянием (Role-Emotional — RE); 8) психическое здоровье (Mental Health — MH). Все опросники пациенты заполняли самостоятельно.

В зависимости от схемы медикаментозной терапии пациенты были разделены на 2 группы: в I (основной, $n=59$), помимо стандартной терапии, назначался препарат цитофлавин (инозин+никотинамид+рибофлавин+янтарная кислота) по двухступенчатой схеме: 20,0 мл внутривенно капельно в 200 мл 0,9% раствора хлорида натрия в течение 10 дней, затем по 2 таблетки 2 раза в день — 20 дней. Больные группы сравнения (II, $n=9$), помимо стандартной терапии, получали десятидневный курс ежедневных внутривенных капельных инфузий по 10 мл плацебо, разведённого в 200,0 мл 0,9% раствора натрия хлорида, с последующим приёмом экстракта элеутерококка 100 мг по 2 таблетки 2 раза в сутки до еды и комбинированные препараты витаминов группы В в дозировке, рекомендуемой производителем.

Полученные в результате беседы и анкетирования данные кодировались и включались в таблицу Excel. Статистическая обработка этих данных выполнена с использованием программного пакета Statistica 12.0 (США). Проверка на нормальность распределения признака осуществлялась при помощи W -теста Шапиро–Уилка. Описательный анализ включал определение среднего арифметического значения (X), ошибки среднего значения (m), критический уровень значимости (p) при проверке статистических гипотез в исследовании принимался $<0,05$.

Результаты

Перед началом реабилитационных мероприятий все пациенты предъявляли жалобы на повышенную раздражительность, высокий уровень невротизации на фоне формирования тревожности и повышенной утомляемости, реактивность настроения, инвертированный суточный ритм и нарушения сна — трудности засыпания, беспокойный сон с частыми пробуждениями, отсутствием ощущения отдыха после пробуждения.

Таблица 1. Клинические характеристики пациентов (абс., %)

Table 1. Clinical characteristics of patients (x-axis, %)

Показатель	Все пациенты, $n=112$	Мужчины, $n=59$	Женщины, $n=53$
Клинические показатели			
Сердцебиение	32 (28,6)	14 (23,7)	18 (33,9)
Головокружение	12 (10,7)	7 (11,9)	5 (9,4)
Одышка	34 (30,3)	16 (27,1)	18 (33,9)
Слабость	61 (54,5)	31 (52,5)	30 (56,6)
Ощущение сдавления и боли в грудной клетке	26 (23,2)	12 (20,3)	14 (26,4)
Головная боль	5 (4,5)	3 (5,1)	2 (3,8)
Сопутствующие заболевания			
Хроническая сердечная недостаточность	41 (36,6)	19 (32,2)	22 (41,5)
Артериальная гипертензия	89 (79,5)	39 (66,1)	50 (94,3)
Ишемическая болезнь сердца	11 (9,8)	6 (10,2)	5 (9,4)
Сахарный диабет 2-го типа	4 (3,6)	1 (1,7)	3 (5,6)

Таблица 2. Динамика показателей тревожно-депрессивных расстройств
Table 2. Dynamics of indicators of anxiety and depressive disorders

Наименование шкалы	Суммарная оценка в баллах ($M \pm m$)			
	I группа ($n=59$)		II группа ($n=53$)	
	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
HADS (тревожность)	18,2 \pm 4,2	3,4 \pm 1,2*	18,1 \pm 4,3	10,3 \pm 3,7*,#
HADS (депрессия)	29,3 \pm 2,5	14,2 \pm 2,1*	28,6 \pm 3,7	18,7 \pm 4,3*,#

Примечание. * — $p < 0,05$ при сравнении внутри группы; # — $p \geq 0,05$ при сравнении между группами.

Note. * — $P < 0.05$ when compared within a group; # — $P \geq 0.05$ when compared between groups.

Таблица 3. Динамика показателей параметров КЖ ($M \pm m$, баллы)
Table 3. Dynamics of QOL parameters

Критерии КЖ	Суммарная оценка в баллах				p
	I группа (n=59)		II группа (n=53)		
	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения	
ФА	69,8±13,2	85,6±4,2	68,7±13,4	81,2±3,2	<0,05
РФ	60,2±27,8	84,1±8,5	61,2±26,8	79,1±7,5	<0,05
Б	63,5±11,4	71,2±8,1	62,8±12,3	65,2±7,1	<0,05
ОЗ	56,8±16,4	75,3±6,4	55,9±13,2	71,3±5,4	<0,05
ЖС	48,6±14,2	65,2±6,3	49,1±15,4	62,2±7,3	<0,05
СА	63,2±12,5	86,3±10,4	62,8±11,5	83,2±12,4	<0,05
РЭ	59,8±19,4	83,2±11,6	58,9±17,4	79,1±10,6	<0,05
ПЗ	62,3±8,4	78,4±3,2	61,4±7,3	71,3±2,2	<0,05

Примечание. ФА — физическая активность; РФ — роль физических нагрузок в ограничении жизнедеятельности; Б — боль; ОЗ — общее здоровье; ЖС — жизнеспособность; СА — социальная активность; РЭ — роль эмоциональных проблем в ограничении жизнедеятельности; ПЗ — психическое здоровье.

Note. ФА — physical activity; РФ — the role of physical activity in limiting life activities; Б — pain; ОЗ — general health; ЖС — vitality; СА — social activity; РЭ — the role of emotional problems in limiting life activities; ПЗ — mental health.

Согласно результатам тестирования по шкале HADS, у 24 (21,4%) больных были выявлены клинически выраженные признаки тревожности, у 21 (18,7%) — выраженная депрессия.

После курса реабилитации средний уровень показателя тревожности в основной группе снизился в 5,3 раза, а в группе сравнения только в 1,75 раза ($p < 0,05$); признаки депрессии — в 2 раза и 1,5 раза соответственно ($p < 0,05$) (табл. 2). При этом признаки субклинической формы депрессии сохранялись у 4 (6,8%) больных основной группы и у 8 (15,1%) — в группе сравнения, $p > 0,05$. У 8 (13,6%) пациентов сохранялись жалобы на умеренные боли в грудной клетке. В то же время в группе сравнения, помимо указанных жалоб, — у 10 (18,9%) больных, двое (3,8%) жаловались на слабость и трое (5,7%) — на сохраняющуюся одышку.

После курса реабилитации выявлено статистически достоверное улучшение параметров КЖ по результатам общего опросника SF-36 (табл. 3). Исключение составил показатель «боль» существенно не изменившийся, что вероятно можно связать с сопутствующей патологией у этой группы больных.

Наиболее выраженная положительная динамика отмечена у пациентов основной группы: раннее и устойчивое улучшение КЖ на уровне физического и психического здоровья (см. табл. 3). При этом исходный уровень физического здоровья пациентов основной группы возрос с 69,8 \pm 13,2 до 85,6 \pm 4,2 ($p < 0,05$), а психического — с 62,3 \pm 8,4 до

78,4 \pm 3,2 ($p < 0,05$), в то время как в группе сравнения — с 68,7 \pm 13,4 до 81,2 \pm 3,2 ($p < 0,05$) и с 61,4 \pm 7,3 до 71,3 \pm 2,2 ($p < 0,05$) соответственно.

Все пациенты получили терапию в полном объеме, нежелательных явлений на введение препарата зарегистрировано не было.

Таким образом, включение в схемы реабилитации пациентов после РЧА цитофлавина оказывает выраженное положительное влияние на их психоэмоциональное состояние, уменьшая проявления депрессии и тревоги и повышая качество жизни больных.

Обсуждение

В структуре кардиологической патологии всё большее значение приобретают аритмии, в частности — фибрилляция предсердий. Клинические проявления патологии сопровождаются в большинстве случаев выраженными психоэмоциональными нарушениями, что играет важную роль в снижении эффективности терапии и качества жизни больных. Хирургическое лечение, в частности радиочастотная абляция, также усиливает признаки тревожности и депрессии у этих больных.

В настоящее время продолжает обсуждаться роль окислительного стресса и нарушений внутриклеточных энергетических процессов, митохондриальной недостаточности и гипоксии в развитии кардиологической патологии и сопровождающих её тревожно-депрессивных расстройств [3, 4].

В связи с этим включение в комплекс лечения препаратов-энергокорректоров представляется перспективным. Цитофлавин (инозин+никотинамид+рибофлавин+янтарная кислота) — метаболитический цитопротектор, антигипоксанта, энергокорректор, обладающий антиоксидантным эффектом. Препарат показал свою эффективность при различной неврологической патологии [5], также есть данные по его положительным эффектам в лечении ишемической болезни сердца и артериальной гипертензии [6, 7]. Экспериментально подтверждена эффективность препарата в коррекции процессов перекисного окисления липидов биомембран у больных с острым инфарктом миокарда за счёт его комплексного воздействия на энергетику и клеточный метаболизм [7].

Заключение

Таким образом, актуальность изучения качества жизни больных в совокупности с уровнем стресса и частоты выявления симптомов тревоги и депрессии у пациентов, перенёсших радиочастотную абляцию по поводу фибрилляции предсердий, не вызывает сомнений.

Литература/References

1. Аракелян М. Г., Бокерия Л. А., Васильева Е. Ю., Голицын С. П., Голухова Е. З., Горев М. В. и др. Фибрилляция и трепетание предсердий. Клинические рекомендации 2020. Российский кардиологический журнал. 2021; 26 (7): 45–94. doi: <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2021-4594>. [Arakelyan M. G., Bockeria L. A., Vasilieva E. Yu., Golitsyn S. P., Golukhova E. Z., Gorev M. V. et al. Clinical guide lines for Atrial fibrillation and atrial flutter 2020. Russian Journal of Cardiology. 2021; 26 (7): 45–94. doi: <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2021-4594>. (in Russian)]
2. Скирденко Ю. П., Жеребилов В. В., Шустов А. В., Николаев Н. А. Фибрилляция предсердий: проблемы и перспективы медицинского сопровождения, лечения и профилактики на современном этапе. Научное обозрение. Медицинские науки. 2016; 3: 115–122. [Skirdenko Yu. P., Zherebilov V. V., Shustov A. V., Nikolaev N. A. Atrial fibrillation: problems and prospects of medical support, treatment and prevention at the present stage. Scientific review. Meditsinskie Nauki. 2016; 3: 115–122 (in Russian)]
3. Вершута В. А., Халилова М. А., Гогниева Д. Г., Богданова Р. С., Сыркина Е. А., Меситская Д. Ф., Копылов Ф. Ю., Сыркин А. Л. Тревожные и депрессивные расстройства у больных с нарушениями сердечного ритма. Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. 2019; 12 (4): 314–320. doi: <https://doi.org/10.17116/kardio201912041314>. [Vershuta V. A., Khalilova M. A., Gognieva D. G., Bogdanova R. S., Syrkina E. A., Mesitskaya D. F., Kopylov F. Yu., Syrkin A. L. Anxiety and depressive disorders in patients with cardiac arrhythmias. Cardiology and Cardiovascular Surgery. 2019; 12 (4): 314–320. doi: <https://doi.org/10.17116/kardio201912041314>. (in Russian)]
4. Марилов В. В., Артемьева М. С., Юровская И. И. Тревожно-депрессивные расстройства и пароксизмальная форма фибрилляции предсердий: психосоматические соотношения. Журнал неврологии и психиатрии им. Корсакова С. С. 2013; 113 (1): 11–14. [Marilov V. V.,

Цитофлавин показал эффективность в схеме реабилитации, что подтверждается улучшением психоэмоционального состояния и качества жизни больных: уменьшением выраженности тревожности в 5,3 раза и депрессии в 2 раза, в то время как в группе сравнения динамика составила 1,75 раза по показателю тревожности и 1,5 раза — по депрессии ($p < 0,05$). По показателю качества жизни пациентов по всем шкалам SF-36 также была выявлена положительная динамика: исходный уровень физического здоровья пациентов I группы повысился с $69,8 \pm 13,2$ до $85,6 \pm 4,2$ ($p < 0,05$), а психического — с $62,3 \pm 8,4$ до $78,4 \pm 3,2$ ($p < 0,05$), в то время как в группе сравнения — с $68,7 \pm 13,4$ до $81,2 \pm 3,2$ ($p < 0,05$) и с $61,4 \pm 7,3$ до $71,3 \pm 2,2$ ($p < 0,05$) соответственно.

Полученные результаты могут послужить основанием для дальнейших исследований в данном направлении.

Дополнительная информация

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

- Artem'eva M. S., Iurovskaia I. I. Anxiety-depressive disorders and paroxysmal atrial fibrillation: the psychosomatic aspects. S. S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry. 2013; 113 (1): 11–14. (in Russian)]
5. Мазин П. В., Шешунов И. В., Мазина Н. К. Метааналитическая оценка клинической эффективности цитофлавина при неврологических заболеваниях Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова 2017; 3: 28–39. doi: <https://doi.org/10.17116/jnevro20171173128-39>. [Mazin P. V., Sheshunov I. V., Mazina N. K. Meta-analytical assessment of the clinical efficacy of cytoflavin in neurological diseases. S. S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry. 2017; 3: 28–39. doi: <https://doi.org/10.17116/jnevro20171173128-39>. (in Russian)]
6. Иванов А. П., Эльгардт И. А. Место цитофлавина в комплексной терапии больных ишемической болезнью сердца с артериальной гипертензией. Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. 2017; 10 (5): 16–19. doi: <https://doi.org/10.17116/kardio201710516-19>. [Ivanov A. P., Elgardt I. A. The place of cytoflavin in the complex therapy of patients with ischemic heart disease with arterial hypertension. Cardiology and Cardiovascular Surgery. 2017; 10 (5): 16–19. doi: <https://doi.org/10.17116/kardio201710516-19>. (in Russian)]
7. Переверзев Д. И., Доровских В. А., Симонова Н. В., Штарберг М. А. Эффективность цитофлавина в коррекции процессов перекисного окисления липидов в плазме крови больных с острым инфарктом миокарда. Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. 2016; 9 (5): 42–45. doi: <https://doi.org/10.17116/kardio20169542-45>. [Pereverzev D. I., Dorovskikh V. A., Simonova N. V., Shtarberg M. A. Efficiency of cytoflavin in correction of lipid peroxidation processes in blood plasma of patients with acute myocardial infarction. Cardiology and Cardiovascular Surgery. 2016; 9 (5): 42–45. doi: <https://doi.org/10.17116/kardio20169542-45>. (in Russian)]

Поступила / Received 08.06.2025

Принята в печать / Accepted 15.06.2025

Информация об авторах

Иванова Марина Игоревна — клинический ординатор, Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Минздрава России», Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0002-5831-3822

Иванов Вячеслав Михайлович — д. м. н., сотрудник сети медицинских клиник «ИММА», Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0001-5045-4148

Петров Андрей Юрьевич — к. фарм. н., лауреат премии Правительства РФ в области науки и техники, доцент кафедры фармации ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», «Медицинский институт СПбГУ», Санкт-Петербург, Россия. ORCID ID: 0000-0001-6204-0145

Коваленко Алексей Леонидович — д. б. н., к. х. н., лауреат премии Правительства РФ в области науки и техники, ведущий научный сотрудник химико-аналитического отдела ФГБУ «Научно-консультативный центр токсикологии им. С. Н. Голикова ФМБА России», Санкт-Петербург, Россия. ORCID ID: 0000-0003-3695-2671

Таликова Екатерина Владимировна — к. м. н., доцент кафедры патологии и судебной медицины ЧОУ ВО «Санкт-Петербургский медико-социальный институт», Санкт-Петербург, Россия. ORCID ID: 0000-0001-6509-9425

Ленская Карина Владимировна — д. б. н., профессор, заведующая кафедрой фармации Медицинского института СПбГУ, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия. ORCID ID: 0000-0002-5443-378X. SPIN-код: 4583-2566. AuthorID: 629922

About the authors

Marina I. Ivanova — Clinical Resident, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0002-5831-3822

Vyacheslav M. Ivanov — D. Sc. in Medicine, employee at the Medical Clinic Network IMMA, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0001-5045-4148

Andrey Yu. Petrov — Ph. D. in Pharmaceutical Sciences, Laureate of the Russian Federation Government Prize in Science and Technology, Associate Professor of the Pharmacy Department, Medical Institute of the St. Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia. ORCID ID: 0000-0001-6204-0145

Aleksey L. Kovalenko — D. Sc. in Biology, Ph. D. in Chemistry, Laureate of the Russian Federation Government Prize in Science and Technology, Leading Researcher at the Chemical and Analytical Department, Golikov Research Center of Toxicology, Saint Petersburg, Russia. ORCID ID: 0000-0003-3695-2671

Ekaterina V. Talikova — Ph. D. in Medicine, Associate Professor at the Department of Pathology and Forensic Medicine, Saint Petersburg Medical and Social Institute, Saint Petersburg, Russia. ORCID ID: 0000-0001-6509-9425

Karina V. Lenskaya — D. Sc. in Biology, Professor, Head of the Department of Pharmacy, Medical Institute of the St. Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia. ORCID ID: 0000-0002-5443-378X. SPIN-code: 4583-2566. AuthorID: 629922

Диагностика нозокомиальной пневмонии

Д. Н. ПРОЦЕНКО^{1,2}, *Б. З. БЕЛОЦЕРКОВСКИЙ^{1,2}, М. И. МАТЯШ¹,
А. Н. КРУГЛОВ¹, А. О. БЫКОВ^{1,2}, Е. М. ШИФМАН^{2,3}

¹ ГБУЗ города Москвы «Московский многопрофильный клинический центр «Коммунарка» Департамента здравоохранения города Москвы», Москва, Россия

² ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия

³ ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского, Москва, Россия

Резюме

Актуальность. Нозокомиальная пневмония (НП), особенно связанная с проведением ИВЛ (НПивл), остаётся одним из ведущих инфекционных осложнений в отделениях интенсивной терапии в условиях растущей устойчивости возбудителей к антибиотикам и ассоциируется с высокой летальностью. **Цель.** Представить современные подходы к диагностике нозокомиальной пневмонии с акцентом на клинические, лабораторные, радиологические и ультразвуковые методы, а также на интегральные шкалы и экспресс-тесты. **Методы.** Проведён анализ российских и международных клинических рекомендаций, оригинальных исследований и систематических обзоров, опубликованных в 1991–2025 гг., посвящённых эпидемиологии, диагностике и дифференциальной диагностике НП. Особое внимание уделено методам визуализации (рентгенография органов грудной клетки, компьютерная томография, ультразвуковое исследование лёгких), биомаркерам и молекулярным технологиям быстрой идентификации возбудителей. **Результаты.** Диагностика НП основывается на комбинации клинико-лабораторных признаков и методов визуализации, однако их чувствительность и специфичность ограничены. Шкала CPIS остаётся наиболее распространённой, но обладает недостаточной точностью. Новые интегральные шкалы (CEPPIS, VPLUS) и ультразвуковые протоколы повышают надёжность диагностики, а молекулярные экспресс-методы обеспечивают раннее выявление возбудителей, их механизмов резистентности и своевременное начало адекватной этиотропной антибиотикотерапии. **Заключение.** Повышение точности диагностики НП возможно при интеграции клинических данных, инструментальных методов и современных экспресс-тестов. Ультразвуковая диагностика в сочетании с биомаркерами и молекулярными методами является перспективным направлением для персонализированного подхода в лечении заболевания.

Ключевые слова: нозокомиальная пневмония; диагностика; ультразвуковое исследование лёгких; лучевая диагностика; компьютерная томография; биомаркеры; молекулярные диагностические методы; антибиотикорезистентность

Для цитирования: Проценко Д. Н., Белоцерковский Б. З., Матяш М. И., Круглов А. Н., Быков А. О., Шифман Е. М. Диагностика нозокомиальной пневмонии. *Антибиотики и химиотер.* 2025; 70 (7–8): 47–67. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2025-70-7-8-47-67>. EDN: XBHHXB.

Diagnosis of Hospital-Acquired Pneumonia

DENIS N. PROTSSENKO^{1,2}, BORIS Z. BELOTSEKOVSKIY^{1,2}, MAKSIM I. MATYASH¹,
ALEXANDER N. KRUGLOV¹, ANDREY O. BYKOV^{1,2}, EFIM M. SHIFMAN^{2,3}

¹ Moscow Multidisciplinary Clinical Center «Kommunarka», Moscow, Russia

² Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

³ Moscow Regional Clinical Research Institute named after M. F. Vladimirovsky (MONIKI), Moscow, Russia

Abstract

Relevance. Hospital-acquired pneumonia (HAP), particularly ventilator-associated pneumonia (VAP), remains one of the leading infectious complications in intensive care units in the context of increasing antimicrobial resistance and is associated with high mortality rates. **The aim of the study** was to present current approaches to the diagnosis of HAP with emphasis on clinical, laboratory, radiological, and ultrasound methods, as well as integrated scoring systems and rapid diagnostic tests. **Methods.** The study analyzes Russian and international clinical guidelines, original studies, and systematic reviews published between 1991 and 2025, focusing on the epidemiology, diagnosis, and differential diagnosis of HAP. Special attention was given to imaging methods (chest X-ray, computed tomography, lung ultrasound), biomarkers, and molecular technologies for rapid pathogen identification. **Results.** HAP diagnosis is based on a combination of clinical and laboratory findings and imaging methods, but their sensitivity and specificity remain limited. The CPIS score is still the most widely used, yet it lacks sufficient accuracy. New integrated scores (CEPPIS, VPLUS) and ultrasound-based pro-

*Адрес для корреспонденции:
E-mail: belotserkovskii@mail.ru



EDN: XBHHXB

*Correspondence to:
E-mail: belotserkovskii@mail.ru



protocols improve diagnostic reliability, while molecular rapid tests enable early detection of pathogens, their resistance mechanisms, and timely initiation of adequate etiotropic antibiotic therapy. **Conclusion.** Improving diagnostic accuracy of HAP is possible through integration of clinical data, instrumental methods, and modern rapid tests. Lung ultrasound combined with biomarkers and molecular techniques represents a promising direction for a personalized approach to disease management.

Keywords. Hospital-acquired pneumonia; diagnosis; lung ultrasound; radiological diagnosis; computed tomography; biomarkers; molecular diagnostic methods; antimicrobial resistance.

For citation: Protsenko D. N., Belotserkovskiy B. Z., Matyash M. I., Kruglov A. N., Bykov A. O., Shifman E. M. Diagnosis of hospital-acquired pneumonia. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2025; 70 (7–8): 47–67. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2025-70-7-8-47-67>. EDN: XBHHXB. (in Russian)

Введение

Нозокомиальная пневмония представляет собой серьёзную проблему для современной медицины, особенно в отделениях реанимации и интенсивной терапии. Эта внутрибольничная инфекция, вызванная возбудителями с повышенной антибиотикорезистентностью, значительно ухудшает результаты лечения стационарных пациентов и увеличивает экономическое бремя для системы здравоохранения.

Пневмонии — группа различных по этиологии, патогенезу, морфологической характеристике острых инфекционных (преимущественно бактериальных) заболеваний, характеризующихся очаговым поражением респираторных отделов лёгких с обязательным наличием внутриальвеолярной экссудации [1].

Нозокомиальная (госпитальная, внутрибольничная) пневмония — пневмония, развивающаяся через 48 ч и более после госпитализации в стационар.

Нозокомиальная пневмония, связанная с проведением ИВЛ (НПивл) — пневмония, развившаяся не ранее чем через 48 ч от момента интубации трахеи и начала проведения ИВЛ, при отсутствии признаков лёгочной инфекции на момент интубации [2].

Нозокомиальный трахеобронхит, связанный с проведением ИВЛ (НТивл) (вентилятор-ассоциированный трахеобронхит), — трахеобронхит, развившийся не ранее чем через 48 ч от момента интубации трахеи и начала проведения ИВЛ, при отсутствии признаков лёгочной инфекции на момент интубации. В отличие от нозокомиальной пневмонии, при трахеобронхите отсутствуют новые инфильтраты на рентгенограмме и компьютерной томограмме грудной клетки, а системная воспалительная реакция нередко слабо выражена [2–5].

В литературе можно встретить традиционное деление НП на раннюю и позднюю:

— ранняя НП, возникающая в течение первых 4 дней с момента госпитализации, для которой характерны возбудители, чувствительные к традиционно используемым антибактериальным препаратам.

— поздняя НП, развивающаяся не ранее пятого дня госпитализации, которая характеризу-

ется высоким риском инфицирования полирезистентными бактериями и менее благоприятным прогнозом.

По нашему мнению, выделение ранней и поздней НП является в значительной мере условным, поскольку в ряде случаев, например, на фоне назначения антибиотиков с лечебной или профилактической целью, антибиотикорезистентные возбудители могут участвовать в этиологии пневмонии, возникающей на ранних сроках госпитализации [6]. Нередко имеет место поступление в стационар пациентов, колонизированных устойчивыми микроорганизмами, например, энтеробактериями-продуцентами БЛРС. Обычно при тщательном изучении анамнестических данных у таких пациентов можно выявить госпитализации и/или лечение антибиотиками на протяжении предшествующих трёх месяцев, тяжёлые сопутствующие заболевания, прежде всего, сахарный диабет, пребывание в учреждениях длительного ухода [7, 8]. Вызовом последнего десятилетия явилось распространение во внебольничной среде носительства генов-детерминант устойчивости к карбапенемам и колонизации нечувствительными к карбапенемам возбудителями [9–11]. По нашим данным, предикторами догоспитальной колонизации карбапенеморезистентными микроорганизмами являются: приём цитостатиков, перевод из другого стационара, потребность в вазопрессорной поддержке, приём антибиотиков в предшествующие 3 мес. и мужской пол [12].

Таким образом, с практической точки зрения для оптимизации стартовой антибиотикотерапии НП более целесообразна стратификация пациентов в зависимости от наличия факторов риска антибиотикорезистентности возбудителей [2].

Актуальность проблемы

По данным российского исследования распространённости и клинического значения нозокомиальных инфекций в лечебных учреждениях ЭРГИНИ, инфекции нижних дыхательных путей являются наиболее частыми (42,4%), причём 1/3 из них приходится на НПивл [13]. О наибольшей распространённости инфекций нижних дыхательных путей среди всех инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП), свидетель-

ствуют и российские официальные статистические данные. По сведениям Государственных докладов «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации» за годы, предшествовавшие пандемии новой коронавирусной инфекции, на долю инфекций нижних дыхательных путей и пневмоний приходилось до 31% всех ИСМП. В 2020–2023 гг. на первом месте в структуре ИСМП были случаи COVID-19, однако в 2024 г. инфекции нижних дыхательных путей и пневмонии вновь заняли лидирующие позиции (32,2%) [14].

В связи с неопределённостью диагностических критериев и трудностью дифференциальной диагностики, особенно у пожилых пациентов с сопутствующими заболеваниями, в настоящее время отсутствуют точные данные об инцидентности НП [15, 16]. В литературе последних лет приводятся различные сведения об эпидемиологии НП в зависимости от региона. В Северной Америке заболеваемость составляет от 1–2,5 случаев, а в европейских центрах, по данным исследования EUVAP/CAP, более 18 случаев на 1000 дней ИВЛ [17, 18]. Особенно высока инцидентность НП в когорте онкологических пациентов, где этот показатель (без учёта нуждающихся в паллиативной помощи) достигает 24,5 случаев [19].

Сведения о месте НП в структуре внутрибольничных инфекций в отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) противоречивы. Ранние международные эпидемиологические исследования свидетельствуют о наибольшей распространённости пневмоний в ОРИТ [20, 21], однако по данным источников литературы последних лет, НП уступает первое место инфекциям мочевыводящих путей или инфекциям кожи и мягких тканей [22]. Указанная динамика может быть объяснена как совершенствованием профилактики этого осложнения, так и отсутствием стандартизированных диагностических критериев НП либо особенностями статистического учёта. Трудности диагностики НП на фоне ИВЛ побудили Центры по контролю и профилактике заболеваний (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) перейти от учёта вентилятор-ассоциированных пневмоний к регистрации вентилятор-ассоциированных событий. Этот подход направлен на выявление ухудшений респираторной функции вне зависимости от причины. Важно отметить, что учёт вентилятор-ассоциированных событий важен для эпидемиологических целей, но не для реальной клинической практики [23].

Большая часть (83%) НП в ОРИТ связана с проведением ИВЛ [24], причём в когорте пациентов, нуждающихся в инвазивной респираторной поддержке, НПивл является наиболее часто встречающейся госпитальной инфекцией [25].

НП значительно увеличивает среднюю продолжительность ИВЛ и среднюю продолжитель-

ность пребывания в ОРИТ выживших пациентов [26]. Значимость проблемы НП в интенсивной терапии увеличивает и тот факт, что более половины всех антибиотиков в ОРИТ назначают пациентам с нозокомиальной инфекцией дыхательных путей [20]. Риск смерти при НП выше, чем при других нозокомиальных инфекциях [27, 28]. Несмотря на усилия, направленные на оптимизацию диагностики и лечения НП, летальность при этом осложнении достигает в развитых странах 24–50%, возрастая до 76% у пациентов, инфицированных полирезистентными возбудителями [18, 29]. В литературе приводятся разноречивые сведения об атрибутивной летальности, связанной с НП. По данным метаанализа РКИ, посвящённых профилактике НП, атрибутивная летальность составляет 13%, причём у хирургических пациентов этот показатель может быть ещё выше [30].

Методы диагностики нозокомиальной пневмонии

Несмотря на то, что результат лечения пациентов с НП зависит от комплексного взаимодействия множества факторов, ведущую роль играет точная и своевременная диагностика этого осложнения, которая позволяет незамедлительно начать адекватное лечение [31]. Для диагностики НП применяют клинические, лабораторные, функциональные, рентгенологические и радиологические, ультразвуковые и микробиологические критерии, однако ни один из клинических или параклинических признаков не обладает ни абсолютной чувствительностью, ни абсолютной специфичностью [32, 33]. В настоящей публикации мы обсуждаем традиционные и современные методы клинической, инструментальной и лабораторной диагностики НП, потенциально способные улучшить результаты лечения этого грозного осложнения.

Клинические признаки

В 2008 г. Centers for Disease Control and Prevention впервые опубликовали общепринятые в настоящее время диагностические критерии нозокомиальной пневмонии [34]:

Системные критерии (по крайней мере один из следующих):

1. Лихорадка (более 38°C).
2. Лейкопения (менее 4000 лейкоцитов/мкл) или лейкоцитоз (более 12 000 лейкоцитов/мкл).
3. Для взрослых старше 70 лет — изменённое психическое состояние, необъяснимое другой причиной.

Лёгочные критерии, по крайней мере два из следующих:

1. Появление гнойной мокроты или изменение характера мокроты, или увеличение количества секрета трахеобронхиального дерева, или увеличение потребности в аспирационной санации.

2. Появление или усугубление кашля, диспноэ или тахипноэ.

3. Хрипы или бронхиальное дыхание.

4. Ухудшение газообмена (дыхательный коэффициент ≤ 240 , увеличение потребности в кислороде, увеличение зависимости от респиратора).

Клинико-лабораторные критерии предлагается комбинировать с рентгенологическими признаками пневмонии, к которым относят:

1. Новые или прогрессирующие и стойкие инфильтраты.

2. Консолидация.

3. Кавитация.

Установлено, что попытка диагностики НП исключительно на основании клинических признаков оставляет невыявленными до трети случаев. У большинства пациентов ОРИТ после 48 ч ИВЛ даже в отсутствие НП имеются новые или прогрессирующие инфильтраты на рентгенограмме или компьютерной томограмме, тахикардия, лихорадка, лейкоцитоз или лейкопения, гнойный секрет трахеобронхиального дерева [18, 35].

В 2020 г. был опубликован метаанализ 25 исследований, посвящённых диагностике НП [33], согласно которому наличие гипертермии имело взвешенную чувствительность 66,4% (95% ДИ 40,7–85,0) и специфичность 53,9% (95% ДИ 34,5–72,2). Гнойный характер секрета дыхательных путей обладал чувствительностью 77,0% (95% ДИ 64,7–85,9) и специфичностью 39,0% (95% ДИ 25,8–54,0). Чувствительность такого признака, как наличие инфильтратов на рентгенограмме грудной клетки в прямой проекции, составила 88,9% (95% ДИ 73,9–95,8), а специфичность — 26,1% (95% ДИ 15,1–41,4). Лейкоцитоз имел взвешенную чувствительность 64,2% (95% ДИ 46,9–78,4) и специфичность 59,2% (95% ДИ 45,0–72,0), причём в ряде работ лейкоцитоз определяли как количество лейкоцитов $\geq 10 \times 10^9/\text{л}$, а в других — $\geq 12 \times 10^9/\text{л}$.

Рентгенологические признаки

Рентгенография органов грудной клетки является наиболее доступным методом визуализации лёгочной ткани и, как показал недавний анализ, наиболее часто используется в реальной клинической практике [36].

Изображение, получаемое с помощью рентгенографии органов грудной клетки, позволяет судить о вентиляции альвеол, которая может быть нарушена наличием транссудата, экссудата, крови, клеточного детрита и материальных частиц [37]. Заполнение альвеол этими жидкостями и элементами формирует классические радиоло-

гические признаки пневмонии, такие как инфильтраты лёгочной ткани с воздушной бронхограммой, ателектазы, нечёткость силуэта тени срединных структур, зоны консолидации [38].

Преимущества метода:

— доступность;

— неинвазивность;

— возможность применения в месте оказания медицинской помощи;

— низкая доза облучения (0,1 мЗв, что сопоставимо с дозой естественного фонового излучения, получаемой в течение 10 дней) [16].

Ограничения метода:

— тяжесть состояния в большинстве случаев исключает возможность получения рентгенограммы в боковой проекции;

— множество неинфекционных состояний вызывает рентгенологическую картину, похожую на НП;

— разногласия между рентгенологами относительно интерпретации снимков;

— нормальная рентгенограмма лёгких не исключает наличия заболевания лёгких, в частности, у пациентов с иммунодефицитом [39];

— рентгенограмма грудной клетки динамически изменяется у пациентов, которым проводят ИВЛ, в зависимости от параметров респираторной поддержки.

Рентгенограмма ОГК способна выявить распространённость патологического процесса, а также обнаружить осложнения (например, пневмоторакс, плевральный выпот) [40]. В настоящее время отказались от ежедневного рентгенологического исследования у пациентов ОРИТ. Контрольная рентгенография рекомендуется через 48–72 ч после начала лечения, а также в любое время при подозрении на развитие осложнений ИВЛ. Следует отметить, что изменение рентгеновской картины в течение нескольких часов чаще всего бывает связано с ателектазированием, улучшение на рентгенограмме на протяжении нескольких часов и дней обычно соответствует купированию гидростатического отёка или геморрагического пропитывания, в то время как характерные для пневмонии рентгенологические изменения при условии адекватной терапии разрешаются в течение 4–6 нед. [37].

Диагностическую значимость рентгенологических признаков НП впервые изучили R. G. Wunderink и соавт. [41], используя в качестве референтного метода гистологическое исследование аутопсийного материала. По данным этих авторов, наличие альвеолярной инфильтрации оказалось высокочувствительным (87,5%), но недостаточно специфичным (25,6%) признаком. Воздушная бронхография продемонстрировала высокую чувствительность (83,3%) и умеренную специфичность (57,8%).

В ряде работ изучали диагностическую ценность комбинации рентгенографии с другими методами. В трёх исследованиях [35, 42, 43] оценили комбинацию клинических симптомов в сочетании с инфильтратами на рентгенограмме грудной клетки. Одновременно наличие инфильтрации и ≥ 1 клинико-лабораторных признаков (лихорадка, гнойный характер секрета н. д. п., лейкоцитоз) имело чувствительность 65–85% и специфичность 33–36%, в то время как инфильтрация в сочетании со всеми тремя признаками обладали низкой чувствительностью (16–23%), но весьма высокой специфичностью (91–92%).

Недавний метаанализ также показал, что наличие инфильтратов на рентгенограмме имеет достаточно высокую чувствительность, но крайне низкую специфичность по сравнению с гистологическим исследованием лёгочной паренхимы. Комбинация с клиническими признаками повышает специфичность, но почти пропорционально ограничивает чувствительность [33].

Компьютерная томография

Компьютерная томография (КТ) остаётся «золотым стандартом» визуализации для выявления патологии лёгких и способна более точно по сравнению с рентгенографией дифференцировать ателектазы и пневмонию, особенно у пациентов в критических состояниях. КТ обладает высокой чувствительностью, позволяющей обнаруживать нежные инфильтраты, которые обычно «пропускает» рентгенография. Вместе с тем, и КТ не лишена ряда существенных недостатков, которые ограничивают её применение [16]. Во-первых, наряду с весьма высокой чувствительностью КТ имеет низкую специфичность: в то время как отсутствие изменений на КТ практически исключает инфекцию лёгких, наличие инфильтрации или консолидации не всегда соответствует пневмонии, поскольку другие заболевания имеют сходные радиологические признаки. Другим существенным недостатком КТ является необходимость транспортировки больного к томографу, что для пациентов ОРИТ сопряжено с серьёзным риском. Установлено, что внутригоспитальная транспортировка в 2–3 раза повышает риск дислокации эндотрахеальной трубки, развития пневмоторакса и ателектазов [44]. Использование портативных КТ-сканнеров позволяет избежать вышеописанные риски и сделать КТ выполнимой для наиболее нестабильных пациентов, однако эти устройства малодоступны, а их применение сопряжено с дополнительной лучевой нагрузкой для пациентов и персонала ОРИТ [16]. К серьёзным недостаткам метода следует отнести и высокую лучевую нагрузку, что ограничивает возможность серийных исследований [45].

С целью снижения лучевой нагрузки были разработаны низкодозовые и ультранизкодозовые режимы КТ, уровень радиации при использовании которых сопоставим с рентгенографией (НДКТ 1–1,5 мЗв и рентгенография 0,1 мЗв) [16, 46]. Следует отметить, что эта методика не валидирована для пациентов ОРИТ, большая часть данных экстраполирована с когорты пациентов с внебольничной пневмонией [46–48]. Для определения диагностической значимости низкодозовых режимов у пациентов в критических состояниях необходимы крупномасштабные хорошо организованные исследования.

Ультразвуковая диагностика

Ультразвуковое исследование лёгких (УЗИ лёгких) в настоящий момент является не только важным диагностическим инструментом, но и позволяет проводить динамический мониторинг состояния лёгочной паренхимы, а также прогнозировать успех перевода пациента на спонтанное дыхание.

К преимуществам ультрасонографии можно отнести:

- *Доступность.* Согласно Приказу Минздрава РФ от 15.11.2012 N 919Н, отделения анестезиологии и реанимации должны быть оснащены портативными ультразвуковыми диагностическими аппаратами [49]. Для ультразвукового исследования лёгких подходит самое простое и доступное оборудование [50].
- *Мобильность.* Возможность проведения исследования непосредственно в месте оказания помощи (POCUS — point-of-care ultrasound) позволяет оперативно принимать клинические решения и корректировать терапию у пациентов в критическом состоянии [51].
- *Безопасность.* Отсутствие ионизирующего излучения делает метод безопасным даже при многократных исследованиях, а также при обследовании уязвимых групп пациентов, таких как дети и беременные женщины.
- *Воспроизводимость.* Согласно Приказу Минтруда РФ от 27.08.2018 N 554Н «Об утверждении профессионального стандарта «Врач — анестезиолог-реаниматолог» врач-анестезиолог-реаниматолог должен владеть методами ультразвукового мониторинга в том числе для распознавания пневмоторакса и свободной жидкости в плевральных полостях [52]. При использовании стандартизированных протоколов исследования и описания результатов, а также при прохождении обучения (в том числе онлайн-программ) метод демонстрирует высокую межоператорскую воспроизводимость. Это позволяет оценивать динамику изменений лёгочной паренхимы для коррекции терапевтиче-

ской тактики (смена антибактериальной терапии, изменение параметров ИВЛ) [53–55].

Ограничения:

- *Отсутствие специфических критериев.* На данный момент не существует специфических ультразвуковых критериев, позволяющих однозначно установить диагноз внутрибольничной пневмонии. Это связано с тем, что многие патологические процессы (например, отёк, ателектаз, ХОБЛ) могут давать схожую УЗИ-картину.

- *Технические и анатомические ограничения.* Неправильное положение пациента, ожирение, эмфизема, наличие повязок или дренажей в области сканирования, а также локализация патологического процесса под рёбрами, лопатками или в центре лёгкого затрудняют проведение исследования или делают его невозможным.

- *Зависимость от опыта оператора.* Неопытность специалиста может приводить к ошибкам в интерпретации УЗИ-изображений. Перспективным направлением является внедрение искусственного интеллекта для автоматизированной интерпретации изображений, что позволит снизить риск ошибок в спорных клинических ситуациях [51].

Выбор датчика

- *Линейный датчик (5–15 МГц).* Обеспечивает высокое разрешение изображения, что делает его оптимальным для оценки поверхностных структур, таких как плевра и субплевральные консолидации.

- *Криволинейный (конвексный) датчик (2–7,5 МГц).* Имеет большую площадь излучения, что позволяет получать широкое изображение глубоко расположенных структур, однако с меньшим разрешением. Он предпочтителен при оценке глубоких очагов консолидации.

Режимы визуализации

- *В-режим (Brightness mode).* При этом режиме изображение формируется за счёт изменения яркости каждого принятого ультразвукового сигнала.

- *М-режим (Motion mode).* Представляет собой графическое отображение движения структур вдоль ультразвукового луча во времени.

Для корректного отображения артефактов, возникающих во время ультрасонографии лёгких и являющихся основой метода, рекомендуется отключать фильтры (compounding, Frame Average/Persistence и др.) и настройки гармонической визуализации или использовать предустановленные режимы сканирования, оптимизированные для исследования лёгких [56].

Основные артефакты и ультразвуковые признаки

- *А-линии* — являются повторением плевральной линии, указывают на сохранённую аэрацию в зоне сканирования и расположены друг от

друга на одинаковом расстоянии (равному дистанции от кожи до плевральной линии) [50].

- *В-линии* — вертикальные гиперэхогенные артефакты, идущие от плевры к нижнему краю экрана, вызывающие исчезновение А-линий, перемещающиеся вместе с движением плевры.

- *«Скольжение» лёгкого (В-режим)* — мерцание на плевральной линии («бег муравьёв») — движение висцерального листка плевры относительно париетального листка с каждым дыхательным циклом.

- *«Морской берег» (М-режим)* — статичные, горизонтальные поверхностные линии — «волны» (подкожно-жировая клетчатка, мышцы, париетальная плевра) и зернистая область под ними — «песок» — движение висцеральной плевры и лёгких («скольжение» лёгкого в В-режиме).

- *«Штрих-код» (М-режим)* — статичные, горизонтальные линии на протяжении всей зоны сканирования, возникающие при прекращении движения висцерального листка плевры относительно париетального (пневмоторакс, ХОБЛ, плеврит).

- *«Точка» лёгкого* — граница пневмоторакса, место, где восстанавливается движение плевры и соответствующие этому ультразвуковые признаки.

- *«Пульс» лёгкого* — передне-заднее движение плевры, связанное с передачей сердечных импульсов.

- *Знак летучей мыши (В-режим)* — силуэт, образованный двумя рёбрами и плевральной линией.

- *Консолидация* — тканеподобная структура вследствие уплотнения лёгочной паренхимы из-за заполнения альвеол различным содержимым.

- *Бронхограмма* — светлые точки или линии — просветы бронхов, заполненные воздухом.

Положение пациента и протоколы сканирования

Исследование проводят с учётом положения пациента, которое обязательно указывают в описании результатов (сидя, лёжа, на боку), так как под влиянием гравитации газ стремится к небу, а жидкость к земле, что необходимо помнить [50].

Протокол обследования каждого гемиторакса в шести зонах:

- Передние зоны: верхняя и нижняя (между грудиной и передней подмышечной линией).

- Боковые зоны: верхняя и нижняя (между передней и задней подмышечными линиями).

- Задние зоны: верхняя и нижняя (между задней подмышечной линией и позвоночником).

Для каждой исследованной области наихудший результат сообщается в простых флажках в соответствии со следующей оценкой:

- норма: 0;

- ≥ 3 отдельных (≥ 7 мм) В-линии: 1;

- сливающиеся (≤ 3 мм) В-линии: 2;
- консолидация: 3.

Кумулятивный балл ультразвукового исследования лёгких (LUS) соответствует сумме баллов каждой исследованной области (минимальный балл, нормальные лёгкие: 0; максимальный балл, оба консолидированных лёгких: 36) [57].

Использование расширенных протоколов с большим количеством зон сканирования требует увеличения временных затрат на исследование при минимальных диагностических преимуществах [58].

Нормальная ультразвуковая картина лёгких в В-режиме характеризуется:

- Гиперэхогенной плевральной линией.
- «Скольжением» лёгкого
- А-линиями.
- Единичными В-линиями (не более 2–3 в одном межреберье).
- Диафрагмой (в нижних зонах сканирования) — гиперэхогенной изогнутой линией, являющейся ориентиром, отграничивающим грудную полость от брюшной.

В М-режиме нормальная ультрасонограмма лёгких представлена в виде «морского берега».

Ультразвуковая картина пневмонии

Ранние изменения

• *Мелкие субплевральные консолидации.* На ранних стадиях воспалительного процесса наблюдаются небольшие гипозоногенные участки с нечёткими границами, прилегающими к плевре. При ежедневных исследованиях появление субплевральных консолидаций в передних областях сканирования является наиболее ранним признаком НПивл [59]. Допплеровское исследование может выявлять древовидный сосудистый рисунок.

Прогрессирование заболевания

• *Гепатизация лёгочной ткани.* При прогрессировании воспалительного процесса очаги консолидации увеличиваются, а их эхоструктура становится похожей на печень.

• *Воздушные бронхограммы.* Внутри очагов консолидации могут визуализироваться воздушные бронхограммы — линзовидные гиперэхогенные структуры, отражающие просвет бронхов. Высокоспецифичным признаком пневмонии (внебольничной или нозокомиальной) является динамическая воздушная бронхограмма, при которой наблюдается движение воздуха в бронхах во время дыхательного цикла, что свидетельствует о проходимости бронхов.

• *В-линии («кометы лёгкого»).* В прилежащих к консолидации участках лёгкого могут появляться многочисленные В-линии — «кометы лёгкого» — в количестве 3 и более в одном межрёберном промежутке, свидетельствующие об интерстициальных изменениях. В-линии можно считать ультразвуковым эквивалентом рентгенологических В-линий

Керли, которые указывают на отёк лёгких. Количество В-линий тесно коррелирует с количеством внесосудистой воды лёгких и давлением заклинивания лёгочной артерии. В то же время в фазе разрешения пневмонии появление В-линий в ранее консолидированных участках указывает на усиление аэрации лёгких. Таким образом, УЗИ лёгких можно использовать для мониторинга прогрессирования пневмонии. КТ лёгких и УЗИ тесно коррелируют как методы оценки реаэрации.

• *Воспалительный экссудат.* Возможно скопление плевральной жидкости в прилежащей к участку консолидации области с исчезновением феномена «скольжения лёгкого». Ультразвуковая оценка плевральных выпотов имеет большую чувствительность в сравнении с рентгенологическим исследованием. Сепарация (Sep) листов плевры при сканировании по задней подмышечной линии и предположительный объём выпота, рассчитанный по формуле $V \text{ (мл)} = 20 \times \text{Sep (мм)}$, тесно коррелировали с объёмом выпота, полученным при торакоцентезе [60, 61].

Дифференциальная диагностика

При УЗИ лёгких пневмонию необходимо дифференцировать с рядом других патологических состояний:

• *Кардиогенный отёк лёгких.* Множественные В-линии в сочетании с клинико-лабораторными данными, такими как повышение уровня NT-proBNP и соответствие Фрамингемским критериям хронической сердечной недостаточности, позволяют установить диагноз кардиогенного отёка лёгких. Наличие ≥ 9 В-линий имеет высокую специфичность (до 100%) для сердечной астмы.

• *Ателектазы.* Отличительной чертой ателектаза является статическая (неподвижная) воздушная бронхограмма, обусловленная обструкцией бронха и отсутствием нормального движения воздуха.

• *Пневмоторакс.* Ультразвуковое исследование имеет большую чувствительность в сравнении с рентгеном при выявлении пневмоторакса [62]. При исчезновении «скольжения» лёгкого предполагаемый диагноз подтверждают определением «точки» лёгкого. Исключают пневмоторакс в зоне сканирования при выявлении одного из следующих признаков: «скольжение» лёгкого, «пульс» лёгкого, В-линии.

• *Хроническая обструктивная болезнь лёгких (ХОБЛ).* При ХОБЛ преобладают А-линии, отсутствуют выраженные участки консолидации, а «скольжение» лёгкого может быть ослаблено, но в отличие от пневмоторакса, «точка» лёгкого не определяется.

• *Нозокомиальный трахеобронхит.* LUS ≥ 22 имеет чувствительность 85% и специфичность 70% при дифференциальной диагностике НП/НПивл и нозокомиального трахеобронхита [63].

Этиологическая диагностика нозокомиальной пневмонии

С целью определения этиологии инфекции нижних дыхательных путей проводят микробиологическое исследование биоматериалов из нижних дыхательных путей: мокроты, трахеобронхиального аспирата, жидкости, полученной при бронхоальвеолярном лаваже и плеврального выпота при его наличии. Рекомендуются также проводить исследование крови на стерильность, поскольку бактерии легко попадают в кровяное русло из лёгочной ткани.

Процедура микробиологического исследования может быть разделена на три этапа. Первый этап, преаналитический, заключается в получении, хранении и транспортировке материала в микробиологическую лабораторию, регистрации образца и внесении его данных в лабораторную информационную систему. При транспортировке биоматериала в централизованную лабораторию следует строго соблюдать правила Методических указаний МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории» [64]. От scrupulous соблюдения методики преаналитического этапа исследования во многом зависит достоверность его результатов.

Аналитический этап микробиологического исследования выполняют в микробиологической лаборатории, он заключается в культивировании и идентификации возбудителей, а также определении их чувствительности/устойчивости к антимикробным препаратам. Культуральному исследованию секрета нижних дыхательных путей предшествует микроскопия нативного или окрашенного по Граму препарата с целью оценки правильности взятия образца и для получения ориентировочного представления о присутствующих в нём микроорганизмах. Показателем пригодности образца для культурального исследования считают обнаружение в одном поле зрения при малом увеличении менее 10 эпителиоцитов и более 25 полиморфноядерных нейтрофилов [2].

Все клинически значимые промежуточные результаты многодневного микробиологического исследования должны быть сообщены лечащим врачам по мере их появления. Постаналитическую часть исследования, или проверку достоверности полученных результатов и оценку этиологической значимости выделенных штаммов, проводят врачи-бактериологи совместно с клиницистами. На этом этапе обсуждают вопрос о целесообразности коррекции начатой в эмпирическом режиме антимикробной терапии на основании данных микробиологического исследования. Качество и практическая ценность результатов микробиологического исследования во

многом зависят от тесного взаимодействия лечащих врачей и клинических микробиологов.

Взятие биоматериала

Рутинная этиологическая диагностика у неинтубированных пациентов основывается на исследовании образцов мокроты, в то время как у пациентов на ИВЛ предполагается получение эндотрахеальных аспиратов для полуколичественного или количественного анализа, либо инвазивных количественных культур, взятых с помощью защищённых щёток или бронхоальвеолярного лаважа [65]. В обоих случаях применяют стерильные герметичные системы для сбора секрета.

До настоящего времени существуют разногласия о наилучшем способе взятия биоматериала на микробиологическое исследование (МБИ). Так, Европейские и латиноамериканские профессиональные ассоциации традиционно отдают предпочтение инвазивным методам, обосновывая выбор рядом исследований, показывающих снижение летальности и длительности использования антибактериальных препаратов [66, 67].

Североамериканские медицинские сообщества рекомендуют неинвазивные методы забора биоматериала с полуколичественным микробиологическим исследованием. При отсутствии значимых недостатков в сравнении с инвазивными методами, эти способы диагностики отличаются более высокой скоростью выполнения и меньшим вовлечением дополнительных ресурсов [68–70].

Современные работы, посвящённые данной проблеме, указывают что эндотрахеальный аспират (ЭТА) более чувствительный (75,7 vs. 71,1%), но менее специфичный (67,9 vs. 79,6%) метод и что нет разницы в клинической пользе между двумя методами [33, 71].

S. M. Fernando и соавт. [33] оценили диагностическую значимость роста микроорганизмов из секрета нижних дыхательных путей, полученного тремя различными способами. Выделение микроорганизмов в титре $\geq 10^5$ кое/мл из секрета, полученного с помощью эндотрахеальной аспирации, имело чувствительность 75,7% (95% ДИ 51,5–90,1) и специфичность 67,9% (95% ДИ 40,5–86,8). Рост возбудителей в титре $\geq 10^3$ кое/мл из материала, взятого через бронхоскоп с помощью защищённых щёток, обладал чувствительностью 61,4% (95% ДИ 43,7–76,5) и специфичностью 76,5% (95% ДИ 64,2–85,6), а из жидкости бронхоальвеолярного лаважа в титре $\geq 10^4$ — чувствительностью 71,1% (95% ДИ 49,9–85,9) и специфичностью 79,6% (95% ДИ 66,2–88,6).

С целью выделения чистой культуры возбудителей НП выполняют посев респираторных образцов на кровяной агар, агар Мак-Конки или Эндо, хромогенный агар типа Уриселект агар (Condalab, Испания), маннит-солевой агар, агар

Сабуро, шоколадный агар с последующей инкубацией в течение не менее 48 ч. Диагностически значимым считают микробный рост в титре 10^5 колониеобразующих единиц в 1 мл (КОЕ/мл) для мокроты и трахеобронхиального аспирата и 10^4 КОЕ/мл для бронхоальвеолярного лаважа. Выделенные из секрета дыхательных путей энтерококки, кандиды, коагулазонегативные стафилококки, нейссерии, зеленающие стрептококки не расценивают в качестве возбудителей пневмонии и трахеобронхита [2].

С одной стороны, диагностическая способность культуральных методов может быть ограничена проводимой эмпирической антимикробной терапией или сложностью культивирования отдельных видов микроорганизмов. С другой стороны, в ряде случаев бывает нелегко отличить инфекцию от колонизации нижних дыхательных путей или контаминации пробы микрофлорой верхних дыхательных путей [72, 73].

Идентификацию микроорганизмов осуществляют двумя методами: по ферментативной активности (классический культурально-биохимический метод) и с помощью матричной лазерной десорбционной времяпролетной (MALDI-TOF) масс-спектрометрии. Для реализации первого метода применяют, например, тест-системы MicroScan WalkAway 96 plus (Siemens), Vitek, Fenix, которые предполагают идентификацию более чем 100 видов грамотрицательных палочек, более 40 видов неферментирующих микроорганизмов, около 50 видов стрептококков, около 40 видов стафилококков, 50 видов грибов, более 40 видов возбудителей анаэробной инфекции, а также коринебактерий, листерий и некоторых других возбудителей.

Матрично-активированная лазерная десорбционно-ионизационная времяпролетная масс-спектрометрия (MALDI-TOF MS)

В настоящее время для ускорения определения вида выделенных возбудителей широко применяется технология, основанная на матрично-активированной лазерной десорбционной/ионизационной времяпролетной масс-спектрометрии (matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-ToF-MS)) [74]. Метод MALDI-ToF-MS основан на определении молекулярной массы клеточных белков и пептидов, которые являются специфичными для определённых возбудителей [75]. При исследовании 1000 бактериальных изолятов метод MALDI-ToF-MS продемонстрировал чувствительность 95% и специфичность 84,1% [76]. Следует отметить, что методика позволяет идентифицировать возбудителей только из предварительно выделенных чистых культур. Несмотря на относительно высокую стоимость оборудования для MALDI-ToF-MS, в конечном счёте применение этой методики оказывается экономически выгодным [77]. Квази-эксперимен-

тальное исследование доказало, что методика сокращает время до назначения эффективной антибактериальной терапии [78], а также продолжительность пребывания в ОРИТ ($p=0,027$) [79].

Определение чувствительности выделенных микроорганизмов к антимикробным препаратам проводят диско-диффузионным методом или с помощью автоматических бактериологических анализаторов. Чувствительность выделенных возбудителей к антибиотикам в этих приборах определяют методом последовательных микроразведений (в объёме $\leq 0,2$ мл) в бульоне. Используют панели, содержащие 18–20 антибиотиков для каждого вида возбудителей. Время инкубации в приборе составляет 18–24 ч, после чего оценивают наличие или отсутствие видимого роста. Минимальную подавляющую концентрацию (МПК) определяют как минимальную концентрацию антимикробного препарата, подавляющую видимый рост микроба.

Полученные результаты автоматически оцениваются экспертной компьютерной программой, основанной на критериях Европейского комитета по определению чувствительности к антимикробным препаратам (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing — EUCAST), зафиксированных в Российских рекомендациях «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» (Версия 2025-1) [80]. Принципиально важно выбирать панели для определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам где присутствуют препараты, которые могут сохранять активность в отношении нозокомиальных грамотрицательных возбудителей в условиях растущей антибиотикорезистентности. Это новые защищённые цефалоспорины, прежде всего цефтазидим–авибактам, колистин, тигециклин для кишечной палочки, фосфомицин, аминогликозиды, ко-тримоксазол.

Необходимо отметить, что чувствительность микроорганизмов к некоторым антибиотикам, например, к колистину и ванкомицину, следует определять исключительно методом серийных разведений в бульоне. Напротив, достоверные сведения о чувствительности к цефтазидиму–авибактаму и цефтолозану–тазобактаму могут быть получены и при использовании диско-диффузионного метода. До официальной регистрации в Российской Федерации специальных тест-систем для определения чувствительности к азтреонаму–авибактаму может быть использован метод двойных дисков выявления синергизма между азтреонамом и цефтазидимом–авибактамом, подробно описанный в Российских рекомендациях «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» (Версия 2025-1) [80].

Для определения клинической чувствительности/устойчивости EUCAST предлагает следующие клинические категории:

Чувствительный при стандартном режиме дозирования (Ч)/Susceptible, standard dosing regimen (S) — микроорганизм оценивается как «Чувствительный при стандартном режиме дозирования» при высокой вероятности эффективности терапии при стандартном режиме дозирования.

Чувствительный при увеличенной экспозиции антимикробного препарата (У)/Susceptible, Increased exposure (I) — микроорганизм оценивается как «Чувствительный при увеличенной экспозиции», при высокой вероятности эффективности терапии при увеличении экспозиции препарата путём коррекции режима дозирования или благодаря его концентрации в очаге инфекции.

Резистентный (Р)/Resistant (R) — микроорганизм оценивается как «Резистентный» при высокой вероятности терапевтической неудачи даже при увеличенной экспозиции препарата.

Экспозиция отражает зависимость влияния антимикробного препарата на возбудителя в очаге инфекции от пути введения, дозы, интервала дозирования, продолжительности инфузии препарата, а также его распределения и пути выведения.

При использовании данных определений и соответствующих пограничных значений для терапии могут использоваться антибиотики, чувствительность возбудителя к которым оценена как «Ч» («S»), так и «У» («I»).

Для препаратов, экспозиция которых не может быть значимо увеличена, категория «У» («I») не существует [81, 82].

В качестве критериев для отнесения микроорганизмов к одной из приведённых категорий используют пограничные значения МПК антимикробного препарата, а также пограничные значения диаметров зон подавления роста. Величина МПК является основным параметром, характеризующим взаимоотношения между микробом и антимикробным препаратом. Критерии клинической чувствительности/устойчивости (пограничные значения МПК антибактериальных препаратов или зон подавления роста) могут изменяться в зависимости от появления новых данных о фармакокинетики и фармакодинамике антибиотиков и рекомендаций по режиму их применения.

В табл. 1 приведены данные об этиологии НП в стационарах РФ, полученные в 2020–2022 гг. [83].

Таким образом, ведущими возбудителями НП в РФ в настоящее время являются энтеробактерии, прежде всего *K. pneumoniae* и *E. coli*, а также представители таксономически разнородной группы неферментирующих грамотрицательных бактерий, к которой относят *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia* и некоторые другие. Общая доля грамотрицательных микроорганизмов в этиологической структуре нозокомиальной пневмонии в РФ превышает 90%.

Актуальной проблемой современного здравоохранения является рост устойчивости грамотрицательных возбудителей к карбапенемам, которые ещё в первом десятилетии XXI века оставались эффективными средствами при большинстве нозокомиальных инфекций. Устойчивость грамотрицательной микрофлоры к бета-лактамам антибиотикам может быть обусловлена как ферментативными, так и неферментативными механизмами. Наиболее важный ферментативный механизм реализуется за счёт синтеза бета-лактамаз различных молекулярных классов [84].

В соответствии с классификацией Ambler, бета-лактамазы разделяют на сериновые (классы А, С и D) и металло-бета-лактамазы, содержащие в активном центре атом цинка (класс В). Неферментативные механизмы устойчивости возбудителей к бета-лактамам могут быть связаны с активным эффлюксом антибиотиков из микробной клетки либо с нарушением проницаемости наружной мембраны для молекул антимикробного препарата вследствие дефекта пориновых белков. Ферментативные механизмы резистентности могут быть детерминированы как хромосомными, так и плазмидными генами, вследствие чего имеют возможность горизонтальной передачи, в том числе возбудителям других видов. Механизм устойчивости, связанный с дефектами поринов, не передаётся горизонтально, кроме того, штаммы со сниженной проницаемостью наружной мембраны имеют невысокую способность к выживанию и размножению [85, 86].

Время от взятия материала до получения результата культуральных методов микробиологической диагностики, включающих определение чувствительности выделенных микроорганизмов к антимикробным препаратам, в большинстве случаев превышает 48 ч. До того момента, как станут доступными результаты микробиологического исследования, пациенты получают эмпи-

Таблица 1. Ведущие возбудители нозокомиальных инфекций нижних дыхательных путей в Российской Федерации (2020–2022 гг.) [83]

Table 1. Leading pathogens of hospital-acquired lower respiratory tract infections in the Russian Federation (2020–2022)

Микроорганизмы	N	%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1349	36,02
<i>Acinetobacter baumannii</i>	766	20,45
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	765	20,43
<i>Staphylococcus aureus</i>	215	5,74
<i>Escherichia coli</i>	191	5,1
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	79	2,11
<i>Enterobacter cloacae</i>	60	1,6
<i>Serratia marcescens</i>	59	1,58
<i>Proteus mirabilis</i>	48	1,28
<i>Klebsiella oxytoca</i>	30	0,8

рическую антимикробную терапию. В связи с распространением мультирезистентных микроорганизмов, особенно в отделениях интенсивной терапии, необходимы новые стратегии, позволяющие сократить время идентификации возбудителей и скорее начать адекватное целенаправленное лечение, уменьшив тем самым потребление ненужных препаратов широкого спектра.

Внедрение тестов для быстрой диагностики позволяет сделать стартовую антимикробную терапию НП целенаправленной, соответственно, повысив её эффективность и сократив необоснованное применение антибиотиков [87].

Большинство микробиологических экспресс-тестов основано на расшифровке молекулярно-генетических механизмов устойчивости микроорганизмов к бета-лактамам, что имеет принципиальное значение для своевременного назначения адекватной антимикробной терапии. Так, например, обнаружение генетических маркеров продукции сериновых карбапенемаз классов А, С и ОХА-48, относящихся к молекулярному классу D, позволяет применить ингибиторозащищённый антипсевдомонадный цефалоспориин III поколения цефтазидим-авибактам в монотерапии в рамках спектра его активности. В случае детекции металло-бета-лактамаз изолированно или в комбинации с сериновыми бета-лактамазами цефтазидим-авибактам следует комбинировать с азтреонамом. При подтверждении выработки энтеробактериями карбапенемаз различных классов в качестве альтернативных схем могут быть использованы сочетания полимиксинов, тигециклина, фосфомицина и аминогликозидов, однако на сегодняшний день имеются веские доказательства их меньшей эффективности по сравнению с режимами, включающими цефтазидим-авибактам [88]. В этой связи применение вышеуказанных препаратов стоит рассматривать в случае невозможности использования цефтазидима-авибактама+азтреонам или выявленной устойчивости к данной комбинации [89].

Детекция в нативном материале из нижних дыхательных путей или в чистой культуре маркеров карбапенемаз ОХА-23 и/или ОХА-40 позволяет предположить этиологическую роль устойчивых к бета-лактамам ацинетобактеров и является поводом к назначению полимиксинов, тигециклина, сульбактама или, в ряде случаев, ко-тримоксазола.

Обнаружение металло-бета-лактамазы VIM или её генетических детерминант со значительной долей вероятности свидетельствует о присутствии в материале карбапенеморезистентной *P. aeruginosa*, что побуждает к назначению комбинированной терапии, включающей полимиксины и/или фосфомицин. Напротив, отсутствие карбапенемаз в образцах позволяет предпо-

ложить клиническую эффективность карбапенемов или новых защищённых цефалоспоринов.

Подробный анализ всех известных на сегодняшний день методов определения продукции карбапенемаз приводится, в частности, в публикации Д.А. Попова [90]. В настоящей работе мы считаем целесообразным охарактеризовать наиболее важные с практической точки зрения, зарегистрированные и разрешённые для медицинского применения в РФ методики, а именно молекулярные и иммунохроматографические латеральные тесты.

«Золотым стандартом» выявления продукции карбапенемаз в настоящее время служат молекулярные методы, базирующиеся на технологии полимеразной цепной реакции (ПЦР) [90]. В ходе ПЦР происходит амплификация целевых последовательностей ДНК возбудителей с детекцией продуктов амплификации, причём в качестве субстрата могут быть использованы как нативный материал, так и культуры микроорганизмов, что значительно ускоряет получение результата. Одной из широко используемых в Российской Федерации моделей является 6-канальный амплификатор в реальном времени Bio-Rad, позволяющий одновременно анализировать 96 проб.

Модификацией ПЦР в реальном времени являются картриджные методики, дающие возможность выполнять все этапы обработки образца в одном блоке и выдавать результат уже через 1 ч после постановки теста. Первым из появившихся в распоряжении российских микробиологов аппаратов картриджного типа для экспресс-диагностики нативного материала был прибор GeneXpert DX (Cepheid, США).

Большое внимание привлекает система BioFire FilmArray Pneumonia/Pneumonia Plus Panel (bioMérieux), пока не зарегистрированная в Российской Федерации. BioFire FilmArray представляет собой полностью автоматизированную закрытую платформу «от образца до результата», позволяющую менее чем за 75 мин получить данные о нуклеиновых кислотах возбудителей и ряде генов устойчивости. Субстратом для исследования в данном случае служит нативный секрет нижних дыхательных путей. Панель охватывает до 33 мишеней: 18 бактериальных патогенов, включая типичных возбудителей нозокомиальной пневмонии (*P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *S. aureus* и др.), 8 респираторных вирусов и 7 генов антибиотикорезистентности (включая *bla_KPC*, *bla_NDM*, *bla_OXA-48-like*, *bla_VIM*, *bla_IMP*, *mecA/C*, *CTX-M*). Для бактериальных патогенов доступна полуколичественная оценка численности, что помогает дифференцировать колонизацию от истинной инфекции [91].

Крупное многоцентровое исследование в США (1682 образца мокроты и жидкости брон-

хоальвеолярного лаважа) [92] показало чувствительность панели 100% для большинства ключевых возбудителей (15 из 22 при исследовании образцов, полученных при бронхоальвеолярном лаваже и 10 из 24 при исследовании образцов мокроты). Специфичность составила $\geq 87,2\%$. Интересно, что часть «ложноположительных» результатов по сравнению с культуральным исследованием подтверждалась альтернативными молекулярными методами, что указывает на весьма высокую аналитическую чувствительность панели. Проспективное исследование, выполненное в Швеции (Umeå University, Швеция) [93], подтвердило хорошую корреляцию результатов синдрома специфической панели FilmArray с традиционной диагностикой и показало, что в 25–30% случаев данные теста потенциально меняли тактику ведения как в отношении антибактериальной терапии, так и мер изоляции.

Иммунохроматографические латеральные тесты основаны на использовании меченных коллоидным золотом моноклональных антител к специфическим антигенам, которыми в данном случае являются различные карбапенемазы. Тесты валидированы для культур микроорганизмов, однако в литературе есть сообщения об успешном использовании и других образцов (содержимое положительного флакона при посеве крови, материала из ректальных мазков) [94]. В Российской Федерации используют тест-системы для детекции наиболее часто встречающихся пяти карбапенемаз (KPC, OXA-48, VIM, IMP, NDM). Иммунохроматографические тесты отличаются высокой чувствительностью, специфичностью и скоростью получения результата, не превышающей 15 мин. По нашим данным, корреляция результатов молекулярных и иммунохроматографических методов детекции карбапенемаз приближается к 100% [95].

В отличие от ПЦР, иммунохроматографические методы не требуют специального оборудования и обученного персонала, их себестоимость ниже. Однако если методики, основанные на ПЦР, способны выявлять генетические детерминанты карбапенемаз в нативном материале из нижних дыхательных путей и плеврального выпота, то иммунохроматографические латеральные тесты требуют предварительного выделения чистой культуры. К недостаткам как молекулярно-генетических, так и иммунохроматографических тестов следует отнести их неспособность выявлять новые механизмы антибиотикорезистентности.

Анализ летучих органических соединений выдыхаемого воздуха

Одним из наиболее перспективных направлений неинвазивной диагностики нозокомиальной

пневмонии является анализ летучих органических соединений (ЛОС) в выдыхаемом воздухе. Этот метод основан на том, что метаболизм патогенных микроорганизмов, а также воспалительные процессы в лёгочной ткани, сопровождаются образованием специфических органических молекул (альдегидов, кетонов, спиртов, углеводов), которые можно выявлять в выдыхаемой газовой смеси [96]. Таким образом, профиль ЛОС отражает как активность инфекционного агента, так и ответ организма хозяина, обеспечивая возможность ранней и безопасной диагностики нозокомиальной пневмонии.

В исследовании R. Schnabel и соавт. [96] (100 пациентов в ОРИТ с подозрением на НПивл) анализ газовой хроматографии с масс-спектрометрией (ГХ-МС) выявил 12 характерных ЛОС, позволивших отличить пациентов с подтверждённой НПивл от контрольной группы с чувствительностью 75,8% и специфичностью 73,0%.

Технология «электронного носа» в отличие от методики ГХ-МС заключается в использовании массива сенсоров для регистрации совокупного сигнала ЛОС и дальнейшей интерпретации с применением алгоритмов машинного обучения. C. Y. Chen и соавт. [97] в исследовании, включившем 59 пациентов (из них 33 с НПивл), показали, что такая система при диагностике НПивл позволяет достигать чувствительности 79% и специфичности 83%. Площадь под кривой (AUC) составила 0,85, что свидетельствует о высокой прогностической ценности метода.

Биомаркеры

Важно подчеркнуть, что ни один биомаркер сам по себе не подтверждает или не исключает НПивл, а используется лишь как дополнение к другим диагностическим инструментам. Информативность любых биомаркеров инфекции в диагностике нозокомиальной пневмонии представляется ограниченной, прежде всего, в силу наличия основного заболевания. Содержание в крови этих полипептидов может повышаться при травме, включая операцию, insulte, раке лёгкого и при инфекции другой локализации, служащих показаниями для проведения ИВЛ [6, 98].

Прокальцитонин (ПКТ) — системный маркер воспаления, который становится детектируемым уже через ~3–6 ч от бактериального стимула, достигает пика ориентировочно к 12–24 ч, а период полувыведения составляет около 24 ч, что делает его пригодным для диагностики и мониторинга прогрессирования заболевания [99]. Ещё в 2017 г. использование ПКТ для принятия решения о начале или прекращении антибактериальной терапии при лечении инфекций нижних дыхательных

путей было одобрено Управлением по контролю за продуктами и лекарствами США (FDA) [100]. По данным метаанализа 2013 г. (7 исследований, 434 эпизода) чувствительность и специфичность ПКТ для диагностики НПивл оказались умеренными: 76 и 79% соответственно. Авторы сделали вывод, что ПКТ добавляет информации о риске НПивл, но как самостоятельный диагностический тест ограничен. В то же время в проспективном исследовании BioVAR [101], изучавшем кинетику маркеров до развития НПивл, ПКТ показал слабую предиктивную способность. Однако среди пациентов нейрохирургического профиля с подозрением на НП ПКТ может иметь диагностическую ценность с оптимальным пороговым значением 0,095 нг/мл, при этом чувствительность составила 89,2% и специфичность 93,3% [102].

С-реактивный белок (СРБ) начинает повышаться уже через 4–6 ч после воспалительного стимула (чему способствует IL-6 и другие цитокины), удваивается примерно каждые 8 ч и достигает пика примерно в диапазоне 36–50 ч от начала стимула. После исчезновения причины воздействия концентрация СРБ снижается с периодом полувыведения около 19 ч. [103]. В многоцентровом исследовании BioVAR (у 211 пациентов) [101] ежедневное измерение СРБ оказалось наиболее полезным для прогнозирования развития НПивл: темп нарастания и максимальная амплитуда изменения СРБ в первые 6 сут механической вентиляции были достоверно ассоциированы с последующим развитием НПивл, в отличие от ПКТ или среднерегионального проадреномедулина (MR-proADM). Это подтверждает ценность именно динамики СРБ, а не разовых измерений.

Лейкоцитоз. Определение количества лейкоцитов при нозокомиальной пневмонии крайне ограничено из-за низкой специфичности: при тяжёлой инфекции возможны как лейкоцитоз, так и их нормальный уровень [104], а у критически больных часты парадоксальные варианты — выраженная лейкопения при тяжёлом сепсисе и септическом шоке, что ассоциировано с неблагоприятным прогнозом [105].

Систематический обзор S. M. Fernando и соавт. [33] показал, что традиционные клинические индикаторы, включая лейкоцитоз, обладают низкой диагностической точностью для НПивл: суммарная чувствительность и специфичность составили 64,2 и 59,2% соответственно, что не позволяет использовать этот маркер как самостоятельный инструмент. В многоцентровом анализе приоритетности диагностических инструментов для НПивл [36] лейкоцитоз вошёл в тройку наиболее часто используемых биомаркеров в реальной практике наряду с СРБ и ПКТ, однако по совокупной экспертной оценке он уступал им по значимости.

Интерлейкины ИЛ-1 β и ИЛ-8. Локальные цитокины врождённого иммунного ответа, в частности ИЛ-1 β и ИЛ-8, активно выделяются альвеолярными макрофагами и нейтрофилами при попадании патогенов в дистальные дыхательные пути. Низкий уровень ИЛ-1 β и ИЛ-8 в образцах эндотрахеального аспирата и жидкости, полученной при бронхоальвеолярном лаваже может иметь высокую отрицательную прогностическую ценность и помогает исключать НПивл в популяции пациентов с клиническим подозрением [106, 107], однако применение метода ограничено недостаточной доказательной базой [108].

Растворимая форма триггерного рецептора, экспрессируемого на миелоидных клетках типа 1 (sTREM-1), является наиболее изучаемым локальным биомаркером. Первые работы показали, что повышение концентрации sTREM-1 в жидкости, полученной при бронхоальвеолярном лаваже может дифференцировать НПивл от колонизации дыхательных путей. Однако дальнейшие исследования продемонстрировали существенную вариабельность чувствительности и специфичности, при этом диагностическая точность остаётся ниже требуемых для внедрения в рутинную практику 90% [106].

Интегральные шкалы для диагностики нозокомиальной пневмонии

Шкала клинической оценки лёгочной инфекции (CPIS)

Рекомендации последних лет указывают на необходимость комбинации клиническо-лабораторных, инструментальных и микробиологических методов диагностики НП [65, 109]. С этой целью были разработаны интегральные шкалы, наиболее известной из которых является шкала CPIS (табл. 2) [110]. По данным недавних исследований, оценка по шкале CPIS > 6 баллов имела чувствительность и специфичность, не превышающую 60–75%, что ставит под сомнение целесообразность её широкого применения в клинической практике [33, 111]. Существенным ограничением шкалы CPIS, ставящим под сомнение её пригодность для ранней диагностики НПивл, служит необходимость получения результатов культурального микробиологического исследования.

Разработанная на кафедре анестезиологии и реаниматологии факультета усовершенствования врачей РНИМУ им. Н. И. Пирогова под руководством акад. Б. Р. Гельфанда Шкала диагностики и оценки тяжести пневмонии (Шкала ДОП) (табл. 3) включает только те клинические, лабораторные и инструментальные параметры, которые могут быть измерены в реальном времени

Таблица 2. Шкала CPIS для диагностики НПивл (адаптировано из [91]).

Table 2. CPIS score for the diagnosis of VAP (adapted from [91]).

Параметр	Критерий	Баллы
Температура, °C	36,5–38,4	0
	38,5–38,9	1
	≥39,0 или ≤36,0	2
Лейкоциты, мм ³	4 000–11 000	0
	<4 000 или >11 000	1
	+ палочкоядерные формы ≥500	1
Трахеальный секрет (по сумме полуколичественной оценки объёма секрета за сутки)	<14 баллов	0
	≥14 баллов	1
	+ гнойный секрет	1
Оксигенация (PaO ₂ /FiO ₂)	>240 или ОРДС	0
	≤240 и нет ОРДС	2
Рентгенография лёгких	Инфильтрат отсутствует	0
	Диффузный (или пятнистый) инфильтрат	1
	Локализованный инфильтрат	2
Культура трахеального аспирата (полуколичественно: 0-1+, 2+ или 3+)	Рост патогенных бактерий ≤1+ или отсутствие роста	0
	Рост патогенных бактерий >1+	1
	+ те же патогенные бактерии выявлены при окрашивании по Граму	1

Примечание. Суммарный балл CPIS варьирует от 0 до 12. ОРДС — острый респираторный дистресс-синдром.

Note. The CPIS total score ranges from 0 to 12.

Таблица 3. Шкала диагностики и оценки тяжести пневмонии (ДОП) [112].

Table 3. Pneumonia diagnostic and severity assessment scale (PDS) / Pneumonia Severity Index (PSI) [112].

Показатель	Значения	Баллы
Температура тела, °C	36,0–37,9	0
	38,0–39,0	1
	<36,0 или >39,0	2
Количество лейкоцитов, ×10 ⁹ /л	4,0–10,9	0
	11,0–17,0 или	
	>10 палочкоядерных форм	1
	>17,0 или присутствие любого количества юных форм	2
Бронхиальная секреция	±	0
	+	1
	++	2
Респираторный индекс PaO ₂ /FiO ₂	>300	0
	300–226	1
	225–151	2
	<150	3
Инфильтраты лёгких (рентгенография)	Отсутствие	0
	Локальные, отграниченные	1
	Сливные, двусторонние, с абсцедированием	2

и не ориентируется на данные микробиологического исследования. Диагноз нозокомиальной пневмонии считали достоверным при оценке по шкале ДОП равной 6 и более баллам. Шкала валидирована в серии работ сотрудников кафедры [112, 113].

Шкалы и системы оценки внутрибольничной пневмонии с использованием УЗИ

Несмотря на отсутствие специфичных УЗИ-критериев для внутрибольничной пневмонии, ряд исследователей предложили комбинированные шкалы, позволяющие повысить диагностическую точность при интеграции клинических, биохимических и ультразвуковых данных.

Алгоритм диагностики НПивл, предложенный L.J. Staub и соавт. [59], был опубликован в 2019 г. и основан на серийных исследованиях лёгких с помощью ультразвука. Авторы подчёркивают, что само по себе наличие консолидаций у пациентов с уже изменённым паренхиматозным рисунком не обладает достаточной точностью. Ключевым оказалось выявление новых признаков при наличии клинического подозрения: (1) появление субплевральных консолидаций в передних отделах лёгких накануне клинической манифестации или (2) выявление новых лобарных/сублобарных консолидаций в передних отделах в день подозрения, или (3) появление лобарных/сублобарных консолида-

ций с динамической воздушной бронхограммой других локализаций, или (4) фиксация любой другой лобарной/сублобарной консолидации в сочетании с положительным результатом окраски мазка эндотрахеального аспирата. В случаях, когда ни один из вышеперечисленных критериев не выполняется, авторы рекомендуют ограничиться динамическим наблюдением, включая повторную микроскопию мазка эндотрахеального аспирата, оценку клинических признаков, результатов микробиологического исследования эндотрахеального аспирата и ультразвуковой эволюции консолидаций. Алгоритм показал чувствительность 63% и специфичность 85%.

Шкала Chest Echography and Procalcitonin Pulmonary Infection Score (CEPPIS)

Данная шкала включает клинические критерии, данные ультразвукового исследования лёгких и уровень прокальцитонина (табл. 4). В ретроспективном анализе 221 пациента оценка по шкале CEPPIS ≥ 5 оказалась существенно более точной в диагностике НПивл, чем традиционно используемая оценка по шкале CPIS ≥ 6 : чувствительность составила 80,5 против 39,8%, специфичность — 85,2 против 83,3%, а AUC — 0,829 против 0,616 [114]. Эти данные были подтверждены и в более поздних работах. Так, в проспективном исследовании J. Zhou и соавт. [115] комбинация положительного результата ультразвукового исследования лёгких с ПКТ $> 0,25$ нг/мл показала чувствительность 81,3% и специфичность 85,5% при диагностике НПивл, превосходя по точности CPIS, а также отдельное использование лейкоцитоза, СРБ или ПКТ.

Ventilator-associated Pneumonia Lung Ultrasound Score (VPLUS)

S. Mongodi и соавт. [116] предложили шкалу, которая объединила ключевые признаки УЗИ лёгких с клиническими и микробиологическими данными, для получения которых не требуется больших временных затрат. В проспективном многоцентровом исследовании учитывались такие параметры, как наличие ≥ 2 субплевральных консолидаций (1 балл), хотя бы одна динамическая древовидная/линейная воздушная бронхограмма (2 балла), а также признаки гнойного эндотрахеального аспирата (1 балл). Дополненная версия (VPLUS-EAgram) включала ещё результаты прямой микроскопии трахеального аспирата (2 балла). Результаты показали, что оценка по VPLUS-EAgram ≥ 3 имела чувствительность 78% и специфичность 77%, AUC=0,832, что превосходило как оценку по VPLUS в её первоначальном варианте, равную или превышающую 2 балла (AUC=0,743), так и диагностическую значимость шкалы CPIS. Особенно ценным оказалось выявление двух динамических бронхограмм, что давало положительную прогности-

Таблица 4. Шкала Chest Echography and Procalcitonin Pulmonary Infection Score (CEPPIS) (адаптировано из [114]).
Table 4. Chest Echography and Procalcitonin Pulmonary Infection Score (CEPPIS) (adapted from [114]).

Параметр	Балл
Температура (°C)	
$\geq 36,0$ и $< 38,4$	0
$\geq 38,5$ и $< 38,9$	1
≥ 39 или $< 36,0$	2
Прокальцитонин (нг/мл)	
$< 0,5$	0
$\geq 0,5$ и < 1	1
≥ 1	2
Трахеальный секрет	
Негнойный	0
Гнойный	2
PaO₂/FiO₂ (мм рт. ст.)	
> 240 или наличие ОРДС	0
≤ 240 и отсутствие ОРДС	2
Инфильтраты при ультразвуковом исследовании лёгких	
Отсутствуют	0
Присутствуют	2
Количественная культура ЭА	
$\leq 10^4$ КОЕ/мл	0
$> 10^4$ КОЕ/мл	2

Примечания. ОРДС – острый респираторный дистресс-синдром; ЭА — эндотрахеальный аспират.

Note.

ческую ценность до 94% и существенно усиливало диагностическую надёжность.

Шкала реаэрации лёгочной паренхимы по данным ультразвука предложена В. Bouhemad и соавт. [117] как инструмент мониторинга эффективности антибактериальной терапии при НПивл. Авторы показали, что динамика ультразвуковых признаков (нормальная аэрация, интерстициальный синдром, консолидированные зоны) позволяет количественно оценить изменения объёма воздуха в лёгких. Был предложен ультразвуковой реаэрационный скоринг, при котором положительный сдвиг (> 5 баллов) хорошо коррелировал с восстановлением лёгочной аэрации по данным КТ (> 400 мл), тогда как отрицательная динамика (< -10 баллов) соответствовала неэффективности терапии. Корреляция между УЗИ и КТ-оценкой оказалась высокой ($Rho=0,85$, $p<0,0001$), тогда как рентгенография не позволяла достоверно отслеживать изменения.

УЗ-исследования (с промежутком в 7 дней), между которыми рекомендуют оценивать динамику аэрации, проводят по протоколу ультразвукового исследования лёгких [57]. При сравнении результатов в каждой зоне сканирования выявленные изменения оцениваются в баллах (табл. 5). Затем баллы суммируются, что позволяет определить положительную или отрицательную динамику аэрации.

Таблица 5. Оценка изменений ультразвукового профиля лёгочной паренхимы [117].

Table 5. Assessment of changes in the lung parenchyma ultrasound profile [117].

Реаэрация (балл)			Потеря аэрации (балл)		
+1	+3	+5	-5	-3	-1
B1 → N	B2 → N	C → N	N → C	N → B2	N → B1
B2 → B1	C → B1			B1 → C	B1 → B2
C → B2					B2 → C

Примечание. N — норма; B1 — ≥3 отдельных (≥7 мм) В-линий или субплевральная консолидация; B2 — сливающиеся (≤3 мм) В-линии; C — консолидация.

Note. N — normal; B1 — ≥3 discrete (≥7 mm) B-lines or subpleural consolidation; B2 — confluent (≤3 mm) B-lines; C — consolidation.

Системный подход к диагностике и мониторингу НПивл

В. Bouhemad и соавт. [54] считают, что динамическая оценка в клиническом контексте в сочетании с патологическими находками при ультразвуковом исследовании лёгких в руках опытного оператора позволяет быстро подтвердить или исключить НПивл, а благодаря возможности многократного повторения, ультразвук становится не только инструментом ранней диагностики, но и средством мониторинга эффекта терапии, в том числе для оценки ответа на антибиотики. Авторы предложили системный алгоритм:

- *День 0 (момент клинического подозрения):* при наличии факторов риска (ИВЛ > 48 ч, гипоксемия, лихорадка/гипотермия, лейкоцитоз/лейкопения) проводится сбор жидкости, полученной при бронхоальвеолярном лаваже для количественного микробиологического исследования и одновременно ультразвуковое исследование лёгких с расчётом шкалы VPLUS. При низком значении (<2 баллов) антибиотики не назначаются, при ≥2 баллов — назначается эмпирическая антибактериальная терапия.

- *День 2:* решение корректируется в зависимости от результатов микробиологического исследования (порог ≥10⁴ КОЕ/мл). Отрицательный результат подтверждает отказ от антибиотиков или инициирует их отмену, положительный — служит основанием для назначения либо продолжения антибактериальной терапии с возможностью деэскалации.

- *День 7:* при необходимости рассматривается возможность повторного сбора биоматериала из нижних дыхательных путей для микробиологического исследования, а также проводится повторная оценка по протоколу LUS с расчётом балла реаэрации. Если показатель < -10 баллов, требуется пересмотр диагноза и тактики; если ≥5 баллов, антибактериальная терапия продолжается.

Таким образом, алгоритм объединяет микробиологические и ультразвуковые данные, позволяя как оптимизировать раннюю диагностику НПивл, так и динамически контролировать эффективность проводимой терапии.

Заключение и перспективы

В настоящее время мы не располагаем методом, который можно было бы принять за «золотой стандарт» диагностики НП [33, 118]. Повидимому, большей диагностической значимостью по сравнению с рентгенографией обладает компьютерная томография, однако чувствительность и специфичность и этого метода не абсолютны [119, 120].

Большинство авторов придерживаются мнения о том, что точность диагностики может повысить комбинация признаков. С этой целью было предпринято множество попыток создать интегральную шкалу диагностики нозокомиальной пневмонии. Метаанализ продемонстрировал, что наиболее часто используемая шкала CPIS имеет недостаточную чувствительность и специфичность. Ограниченная диагностическая ценность клиничко-лабораторных и рентгенологических признаков пневмонии на фоне ИВЛ имеет важное практическое значение, поскольку может привести как к чрезмерному, так и недостаточному назначению антимикробных препаратов. Клиницистам не следует начинать антибиотикотерапию на основании отдельно взятых признаков, особенно у гемодинамически стабильных пациентов.

УЗИ лёгких — важный инструмент в диагностике внутрибольничной пневмонии, позволяющий не только выявить патологические изменения (консолидации, динамические бронхограммы, множественные В-линии), но и проводить динамический мониторинг эффективности терапии. Несмотря на существующие ограничения, применение стандартизированных протоколов, систем обучения и перспективное внедрение методов искусственного интеллекта способны значительно повысить точность диагностики и снизить риск ошибочной интерпретации. В современных условиях интеграция УЗИ с клиническими и лабораторными данными является важным шагом на пути к персонализированному ведению пациентов в отделениях интенсивной терапии.

Для своевременного назначения адекватной антимикробной терапии критически важно не только фенотипическое определение чувствительности возбудителей к потенциально актив-

ным препаратам, но и расшифровка генетических механизмов резистентности. Молекулярные и иммунохроматографические экспресс-тесты, позволяющие в пределах 1 ч определить наличие детерминант устойчивости микроорганизмов к бета-лактамам антибиотикам, в обязательном порядке должны входить в арсенал современной микробиологической лаборатории.

Дополнительная информация

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература/References

1. Рачина С. А., Синопольников А. И. Инфекционные заболевания нижних дыхательных путей. В книге: Основы внутренней медицины. Под ред. Моисеева В. С., Кобалавы Ж. Д., Маева И. В. и др. 2-е изд., перераб. и доп. М.: ООО «МИА»; 2020; 1: 145–169. [Rachina S. A., Sinopolnikov A. I. Lower respiratory tract infections. In: Moiseev V. S., Kobalava Zh. D., Maev I. V. et al. (ed.). Fundamentals of Internal Medicine. 2 ed., rev. and enl. Moscow: LLC «MIA»; 2020; 1: 145–169. (in Russian)]
2. Нозокомиальная пневмония у взрослых: Российские национальные рекомендации. Под ред. акад. РАН Б.Р.Гельфанда; отв. ред. Д. Н. Проценко, Б. З. Белоцерковский — 2-е изд., перераб. и доп. — М.: ООО «Издательство «Медицинское информационное агентство»; 2016; 176. [Nosokomialnaya pnevmoniya u vzroslykh: Rossiiskie natsional'nye rekomendatsii. B. R. Gelfand (ed.), D. N. Prot-senko, B. Z. Belotserkovskiy (resp. eds.). 2nd ed., rev. and enl. Moscow: Meditsinskoe Informatsionnoe Agentstvo; 2016; 176. (in Russian)]
3. Dallas J., Skrupky L., Abebe N., Boyle W. A. 3rd, Kollef M. H. Ventilator-associated tracheobronchitis in a mixed surgical and medical ICU population. Chest. 2011; 139 (3): 513–518. doi: 10.1378/chest.10-1336.
4. Niederman M. S. Hospital-acquired pneumonia, health care-associated pneumonia, ventilator-associated pneumonia, and ventilator-associated tracheobronchitis: definitions and challenges in trial design. Clin Infect Dis. 2010; 51 Suppl 1: S12–S17. doi: 10.1086/653035.
5. Кузовлев А. Н., Шабанов А. К., Гречко А. В. Нозокомиальный трахеобронхит в реаниматологии: проблемы диагностики и лечения. Вестник интенсивной терапии им. А. И. Салтанова. 2018; (1): 43–47. doi: <https://doi.org/10.21320/1818-474X-2018-1-43-47>. [Kuzovlev A. N., Shabanov A. K., Grechko A. V. On the diagnosis and treatment of nosocomial tracheobronchitis in intensive care medicine. Annals of Critical Care. 2018; (1): 43–47. doi: <https://doi.org/10.21320/1818-474X-2018-1-43-47>. (in Russian)]
6. Bloos E., Marshall J. C., Dellinger R. P., Vincent J. L., Gutierrez G., Rivers E. et al. Multinational, observational study of procalcitonin in ICU patients with pneumonia requiring mechanical ventilation: a multicenter observational study. Crit Care. 2011; 15 (2): R88. doi: 10.1186/cc10087.
7. Rodríguez-Villodres Á., Martín-Gandul C., Peñalva G., Guisado-Gil A. B., Crespo-Rivas J. C., Pachón-Ibáñez M. E. et al. Prevalence and risk factors for multidrug-resistant organisms colonization in long-term care facilities around the world: a review. Antibiotics (Basel). 2021; 10 (6): 680. doi: 10.3390/antibiotics10060680.
8. Клясова Г. А., Коробова А. Г., Фролова И. Н., Охмат В. А., Куликов С. М., Паровичникова Е. Н. и др. Детекция энтеробактерий с продукцией бета-лактамаз расширенного спектра у больных острыми миелоидными лейкозами и лимфомами при поступлении в стационар. Гематология и трансфузиология. 2016; 61 (1): 25–32. doi: <https://doi.org/10.18821/0234-5730-2016-61-1-25-32>. [Klyasova G. A., Korobova A. G., Frolova I. N., Okhmat V. A., Kulikov S. M., Parovichnikova E. N. et al. Detection of extended-spectrum β -lactamase producing Enterobacteriaceae (ESBL-E) among patients with acute myeloid leukemia and lymphoma upon admission to hospital. Russian Journal of Hematology and Transfusiology. 2016; 61 (1): 25–32. doi: <https://doi.org/10.18821/0234-5730-2016-61-1-25-32>. (in Russian)]
9. Hu Y., Qing Y., Chen J., Liu C., Lu J., Wang Q. et al. Prevalence, risk factors, and molecular epidemiology of intestinal carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. Microbiol Spectr. 2021; 9 (3): e0134421. doi: 10.1128/Spectrum.01344-21
10. Bar Ilan M., Kjerulf A. Who should be screened for carbapenemase-producing Enterobacteriales and when? A systematic review. J Hosp Infect. 2023; 142: 74–87. doi: 10.1016/j.jhin.2023.09.018.
11. Tian F., Li Y., Wang Y., Yu B., Song J., Ning Q. et al. Risk factors and molecular epidemiology of fecal carriage of carbapenem resistant Enterobacteriaceae in patients with liver disease. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2023; 22 (1): 10. doi: 10.1186/s12941-023-00560-8.
12. Ни О. Г., Белоцерковский Б. З., Круглов А. Н., Матяш М. И., Быков А. О., Яковлев С. В. и др. Распространенность и факторы риска колонизации карбапенемрезистентными микроорганизмами у пациентов, поступающих в многопрофильный стационар. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2024; 23 (6): 83–103. doi: 10.31631/2073-3046-2024-23-6-83-103. [Ni O. G., Belotserkovskiy B. Z., Kruglov A. N., Matyash M. I., Bykov A. O., Yakovlev S. V. et al. Prevalence and risk factors for colonization with carbapenem-resistant microorganisms in patients admitted to a multidisciplinary hospital. Epidemiology and Vaccinal Prevention. 2024; 23 (6): 83–103. doi: 10.31631/2073-3046-2024-23-6-83-103. (in Russian)]
13. Яковлев С. В., Суворова М. П., Белобородов В. Б., Басин Е. Е., Елисеева Е. В., Ковеленов С. В., Портнягина У. С., Рог А. А., Руднов В. А., Барканова О. Н. Распространенность и клиническое значение нозокомиальных инфекций в лечебных учреждениях России: исследование ЭРГИНИ. Антибиотики и химиотер. 2016; 61 (5–6): 32–42. [Yakovlev S. V., Suvorova M. P., Beloborodov V. B., Basin E. E., Eliseeva E. V., Kovelenov S. V., Porthyagina U. S., Rog A. A., Rudnov V. A., Barkanova O. N. Multicentre study of the prevalence and clinical value of hospital-acquired infections in emergency hospitals of Russia: ERGINI study. Antibiot Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy. 2016; 61 (5–6): 32–42. (in Russian)]
14. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2024 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 2025; 424. [O sostoyanii sanitarno-epidemiologicheskogo blagopoluchiya naseleniya v Rossiiskoi Federatsii v 2024 godu: State report. Moscow: Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing (Rosпотребнадзор); 2025; 424. (in Russian)]
15. Jethwa S. Diagnosis and management of hospital-acquired pneumonia in older adults. Pharmaceutical Journal. January 2018. doi: <https://doi.org/10.1211/pj.2018.20204336>.
16. Koulenti D., Zhang Y., Fragkou P. C. Nosocomial pneumonia diagnosis revisited. Curr Opin Crit Care. 2020; 26 (5): 442–449. doi: 10.1097/MCC.0000000000000756.
17. Papazian L., Klompas M., Luyt C. E. Ventilator-associated pneumonia in adults: a narrative review. Intensive Care Med. 2020; 46 (5): 888–906. doi: 10.1007/s00134-020-05980-0
18. Koulenti D., Tsigou E., Rello J. Nosocomial pneumonia in 27 ICUs in Europe: perspectives from the EU-VAP/CAP study. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2017; 36 (11): 1999–2006. doi: 10.1007/s10096-016-2703-z.
19. Stoclin A., Rotolo F., Hicheri Y. et al. Ventilator-associated pneumonia and bloodstream infections in intensive care unit cancer patients: a retrospective 12-year study on 3388 prospectively monitored patients. Support Care Cancer. 2020; 28 (1): 193–200. doi: 10.1007/s00520-019-04800-6.
20. Vincent J. L., Bihari D. J., Suter P. M. et al. The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe. Results of the European prevalence of infection in intensive care (epic) study. EPIC International Advisory Committee. JAMA. 1995; 274 (8): 639–644.

21. Rosenthal V. D., Maki D. G., Salomao R. et al. Device-associated nosocomial infections in 55 intensive care units of 8 developing countries. *Ann Intern Med.* 2006; 145 (8): 582–591. doi: 10.7326/0003-4819-145-8-200610170-00007.
22. Raoofi S., Pashazadeh Kan F., Rafiei S. et al. Global prevalence of nosocomial infection: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2023; 18 (1): e0274248. doi: 10.1371/journal.pone.0274248.
23. Klompas M., Kleinman K., Murphy M. V. Descriptive epidemiology and attributable morbidity of ventilator-associated events. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2014; 35 (5): 502–510. doi: 10.1086/675834.
24. Richards M. J., Edwards J. R., Culver D. H., Gaynes R. P. Nosocomial infections in combined medical-surgical intensive care units in the United States. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2000; 21 (8): 510–515. doi: 10.1086/501795.
25. Hunter J. D. Ventilator associated pneumonia. *BMJ.* 2012; 344: e3325. doi: 10.1136/bmj.e3325.
26. Koulenti D., Lisboa T., Brun-Buisson C. et al. Spectrum of practice in the diagnosis of nosocomial pneumonia in patients requiring mechanical ventilation in European intensive care units. *Crit Care Med.* 2009; 37 (8): 2360–2368. doi: 10.1097/CCM.0b013e3181a037ac.
27. Гельфанд Б. Р., Белоцерковский Б. З., Милукова И. А., Гельфанд Е. Б. Эпидемиология и нозологическая структура нозокомальных инфекций в отделении реанимации и интенсивной терапии многопрофильного стационара. *Инфекции в хирургии.* 2014; 4: 24–36. [Gelfand B. R., Belotserkovskiy B. Z., Milyukova I. A., Gelfand E. B. Epidemiologiya i nozologicheskaya struktura nozokomial'nykh infektsii v otdelenii reanimatsii i intensivnoi terapii mnogoprofil'nogo statsionara. *Infektsii v Khirurgii.* 2014; 4: 24–36. (in Russian)]
28. Kollef M. H., Hamilton C. W., Ernst F. R. Economic impact of ventilator-associated pneumonia in a large matched cohort. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2012; 33 (3): 250–256. doi: 10.1086/664049.
29. Masterton R. G., Galloway A., French G. et al. Guidelines for the management of hospital-acquired pneumonia in the UK: report of the working party on hospital-acquired pneumonia of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy. *J Antimicrob Chemother.* 2008; 62 (1): 5–34. doi: 10.1093/jac/dkn162.
30. Melsen W. G., Rovers M. M., Groenewold R. H. et al. Attributable mortality of ventilator-associated pneumonia: a meta-analysis of individual patient data from randomised prevention studies. *Lancet Infect Dis.* 2013; 13 (8): 665–671. doi: 10.1016/S1473-3099 (13)70081-1.
31. Iregui M., Ward S., Sherman G., Fraser V. J., Kollef M. H. Clinical importance of delays in the initiation of appropriate antibiotic treatment for ventilator-associated pneumonia. *Chest.* 2002; 122 (1): 262–268. doi: 10.1378/chest.122.1.262.
32. Kalanuria A. A., Ziai W., Mirski M. Ventilator-associated pneumonia in the ICU. *Crit Care.* 2014; 18 (2): 208. doi: 10.1186/cc13775.
33. Fernando S. M., Tran A., Cheng W. et al. Diagnosis of ventilator-associated pneumonia in critically ill adult patients—a systematic review and meta-analysis. *Intensive Care Med.* 2020; 46 (6): 1170–1179. doi: 10.1007/s00134-020-06036-z.
34. Horan T. C., Andrus M., Dudeck M. A. CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *Am J Infect Control.* 2008; 36 (5): 309–332. doi: 10.1016/j.ajic.2008.03.002.
35. Tejerina E., Esteban A., Fernández-Segoviano P. et al. Accuracy of clinical definitions of ventilator-associated pneumonia: comparison with autopsy findings. *J Crit Care.* 2010; 25 (1): 62–68. doi: 10.1016/j.jcrc.2009.05.008.
36. Ferreira-Coimbra J., Ardanuy C., Diaz E. et al. Ventilator-associated pneumonia diagnosis: a prioritization exercise based on multi-criteria decision analysis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2020; 39 (2): 281–286. doi: 10.1007/s10096-019-03720-x.
37. Agarwal P., Wielandner A. Nosokomiale pneumonie aus radiologischer sicht. *Der Radiologe.* 2016; 57 (1): 13–21. (in German) doi: 10.1007/s00117-016-0191-x.
38. Goodman L. R. Felson's principles of chest roentgenology: a programmed text. 5th ed. Amsterdam: Elsevier; 2020.
39. Gruden J. E., Huang L., Turner J. et al. High-resolution CT in the evaluation of clinically suspected *Pneumocystis carinii* pneumonia in AIDS patients with normal, equivocal, or nonspecific radiographic findings. *AJR Am J Roentgenol.* 1997; 169 (4): 967–975. doi: 10.2214/ajr.169.4.9308446.
40. Franquet T. Imaging of pneumonia: trends and algorithms. *Eur Respir J.* 2001; 18 (1): 196–208. doi: 10.1183/09031936.01.00213501.
41. Wunderink R. G., Woldenberg L. S., Zeiss J., Day C. M., Ciemins J., Lacher D. A. The radiologic diagnosis of autopsy-proven ventilator-associated pneumonia. *Chest.* 1992; 101 (2): 458–463. doi: 10.1378/chest.101.2.458.
42. Fàbregas N., Ewig S., Torres A. et al. Clinical diagnosis of ventilator-associated pneumonia revisited: comparative validation using immediate post-mortem lung biopsies. *Thorax.* 1999; 54 (10): 867–873. doi: 10.1136/thx.54.10.867.
43. Torres A., el-Ebiary M., Padró L. et al. Validation of different techniques for the diagnosis of ventilator-associated pneumonia. Comparison with immediate postmortem pulmonary biopsy. *Am J Respir Crit Care Med.* 1994; 149 (2 Pt 1): 324–331. doi: 10.1164/ajrccm.149.2.8306025.
44. Knight P. H., Maheshwari N., Hussain J. et al. Complications during intra-hospital transport of critically ill patients: Focus on risk identification and prevention. *Int J Crit Illn Inj Sci.* 2015; 5 (4): 256–264. doi: 10.4103/2229-5151.170840.
45. Fred H. L. Drawbacks and limitations of computed tomography: views from a medical educator. *Tex Heart Inst J.* 2004; 31 (4): 345–348.
46. Mohamed Hoessein F. Low-dose computed tomography instead of radiography in suspected pneumonia. *Breathe (Sheff).* 2019; 15 (1): 81–83. doi: 10.1183/20734735.0319-2018.
47. Prendki V., Scheffler M., Huttner B. et al. Low-dose computed tomography for the diagnosis of pneumonia in elderly patients: a prospective, interventional cohort study. *Eur Respir J.* 2018; 51 (5): 1702375. doi: 10.1183/13993003.02375-2017.
48. Kroft L. J. M., van der Velden L., Girón I. H., Roelofs J. J. H., de Roos A., Geleijns J. Added value of ultra-low-dose computed tomography, dose equivalent to chest x-ray radiography, for diagnosing chest pathology. *J Thorac Imaging.* 2019; 34 (3): 179–186. doi: 10.1097/RTI.0000000000000404.
49. Приказ Минздрава России от 15.11.2012 № 919н «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи взрослому населению по профилю «анестезиология и реаниматология»». Доступно по: <https://minzdrav.gov.ru/documents/9128-prikaz-ministerstva-zdravoohraneniya-rossiyskoy-federatsii-ot-15-noyabrya-2012-g-919n-ob-utverzhdanii-poryadka-okazaniya-meditsinskoy-pomoschi-vzrosloму-naseleniyu-po-profil'yū-anesteziologii-i-reanimatologii>. Ссылка активна на 12.09.2025. [Order of the Ministry of Health of the Russian Federation No. 919n of 15 November 2012 «Ob utverzhdanii Poryadka okazaniya meditsinskoi pomoshchi vzrosloму naseleniyu po profil'yū 'anesteziologii i reanimatologii'». Available from: <https://minzdrav.gov.ru/documents/9128-prikaz-ministerstva-zdravoohraneniya-rossiyskoy-federatsii-ot-15-noyabrya-2012-g-919n-ob-utverzhdanii-poryadka-okazaniya-meditsinskoy-pomoschi-vzrosloму-naseleniyu-po-profil'yū-anesteziologii-i-reanimatologii>. Accessed 12 September 2025. (in Russian)]
50. Lichtenstein D. A. BLUE-protocol and FALLS-protocol: two applications of lung ultrasound in the critically ill. *Chest.* 2015; 147 (6): 1659–1670. doi: 10.1378/chest.14-1313.
51. Lee L., DeCarra J. M. Point-of-care ultrasound. *Curr Cardiol Rep.* 2020; 22 (11): 149. doi: 10.1007/s11886-020-01394-y.
52. Приказ Министерства труда и социальной защиты Российской Федерации от 27.08.2018 № 554н «Об утверждении профессионального стандарта «Врач — анестезиолог-реаниматолог»». Доступно по: <http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001201809170020>. Ссылка активна на 12.09.2025. [Order of the Ministry of Labour and Social Protection of the Russian Federation No. 554n of 27 August 2018 «Ob utverzhdanii professional'nogo standarta 'Vrach — anesteziolog-reanimatolog'». Available from: <http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001201809170020>. Accessed 12 September 2025. (in Russian)]
53. Lichtenstein D. A., Mezière G. A. Relevance of lung ultrasound in the diagnosis of acute respiratory failure: the BLUE protocol. *Chest.* 2008; 134 (1): 117–125. doi: 10.1378/chest.07-2800.
54. Bouhemad B., Dransart-Rayé O., Mojoli F., Mongodi S. Lung ultrasound for diagnosis and monitoring of ventilator-associated pneumonia. *Ann Transl Med.* 2018; 6 (21): 418. doi: 10.21037/atm.2018.10.46.
55. Roubey J. J., Arbelot C., Gao Y. et al. Training for lung ultrasound score measurement in critically ill patients. *Am J Respir Crit Care Med.* 2018; 198 (3): 398–401. doi: 10.1164/rccm.201802-0227LE.
56. Проценко Д. Н., Логвинов Ю. И., Родионов Е. П., Лыкин В. Н., Филатов П. Э., Соловьев В. С. и др. Практическая ультразвукография. Национальное руководство для врачей. М: ГЭОТАР-Медиа; 2022; 280. doi: <https://doi.org/10.33029/9704-7333-7-PUSG-2022-1-280>. [Protsenko D. N., Logvinov Y. I., Rodionov E. P., Lykhin V. N., Filyavin R. E., Solov'ev V. S. et al. Prakticheskaya ultrasonografiya. Natsional'noe rukovodstvo dlya vrachei. Moscow: GEOTAR-Media; 2022; 280. doi: <https://doi.org/10.33029/9704-7333-7-PUSG-2022-1-280>. (in Russian)]
57. Bouhemad B., Mongodi S., Via G., Rouquette I. Ultrasound for «lung monitoring» of ventilated patients. *Anesthesiology.* 2015; 122 (2): 437–447. doi: 10.1097/ALN.0000000000000558.
58. Cox E. G. M., Wiersema R., Wong A., Van Der Horst I. C. C. Six versus eight and twenty-eight scan sites for B-line assessment: differences in

- examination time and findings. *Intensive Care Med.* 2020; 46 (5): 1063–1064. doi: 10.1007/s00134-020-06004-7.
59. *Staub L. J., Biscaro R. R.M., Maurici R.* Emergence of alveolar consolidations in serial lung ultrasound and diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *J Intensive Care Med.* 2021; 36 (3): 304–312. doi: 10.1177/0885066619894279.
 60. *Vignon P., Chastagner C., Berkane V. et al.* Quantitative assessment of pleural effusion in critically ill patients by means of ultrasonography. *Crit Care Med.* 2005; 33 (8): 1757–1763. doi: 10.1097/01.ccm.0000171532.02639.08.
 61. *Balik M., Plasil P., Waldauf P. et al.* Ultrasound estimation of volume of pleural fluid in mechanically ventilated patients. *Intensive Care Med.* 2006; 32 (2): 318. doi: 10.1007/s00134-005-0024-2.
 62. *Volpicelli G.* Sonographic diagnosis of pneumothorax. *Intensive Care Med.* 2011; 37 (2): 224–232. doi: 10.1007/s00134-010-2079-y.
 63. *Özyilmaz E., Bayrakci S., Kusu O. et al.* The diagnostic cut off value of lung ultrasound score to differentiate hospital acquired/ventilator associated pneumonia and hospital acquired/ventilator associated tracheobronchitis [abstract]. *Eur Respir J.* 2020; 56 (Suppl 64): 348. doi: 10.1183/13993003.congress-2020.348.
 64. Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории: Методические указания. М: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора; 2006. 126 с. Доступно по: <https://www.rosпотребнадзор.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=4750> Ссылка активна на 12.09.2025. [Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории: Методические указания. Moscow: «Federal Hygienic and Epidemiological Center» of Rosпотребнадзор; 2006; 126. Available from: <https://www.rosпотребнадзор.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=4750> Accessed 12 September 2025. (in Russian)]
 65. *Kalil A. C., Metersky M. L., Klompas M. et al.* Management of adults with hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia: 2016 Clinical practice guidelines by the infectious diseases society of America and the American thoracic society. *Clin Infect Dis.* 2016; 63 (5): e61–e111. doi: 10.1093/cid/ciw353.
 66. *Fagon J. Y., Chastre J., Wolff M. et al.* Invasive and noninvasive strategies for management of suspected ventilator-associated pneumonia. A randomized trial. *Ann Intern Med.* 2000; 132 (8): 621–630. doi: 10.7326/0003-4819-132-8-200004180-00004.
 67. *Bonten M. J., Bergmans D. C., Stobberingh E. E. et al.* Implementation of bronchoscopic techniques in the diagnosis of ventilator-associated pneumonia to reduce antibiotic use. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997; 156 (6): 1820–1824. doi: 10.1164/ajrccm.156.6.9610117.
 68. *Sanchez-Nieto J. M., Torres A., Garcia-Cordoba F. et al.* Impact of invasive and noninvasive quantitative culture sampling on outcome of ventilator-associated pneumonia: a pilot study. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998; 157 (2): 371–376. doi: 10.1164/ajrccm.157.2.97-02039.
 69. *Solé Violán J., Fernández J. A., Benítez A. B., Cardeñosa Cendrero J. A., Rodríguez de Castro F.* Impact of quantitative invasive diagnostic techniques in the management and outcome of mechanically ventilated patients with suspected pneumonia. *Crit Care Med.* 2000; 28 (8): 2737–2741. doi: 10.1097/00003246-200008000-00009.
 70. *Ruiz M., Torres A., Ewig S. et al.* Noninvasive versus invasive microbial investigation in ventilator-associated pneumonia: evaluation of outcome. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000; 162 (1): 119–125. doi: 10.1164/ajrccm.162.1.9907090.
 71. *Martin-Loeches I., Chastre J., Wunderink R. G.* Bronchoscopy for diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Intensive Care Med.* 2023; 49 (1): 79–82. doi: 10.1007/s00134-022-06898-5.
 72. *Yoo I. Y., Huh K., Shim H. J. et al.* Evaluation of the Biofire flimmaray pneumonia panel for rapid detection of respiratory bacterial pathogens and antibiotic resistance genes in sputum and endotracheal aspirate specimens. *Int J Infect Dis.* 2020; 95: 326–331. doi: 10.1016/j.ijid.2020.03.024.
 73. *Endimiani A., Hujer K. M., Hujer A. M. et al.* Are we ready for novel detection methods to treat respiratory pathogens in hospital-acquired pneumonia? *Clin Infect Dis.* 2011; 52 Suppl 4 (Suppl 4): S373–S383. doi: 10.1093/cid/cir054.
 74. *Cilloniz C., Liapikou A., Torres A.* Advances in molecular diagnostic tests for pneumonia. *Curr Opin Pulm Med.* 2020; 26 (3): 241–248. doi: 10.1097/MCP.0000000000000668.
 75. *Liapikou A., Cilloniz C., Torres A.* Emerging strategies for the noninvasive diagnosis of nosocomial pneumonia. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2019; 17 (7): 523–533. doi: 10.1080/14787210.2019.1635010.
 76. *Seng P., Rolain J. M., Fournier P. E., La Scola B., Drancourt M., Raoult D.* MALDI-TOF-mass spectrometry applications in clinical microbiology. *Future Microbiol.* 2010; 5 (11): 1733–1754. doi: 10.2217/fmb.10.127.
 77. *Seng P., Drancourt M., Gouret F. et al.* Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clin Infect Dis.* 2009; 49 (4): 543–551. doi: 10.1086/600885.
 78. *Huang A. M., Newton D., Kunapuli A. et al.* Impact of rapid organism identification via matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight combined with antimicrobial stewardship team intervention in adult patients with bacteremia and candidemia. *Clin Infect Dis.* 2013; 57 (9): 1237–1245. doi: 10.1093/cid/cit498.
 79. *Mok J. H., Eom J. S., Jo E. J. et al.* Clinical utility of rapid pathogen identification using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry in ventilated patients with pneumonia: a pilot study. *Respirology.* 2016; 21 (2): 321–328. doi: 10.1111/resp.12677.
 80. Российские рекомендации. Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам. Версия 2025-01. Год утверждения (частота пересмотра): 2025 (пересмотр ежегодно). Смоленск: МАКМАХ, СГМУ; 2025; 208. [Rossiiskie rekomendatsii. Opredelenie chuvstvitel'nosti mikroorganizmov k antimikrobnym preparatam. Versiya 2025-01. God utverzhdeniya (chastota peresmotra): 2025 (peresmotr ezhegodno). Smolensk: MAKMAKH, SGMU; 2025; 208. (in Russian)]
 81. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). EUCAST public consultations [Internet]. [cited 2025 Sep 12]. Available from: https://www.eucast.org/publications_and_documents/consultations/
 82. *Giske C. G., Turnidge J., Cantón R., Kahlmeter G.; EUCAST Steering Committee.* Update from the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). *J Clin Microbiol.* 2022; 60 (3): e0027621. doi: 10.1128/JCM.00276-21.
 83. Кузьменков А. Ю., Виноградова А. Г., Трушин И. В., Эйдельштейн М. В., Авраменко А. А., Дехнич А. В., и др. AMRmap — система мониторинга антибиотикорезистентности в России. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2021; 23 (2): 198–204. doi: <https://doi.org/10.36488/cmasc.2021.2.198-204>. [Kuzmenkov A. Yu., Vinogradova A. G., Trushin I. V., Edelstein M. V., Avramenko A. A., Dekhnich A. V. et al. AMRmap — antibiotic resistance surveillance system in Russia. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy.* 2021; 23 (2): 198–204. doi: <https://doi.org/10.36488/cmasc.2021.2.198-204>. (in Russian).]
 84. Яковлев С. В., Суворова М. П., Быков А. О. Инфекции, вызванные карбапенеморезистентными энтеробактериями: эпидемиология, клиническое значение и возможности оптимизации антибактериальной терапии. Антибиотики и химиотер. 2020; 65 (5–6): 41–69. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2020-65-5-6-41-69>. [Yakovlev S. V., Suvorova M. P., Bykov A. O. Infections caused by carbapenem-resistant Enterobacterales: epidemiology, clinical significance, and possibilities for antibiotic therapy optimization. *Antibiot Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy.* 2020; 65 (5–6): 41–69. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2020-65-5-6-41-69>. (in Russian)]
 85. Козлов С. Н., Козлов Р. С. Современная антимикробная химиотерапия: Руководство для врачей. 3-е изд., перераб. и доп. М.: ООО «Медицинское информационное агентство»; 2017; 400. [Kozlov S. N., Kozlov R. S. Sovremennaya antimikrobnaya khimioterapiya: Rukovodstvo dlya vrachei. 3rd ed., rev. and enl. Moscow: Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo; 2017; 400. (in Russian)]
 86. Сидоренко С. В., Тишков В. И. Молекулярные основы резистентности к антибиотикам. Успехи биологической химии. 2004; 44: 263–306. [Sidorenko S. V., Tishkov V. I. Molekulyarnye osnovy rezistentnosti k antibiotikam. *Uspekhi biologicheskoi khimii.* 2004; 44: 263–306. (in Russian)]
 87. *Xu E., Pérez-Torres D., Fragkou P. C., Zahar J. R., Koulenti D.* Nosocomial pneumonia in the era of multidrug-resistance: updates in diagnosis and management. *Microorganisms.* 2021; 9 (3): 534. Published 2021 Mar 5. doi: 10.3390/microorganisms9030534.
 88. Белоцерковский Б. З., Костин Д. М., Быков А. О., Матяш М. И., Шифман Е. М., Проценко Д. Н. Раннее назначение цефтриаксима-авибактама как путь к повышению эффективности антибактериальной терапии инфекций, вызванных карбапенемрезистентными возбудителями. Анестезиология и реаниматология. 2024; (2): 78–90. doi: <https://doi.org/10.17116/anaesthesiology202402178>. [Belotserkovskiy B. Z., Kostin D. M., Bykov A. O., Matyash M. I., Shifman E. M., Protzenko D. N. Early administration of ceftazidime-avibactam for effective antibacterial therapy of infections caused by carbapenem-resistant pathogens. *Russian Journal of Anesthesiology and Reanimatology.* 2024; (2): 78–90. doi: <https://doi.org/10.17116/anaesthesiology202402178>. (in Russian)]
 89. Белобородов В. Б., Голощапов О. В., Гусаров В. Г., Дехнич А. В., Заматин М. Н., Золотухин К. Н., и др. Диагностика и антимикробная терапия инфекций, вызванных полирезистентными микроорганизмами (обновление 2024 года). Вестник анестезиологии и реаниматологии. 2024; 21 (3): 15–24. doi: 10.26907/2542-0398.2024.21.3.15-24.

- ниматологии. 2025; 22 (2): 149–189. doi: <https://doi.org/10.24884/2078-5658-2025-22-2-149-189>. [Beloborodov V. B., Goloshchapov O. V., Gussarov V. G., Dekhlich A. V., Zamyatin M. N., Zolotukhin K. N. et al. Diagnosis and antimicrobial therapy of infections caused by polyresistant microorganisms (updated 2024). Messenger of Anesthesiology and Resuscitation. 2025; 22 (2): 149–189. doi: <https://doi.org/10.24884/2078-5658-2025-22-2-149-189>. (in Russian)]
90. Попов Д. А. Сравнительная характеристика современных методов определения продукции карбапенемаз. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2019; 21 (2): 125–133. doi: <https://doi.org/10.36488/cmasc.2019.2.125-133>. [Popov D. A. Comparative review of the modern methods for carbapenemases detection. Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy. 2019; 21 (2): 125–133. doi: <https://doi.org/10.36488/cmasc.2019.2.125-133>. (in Russian)]
 91. bioMérieux. BioFire Pneumonia Panel [Internet]. [cited 2025 Sep 12]. Available from: <https://www.biomerieux.com/us/en/our-offer/clinical-products/biofire-pneumonia-panel.html>
 92. Murphy C. N., Fowler R., Balada-Llasat J. M. et al. Multicenter evaluation of the Biofire Filmarray Pneumonia/pneumonia plus panel for detection and quantification of agents of lower respiratory tract infection. J Clin Microbiol. 2020; 58 (7): e00128-20. doi: [10.1128/JCM.00128-20](https://doi.org/10.1128/JCM.00128-20).
 93. Edin A., Eilers H., Allard A. Evaluation of the Biofire Filmarray Pneumonia panel plus for lower respiratory tract infections. Infect Dis (Lond). 2020; 52 (7): 479–488. doi: [10.1080/23744235.2020.1755053](https://doi.org/10.1080/23744235.2020.1755053).
 94. Wareham D. W., Phee L. M., Abdul Momin M. H. F. Direct detection of carbapenem resistance determinants in clinical specimens using immunochromatographic lateral flow devices. J Antimicrob Chemother. 2018; 73 (7): 1997–1998. doi: [10.1093/jac/dky095](https://doi.org/10.1093/jac/dky095).
 95. Белоцерковский Б. З., Круглов А. Н., Ху О. Г., Матяш М. И., Костин Д. М., Шифман Е. М. и др. Этиологическая структура инфекций у пациентов отделения реанимации хирургического профиля в постковидную эпоху. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2024; 26 (2): 124–140. doi: <https://doi.org/10.36488/cmasc.2024.2.124-140>. [Belotserkovskiy B. Z., Kruglov A. N., Ni O. G., Matyash M. I., Kostin D. M., Shifman E. M. et al. Etiological structure of infections in patients of the surgical intensive care unit in the post-covid era. Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy. 2024; 26 (2): 124–140. doi: <https://doi.org/10.36488/cmasc.2024.2.124-140>. (in Russian)]
 96. Schnabel R., Fijten R., Smolinska A. et al. Analysis of volatile organic compounds in exhaled breath to diagnose ventilator-associated pneumonia. Sci Rep. 2015; 5: 17179. doi: [10.1038/srep17179](https://doi.org/10.1038/srep17179).
 97. Chen C. Y., Lin W. C., Yang H. Y. Diagnosis of ventilator-associated pneumonia using electronic nose sensor array signals: solutions to improve the application of machine learning in respiratory research. Respir Res. 2020; 21 (1): 45. doi: [10.1186/s12931-020-1285-6](https://doi.org/10.1186/s12931-020-1285-6).
 98. Kutz A., Briel M., Christ-Crain M. et al. Prognostic value of procalcitonin in respiratory tract infections across clinical settings. Crit Care. 2015; 19 (1): 74. doi: [10.1186/s13054-015-0792-1](https://doi.org/10.1186/s13054-015-0792-1).
 99. Samsudin I., Vasikaran S. D. Clinical utility and measurement of procalcitonin. Clin Biochem Rev. 2017; 38 (2): 59–68.
 100. Kim J. H. Clinical utility of procalcitonin on antibiotic stewardship: a narrative review. Infect Chemother. 2022; 54 (4): 610–620. doi: [10.3947/ic.2022.0162](https://doi.org/10.3947/ic.2022.0162).
 101. Póvoa P., Martín-Loeches I., Ramirez P. et al. Biomarkers kinetics in the assessment of ventilator-associated pneumonia response to antibiotics — results from the BioVAP study. J Crit Care. 2017; 41: 91–97. doi: [10.1016/j.jcrc.2017.05.007](https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2017.05.007).
 102. Overstijns M., Scheffler P., Buttler J., Beck J., El Rahal A. Serum procalcitonin in the diagnosis of pneumonia in the neurosurgical intensive care unit. Neurosurg Rev. 2025; 48 (1): 373. doi: [10.1007/s10143-025-03529-7](https://doi.org/10.1007/s10143-025-03529-7).
 103. Pereira M. A., Rouxinol-Dias A. L., Vieira T., Paiva J. A., Pereira J. M. Usefulness of early c-reactive protein kinetics in response and prognostic assessment in infected critically ill patients: an observational retrospective study. Acta Med Port. 2019; 32 (12): 737–745. doi: [10.20344/amp.12143](https://doi.org/10.20344/amp.12143).
 104. Farkas J. D. The complete blood count to diagnose septic shock. J Thorac Dis. 2020; 12 (Suppl 1): S16–S21. doi: [10.21037/jtd.2019.12.63](https://doi.org/10.21037/jtd.2019.12.63).
 105. Belok S. H., Bosch N. A., Klings E. S., Walkey A. J. Evaluation of leukopenia during sepsis as a marker of sepsis-defining organ dysfunction. PLoS One. 2021; 16 (6): e0252206. Published 2021 Jun 24. doi: [10.1371/journal.pone.0252206](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0252206).
 106. Gromelsky Ljungerantz E., Askman S., Sjövall F., Paulsson M. Biomarkers in lower respiratory tract samples in the diagnosis of ventilator-associated pneumonia: a systematic review. Eur Respir Rev. 2025; 34 (176): 240229. doi: [10.1183/16000617.0229-2024](https://doi.org/10.1183/16000617.0229-2024).
 107. Conway Morris A., Kefala K., Wilkinson T. S. et al. Diagnostic importance of pulmonary interleukin-1beta and interleukin-8 in ventilator-associated pneumonia. Thorax. 2010; 65 (3): 201–207. doi: [10.1136/thx.2009.122291](https://doi.org/10.1136/thx.2009.122291).
 108. Hellyer T. P., McAuley D. F., Walsh T. S. et al. Biomarker-guided antibiotic stewardship in suspected ventilator-associated pneumonia (VAPrapid2): a randomised controlled trial and process evaluation. Lancet Respir Med. 2020; 8 (2): 182–191. doi: [10.1016/S2213-2600\(19\)30367-4](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(19)30367-4).
 109. Torres A., Niederman M. S., Chastre J. et al. Summary of the international clinical guidelines for the management of hospital-acquired and ventilator-acquired pneumonia. ERJ Open Research. 2018; 4 (2): 00028–02018. doi: [10.1183/23120541.00028-2018](https://doi.org/10.1183/23120541.00028-2018).
 110. Pugin J., Auckenthaler R., Mili N., Janssens J. P., Lew P. D., Suter P. M. Diagnosis of ventilator-associated pneumonia by bacteriologic analysis of bronchoscopic and nonbronchoscopic «blind» bronchoalveolar lavage fluid. Am Rev Respir Dis. 1991; 143 (5 Pt 1): 1121–1129. doi: [10.1164/ajrccm/143.5_Pt_1.1121](https://doi.org/10.1164/ajrccm/143.5_Pt_1.1121).
 111. Kollef M. H. Clinical presentation and diagnostic evaluation of ventilator-associated pneumonia. In: Manaker S., ed. UpToDate [Internet]. Wolters Kluwer; 2025 Apr 25 [cited 2025 Sep 12]. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/clinical-presentation-and-diagnostic-evaluation-of-ventilator-associated-pneumonia>
 112. Белоцерковский Б. З. Нозокомиальная пневмония, связанная с ИВЛ у хирургических больных: Дисс. на соискание учёной степени канд. мед. наук. М.; 1999. [Belotserkovskiy B. Z. Nozokomial'naya pnevmoniya, svyazannaya s IVL u khirurgicheskikh bol'nykh [dissertation]. Moscow; 1999. (in Russian)]
 113. Проценко Д. Н. Нозокомиальная пневмония у больных в острый период тяжёлой травмы: Дисс. на соискание учёной степени канд. мед. наук. М.; 2003. [Protsenko D. N. Nozokomial'naya pnevmoniya u bol'nykh v ostriy period tyazhelei travmy [dissertation]. Moscow; 2003. (in Russian)]
 114. Zagli G., Cozzolino M., Terreni A., Biagioli T., Caldini A. L., Peris A. Diagnosis of ventilator-associated pneumonia: a pilot, exploratory analysis of a new score based on procalcitonin and chest echography. Chest. 2014; 146 (6): 1578–1585. doi: [10.1378/chest.13-2922](https://doi.org/10.1378/chest.13-2922).
 115. Zhou J., Song J., Gong S. et al. Lung ultrasound combined with procalcitonin for a diagnosis of ventilator-associated pneumonia. Respir Care. 2019; 64 (5): 519–527. doi: [10.4187/respcare.06377](https://doi.org/10.4187/respcare.06377).
 116. Mongodi S., Via G., Girard M. et al. Lung ultrasound for early diagnosis of ventilator-associated pneumonia. Chest. 2016; 149 (4): 969–980. doi: [10.1016/j.chest.2015.12.012](https://doi.org/10.1016/j.chest.2015.12.012).
 117. Bouhemad B., Liu Z. H., Arbelot C. et al. Ultrasound assessment of antibiotic-induced pulmonary reabsorption in ventilator-associated pneumonia. Crit Care Med. 2010; 38 (1): 84–92. doi: [10.1097/CCM.0b013e3181b08cdb](https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e3181b08cdb).
 118. Ego A., Preiser J. C., Vincent J. L. Impact of diagnostic criteria on the incidence of ventilator-associated pneumonia. Chest. 2015; 147 (2): 347–355. doi: [10.1378/chest.14-0610](https://doi.org/10.1378/chest.14-0610).
 119. Claessens Y. E., Debray M. P., Tubach F. et al. Early chest computed tomography scan to assist diagnosis and guide treatment decision for suspected community-acquired pneumonia. Am J Respir Crit Care Med. 2015; 192 (8): 974–982. doi: [10.1164/rccm.201501-0017OC](https://doi.org/10.1164/rccm.201501-0017OC).
 120. Self W. H., Courtney D. M., McNaughton C. D., Wunderink R. G., Kline J. A. High discordance of chest x-ray and computed tomography for detection of pulmonary opacities in ED patients: implications for diagnosing pneumonia. Am J Emerg Med. 2013; 31 (2): 401–405. doi: [10.1016/j.ajem.2012.08.041](https://doi.org/10.1016/j.ajem.2012.08.041).

Поступила / Received 12.08.2025
Принята в печать / Accepted 17.08.2025

Информация об авторах

Проценко Денис Николаевич — д. м. н., директор, ГБУЗ города Москвы «Московский многопрофильный клинический центр «Коммунарка» Департамента здравоохранения города Москвы»; заведующий кафедрой анестезиологии и реаниматологии, ФДПО Институт непрерывного обра-

About the authors

Denis N. Protsenko — D. Sc. in Medicine, Director, Moscow Multidisciplinary Clinical Center «Kommunarka» of the Moscow Healthcare Department; Head of the Department of Anesthesiology and Resuscitation, Institute of Continuous Education and Professional Development, Pirogov Russian National

зования и профессионального развития ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0002-5166-3280

Белоцерковский Борис Зиновьевич — к. м. н., доцент кафедры анестезиологии и реаниматологии ФДПО Институт непрерывного образования и профессионального развития ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова» Минздрава России; заведующий отделением реанимации и интенсивной терапии №5 — врач-анестезиолог-реаниматолог ГБУЗ города Москвы «Московский многопрофильный клинический центр «Коммунарка» Департамента здравоохранения города Москвы», Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0002-5758-5703

Матяш Максим Игоревич — врач-анестезиолог-реаниматолог ГБУЗ города Москвы «Московский многопрофильный клинический центр «Коммунарка» Департамента здравоохранения города Москвы», Москва, Россия. ORCID ID: 0009-0004-0764-4658

Круглов Александр Николаевич — заведующий лабораторией клинической микробиологии — врач-бактериолог ГБУЗ города Москвы «Московский многопрофильный клинический центр «Коммунарка» Департамента здравоохранения города Москвы», Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0001-6849-0008

Быков Андрей Олегович — врач-анестезиолог-реаниматолог ГБУЗ города Москвы «Московский многопрофильный клинический центр «Коммунарка» Департамента здравоохранения города Москвы»; ассистент кафедры анестезиологии и реаниматологии ФДПО Институт непрерывного образования и профессионального развития ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0001-5244-7769

Шифман Ефим Муневич — профессор кафедры анестезиологии и реаниматологии ФДПО Институт непрерывного образования и профессионального развития ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова» Минздрава России; профессор кафедры анестезиологии и реаниматологии ФУВ ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0002-6113-8498

Research Medical University, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0002-5166-3280

Boris Z. Belotserkovskiy — Ph. D. in Medicine, Associate Professor, Department of Anesthesiology and Resuscitation, Institute of Continuous Education and Professional Development, Pirogov Russian National Research Medical University; Head of the Intensive Care Unit No. 5, Anesthesiologist-Resuscitator, Moscow Multidisciplinary Clinical Center «Kommunarka» of the Moscow Healthcare Department, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0002-5758-5703

Maksim I. Matyash — Anesthesiologist-Resuscitator, Moscow Multidisciplinary Clinical Center «Kommunarka» of the Moscow Healthcare Department, Moscow, Russia. ORCID ID: 0009-0004-0764-4658

Alexander N. Kruglov — Head of the Clinical Microbiology Laboratory, Bacteriologist, Moscow Multidisciplinary Clinical Center «Kommunarka» of the Moscow Healthcare Department, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0001-6849-0008

Andrey O. Bykov — Anesthesiologist-Resuscitator, Moscow Multidisciplinary Clinical Center «Kommunarka» of the Moscow Healthcare Department; Assistant Professor, Department of Anesthesiology and Resuscitation, Faculty of Continuing Professional Education, Institute of Continuous Education and Professional Development, N. I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0001-5244-7769

Efim M. Shifman — Professor, Department of Anesthesiology and Resuscitation, Faculty of Continuing Professional Education, Institute of Continuous Education and Professional Development, Pirogov Russian National Research Medical University; Professor, Department of Anesthesiology and Resuscitation, Faculty of Advanced Medical Studies, Moscow Regional Clinical Research Institute named after M. F. Vladimirovsky (MONIKI), Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0002-6113-8498

Идентификация капреомицинов IA и IB и количественная оценка отношения их содержания в лекарственных препаратах капреомицина методами ЯМР спектроскопии

Н. Е. КУЗЬМИНА, *С. В. МОИСЕЕВ, И. Ю. ЯКУПОВ, С. И. КУЛЕШОВА

ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России, Москва, Россия

Резюме

Актуальность. Капреомицин является многокомпонентным антибиотиком природного происхождения и представляет собой смесь 4 родственных соединений (капреомицинов IA, IB, IIA и IIB). Контроль качества лекарственных препаратов капреомицина по действующему веществу проводят по показателю «капреомицин I», не учитывая индивидуальные вклады капреомицинов IA и IB. При таком подходе не наблюдается корреляция между суммарным содержанием компонентов капреомицина IA и IB, установленным хроматографическими методами, и активностью вещества, определённой микробиологическими методами. ВОЗ рекомендовала изучить целесообразность введения в спецификации на препараты капреомицина соотношения между капреомицином IA и IB. **Цель исследования** — разработка методики количественной оценки отношения содержания капреомицинов IA и IB в лекарственном препарате «Капреомицина сульфат» методом спектроскопии ЯМР. **Объекты исследования.** Стандартные образцы капреомицина сульфата, лекарственные препараты «Капреомицин, порошок для приготовления растворов для внутривенного и внутримышечного введения» различных производителей. **Материал и методы.** Спектроскопия ЯМР, ВЭЖХ. **Результаты.** Проведена структурная интерпретация спектров ^1H и ^{13}C капреомицина сульфата в растворе D_2O . В спектрах ^{13}C выявлены характеристические сигналы капреомицинов IA и IB, не перекрывающиеся с сигналами минорных компонентов капреомицина и родственных примесей. На основе нормализованных интегральных интенсивностей рассчитано отношение мольных долей капреомицинов IA и IB (IA/IB). Результаты измерения величины IA/IB методом ^{13}C ЯМР и ВЭЖХ практически совпадают в том случае, когда условия хроматографирования позволяют разделить на хроматограмме сигналы основных и примесных компонентов капреомицина. **Заключение.** Разработанная методика может быть использована при установлении корреляции между содержанием капреомицинов IA и IB и активностью капреомицина, определённой микробиологическими методами.

Ключевые слова: капреомицин IA; капреомицин IB; спектроскопия ЯМР; ВЭЖХ; биологическая активность

Для цитирования: Кузьмина Н. Е., Моисеев С. В., Якупов И. Ю., Кулешова С. И. Идентификация капреомицинов IA и IB и количественная оценка отношения их содержания в лекарственных препаратах капреомицина методами ЯМР спектроскопии. *Антибиотики и химиотерапия*. 2025; 70 (7–8): 68–73. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2025-70-7-8-68-73>. EDN: KQFYOC.

Capreomycin IA and IB Identification and Their Content Ratio Quantification in Capreomycin Pharmaceutical Preparations Using NMR Spectroscopic Methods

NATALIYA E. KUZ'MINA, *SERGEY V. MOISEEV,
ILYA YU. YAKUPOV, SVETLANA I. KULESHOVA

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, Moscow, Russia

Abstract

Background. Capreomycin is a multicomponent natural antibiotic and is a mixture of 4 related compounds (capreomycins IA, IB, IIA, and IIB). Quality control of capreomycin medicinal preparations by active substance is carried out according to the «capreomycin I» indicator, not taking into account the individual contributions of capreomycins IA and IB. With this approach, no correlation is observed between the total content of capreomycin IA and IB components determined by chromatographic methods and capreomycin activity determined by microbiological methods. WHO recommended studying the feasibility of introducing the ratio between capreomycin IA and IB in the specifications for capreomycin preparations. **The aim of the study** was to develop a technique for quantitative estimation of the capreomycin IA and IB content ratio in the drug preparation Capreomycin sulphate using NMR spectroscopy. **Objects of the study.** Capreomycin sulphate standard samples, pharmaceutical preparations Capreomycin, powder for preparation of solutions for intravenous and intramuscular administration from various manufacturers. **Material and methods:** NMR spectroscopy, HPLC. **Results.** Structural in-

*Адрес для корреспонденции:
E-mail: MoiseevSV@expmed.ru



*Correspondence to:
E-mail: MoiseevSV@expmed.ru



interpretation of ^1H and ^{13}C spectra of capreomycin sulfate in D_2O solution was performed. ^{13}C spectra revealed characteristic signals of capreomycin IA and IB, which did not overlap with the signals of minor capreomycin components and related impurities. On the basis of normalized integral intensities, the ratio of mole fractions of capreomycin IA and IB (IA/IB) was calculated. The results of IA/IB measurement using ^{13}C NMR and HPLC practically coincide when the chromatographic conditions allow separating the signals of the major and impurity components of capreomycin on the chromatogram.

Keywords: capreomycin IA; capreomycin IB; NMR spectroscopy; HPLC; biological activity

For citation: Kuz'mina N. E., Moiseev S. V., Yakupov I. Yu., Kuleshova S. I. Capreomycin IA and IB identification and their content ratio quantification in capreomycin pharmaceutical preparations using NMR spectroscopic methods. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2025; 70 (7–8): 68–73. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2025-70-7-8-68-73>. EDN: KQFYOC. (in Russian)

Введение

Капреомицин — это природный многокомпонентный полипептидный антибиотик, продуцируемый *Streptomyces capreolus* и оказывающий бактериостатическое действие на различные штаммы *Mycobacterium tuberculosis*. В настоящее время его получают путём биосинтеза [1, 2]. Механизм действия капреомицина связан с подавлением синтеза белка в бактериальной клетке [3]. В медицине капреомицин в виде сульфата применяют для лечения туберкулёза с множественной лекарственной устойчивостью.

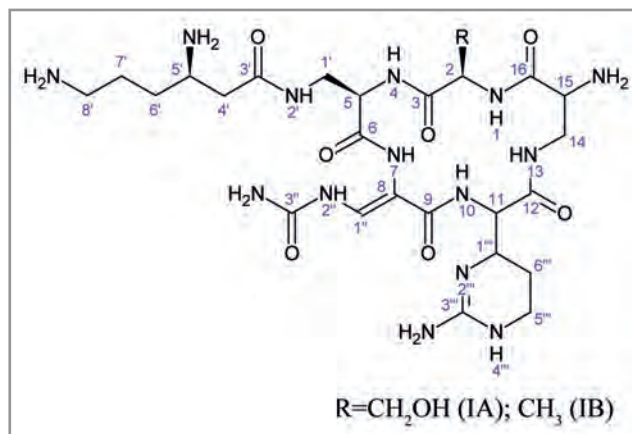
По своему составу капреомицин представляет смесь четырёх родственных соединений (капреомицины IA, IB, IIA и IIB), в структуре которых присутствует пентапептидный цикл. Капреомицины IA и IB, содержащие экзоциклический остаток лизина (рисунок), являются основными компонентами, а их дезализиниловые аналоги IIA и IIB — минорными.

Экспериментально установлено, что основные компоненты капреомицина значительно более активны, чем минорные: активность капреомицина I против *Mycobacteria* в 7 раз, а против *Klepsiella* в 2,5 раза выше, чем капреомицина II [4]. Как следствие, при стандартизации и контроле качества капреомицина хроматографическими методами контролируют главным образом суммарное содержание капреомицинов I (норма не менее 90% в монографиях на капреомицина сульфат, представленных в фармакопеях США [5], Индии [6] и Китая [7]).

Соотношение содержания капреомицинов IA и IB в капреомицине (IA/IB) зависит от направления биосинтеза, что существенно затрудняет стандартизацию препарата по этому показателю. Например, в литературе в различные годы были представлены следующие результаты измерения IA/IB: 0,37 [4], 0,5 [8], 1,16 [9], 1,5 [10], 0,4–2 [11]. Действующие фармакопейные требования на содержание капреомицинов I в препаратах капреомицина сульфата не предусматривают нормировку показателя IA/IB. Однако в 2017 г. Комитет экспертов ВОЗ по спецификациям для фармацевтических препаратов поднял вопрос о целесообразности внесения поправок в монографию на капреомицина сульфат Международной фармакопеи, касающихся спецификации соотношения между капреомицином IA и IB [12, 13]. Основная

причина этого — отсутствие корреляции между содержанием компонентов капреомицина, установленным хроматографическими методами, и активностью вещества, определённой микробиологическими методами. Отсутствие такой корреляции может быть вызвано разницей между индивидуальной биоактивностью капреомицинов IA и IB. В связи с этим было принято решение о необходимости получения дополнительной информации о количественном содержании компонентов капреомицина сульфата.

Фармакопейным методом определения содержания компонентов в капреомицина сульфате является метод ион-парной высокоэффективной хроматографии (ВЭЖХ). Следует отметить, что результат определения компонентного состава капреомицина существенно зависит от условий хроматографирования. Например, в работе [14] результат измерения IA/IB в одном образце капреомицина сульфата варьировал в диапазоне 0,56–1,19 в зависимости от используемой хроматографической колонки. Кроме того, количественное определение содержания методом ВЭЖХ требует калибровки с помощью стандартного образца капреомицина с аттестованным содержанием его компонентов. Актуально определять содержание компонентов капреомицина прямым методом, который не нуждается в калибровке. Таким методом является метод спектроскопии ЯМР. Его дополнительным преимуществом является тот факт, что неопределённость результата измерения зависит



Структурная формула капреомицинов I.
Structural formula of capreomycins I.

только от неопределённости измерения интегральных интенсивностей [15]. В методе ВЭЖХ неопределённость результата измерения зависит не только от неопределённости измерения площади пика на хроматограмме, но и от неопределённости взятия навесок испытуемого образца, а также объёма растворителя.

Цель исследования — разработка методики количественной оценки отношения содержания капреомицинов IA и IB в лекарственном препарате «Капреомицина сульфат» методом спектроскопии ЯМР.

Материал и методы

В качестве объектов исследования использовали стандартные образцы капреомицина сульфата USP Reference Standard (I) и (II), лекарственные препараты «Капреомицин, порошок для приготовления растворов для внутривенного и внутримышечного введения» производства ООО «Компания Деко», Россия (III) и АО «Биохимик», Россия (IV).

Были использованы следующие реактивы: дейтерированные диметилсульфоксид-d6, вода-d2 и 3-(триметилсилил)-пропионат натрия-d4 (ТСП) производства Cambridge Isotope Laboratories, Inc., натрия дигидрофосфат (99,9% Merck), ацетонитрил (для ВЭЖХ, Thermo Fisher Scientific), фосфорная кислота (85%, Sigma-Aldrich), натрия гексансульфонат (99,8%, ROTH), метанол (для ВЭЖХ, Thermo Fisher Scientific), аммония бисульфат (98,0 %, Honeywell).

Измерения методом ЯМР. Около 15 мг капреомицина сульфата (точная навеска не обязательна) растворяли в 0,5 мл дейтерированного растворителя и переносили в ЯМР-ампулы. При использовании D₂O к растворителю добавляли в качестве внутреннего стандарта следовые количества ТСП. Регистрацию спектров проводили на ЯМР-спектрометре Agilent DD2 NMR System 600 (США) с 5-мм мультядерным датчиком, оснащённым градиентной катушкой, используя программное обеспечение VNMRJ, версия 4.2. Параметры 1D экспериментов: температура — 27 и 95°C, ширина спектра — 6009,6 Гц (¹H) и 37878,8 Гц (¹³C), угол поворота намагниченности — 45°, время задержки между импульсными последовательностями — 10 с (¹H) и 2 с (¹³C), количество накоплений сигнала спада свободной индукции — 8 (¹H) и 16000 (¹³C), число точек аналого-цифрового преобразования — 64 К, экспоненциальное умножение — 0,3 Гц (¹H) и 2 Гц (¹³C), дополнение нулями 64 К, автоматическая коррекция базовой линии спектра, ручная настройка фазы, калибровка шкалы химических сдвигов (δ) под сигнал триметилсилильной группы ТСП ($\delta=0,0$ м. д.). Цифровое разрешение на ядре ¹H 0,09 гц, Регистрацию двумерных спектров ¹H-¹H gCOSY, ¹H-¹H TOCSY, ¹H-¹³C gHSQC, ¹H-¹³C gHMBC проводили с применением стандартных параметров. Относительные молярные количества капреомицинов IA и IB определены методом нормализации интегральных интенсивностей сигналов соответствующих структурных фрагментов их молекул. Каждую нормализованную интегральную интенсивность измеряли в трёх повторностях. Расчёт отношения молярных долей капреомицинов IA/IB проводили по формуле:

$$IA/IB = I_{IA}^n / I_{IB}^n \quad (1)$$

где I_{IA}^n и I_{IB}^n — нормализованные интегральные интенсивности сигналов капреомицинов IA и IB.

Результаты измерений IA/IB, полученные на сигналах различных структурных фрагментов молекул, усредняли.

Соотношение сигнал/шум и время продольной релаксации T₁ рассчитывали автоматически, используя программный модуль VnmrJ версия 4.2.

Измерения методом ВЭЖХ. Эксперименты методом ВЭЖХ проводили с использованием фармакопейной мето-

дики [5] и методики [14], которая обеспечивает большую по сравнению с фармакопейной эффективность разделения основных и примесных компонентов капреомицина. Около 25 мг капреомицина сульфата растворяли в 50 мл воды и помещали в хроматографические вials. Анализ проводили на ВЭЖХ-хроматографе Agilent 1200 с диодно-матричным детектором на колонках Spherisorb CN (250×4,6 мм, размер частиц 5 мкм) и Acquity VEN C18 (150×2,1 мм, размер частиц 1,7 мкм). Для оценки возможного влияния примесей анализ проводили при длине волны детектирования 268 нм, описанной в методиках [5, 14], а также при 230, 250 и 280 нм. Для каждого раствора капреомицина получали не менее трёх хроматограмм. Молярное содержание основных компонентов капреомицина рассчитывали методом нормализации по хроматограмме испытуемого раствора.

Статистическую обработку результатов, полученных методами ЯМР и ВЭЖХ, осуществляли с помощью программы Microsoft Office Excel 2010 с установленным пакетом «Анализ данных».

Результаты и обсуждение

Основными этапами разработки методики количественного определения методом ЯМР являются подбор условий ЯМР-эксперимента, структурная интерпретация спектров ¹H и ¹³C, выявление характеристических сигналов анализируемых соединений, не перекрывающихся с другими сигналами спектра и обеспечивающих возможность корректного интегрирования. Следует отметить, что в литературе [15] представлены спектральные данные ¹H и ¹³C для капреомицинов I и II (растворитель DMSO-d₆, концентрация капреомицина 33 мг/мл). Наши попытки воспроизвести эти данные не имели успеха, так как капреомицина сульфат очень плохо растворяется в DMSO-d₆ даже при повышении температуры до 95°C. Поэтому все дальнейшие испытания мы проводили, используя растворы в D₂O.

Известно, что неопределённость результата количественных измерений методом ЯМР менее 1%, если соотношение сигнал/шум превышает 150:1 [16]. Мы установили, что интегральная интенсивность сигналов в углеродном спектре соответствует этому правилу при концентрации капреомицина 30 мг/мл и числе накоплений сигнала спада свободной индукции 16000.

Структурное соответствие сигналов спектров ¹H и ¹³C капреомицинов IA и IB было проведено путём комплексного анализа результатов двумерных ЯМР-экспериментов (¹H-¹H gCOSY, ¹H-¹H TOCSY, ¹H-¹³C gHSQC, ¹H-¹³C gHMBC). В табл. 1 представлены спектральные характеристики капреомицинов IA и IB образца I.

Следует отметить, что положение сигналов в протонном и углеродном спектрах образцов II, III, IV в большинстве случаев совпадают с положением сигналов образца I (отклонения значений δ в пределах $\pm 0,1$ м. д. для ¹H и $\pm 0,5$ м. д. для ¹³C [17]). Исключение составляют сигналы в углеродном спектре метиленовой группы C (14) H₂ и карбонильной группы C (16)=O. Максимальные отклонения значений δ наблюдаются у C (16): бо-

Таблица 1. Спектральные характеристики капреомицинов IA и IB образца I
Table 1. Spectral characteristics of capreomycins IA and IB sample I

№ атома	IA		IB	
	¹ H, δ, м. д.	¹³ C, м. д.	¹ H, δ, м. д.	¹³ C, м. д.
2	4,82 дд (J=4,9; 4,8)	57,35	4,65 дд (J=4,9; 4,8)	51,31
3		175,22		178,49
5	4,44 м	56,20	4,44 м	55,96
6		174,76		174,74
8		107,66		107,75
9		170,23		170,05
11	5,00 д (J=2,0)	57,94	4,98 д (J=2,4)	57,82
12		173,90		173,85
14	4,04 дд (J=14,3; 4,9) 3,17 дд (J=14,3; 9,9)	43,60 ¹	4,05 дд (J=14,3; 4,9) 3,24 дд (J=14,3; 8,3)	43,55 ²
15	4,26 дд (J=9,9; 4,9)	54,37	4,22 дд (J=8,3; 4,9)	54,44
16		172,54 ³		171,81 ⁴
1'	3,77 м	40,89	3,70 м; 3,84 м	40,77
3'		174,98		174,89
4'	2,68 дд (J=16,5; 8,2) 2,77 дд (J=16,5; 4,7)	39,57	2,68 дд (J=16,5; 8,2) 2,80 дд (J=16,5; 4,7)	39,52
5'	3,68 м	51,18	3,68 м	51,22
6'	1,81 м	31,88	1,81 м	31,88
7'	1,81 м	25,64	1,81 м	25,64
8'	3,06 м	41,74	3,06 м	41,74
1''	8,03 с	138,05	8,02 с	137,90
3''		159,44		159,42
1'''	4,47 м	51,91	4,39 м	51,89
3'''		157,33		157,28
5'''	3,32 м	38,93	3,32 м	38,90
6'''	1,71 м; 2,08 м	25,72	1,71 м; 2,08 м	25,61
R	3,84 м; 3,86 м	65,25	1,41 д (J=7,3)	20,93

Примечание. ¹δ=43,06 м. д. для образца II, 42,73 м. д. для образца III и 43,08 м. д. для образца IV; ²δ=43,00 м. д. для образца II, 42,69 м. д. для образца III и 43,03 м. д. для образца IV; ³δ=171,53 м. д. для образца II, 171,58 м. д. для образца III и 170,95 м. д. для образца IV; ⁴δ=170,80 м. д. для образца II, 170,87 м. д. для образца III и 170,25 м. д. для образца IV.

Note. ¹δ=43.06 ppm for sample II, 42.73 ppm for sample III, and 43.08 ppm for sample IV; ²δ=43.00 ppm for sample II, 42.69 ppm for sample III, and 43.03 ppm for sample IV; ³δ=171.53 ppm for sample II, 171.58 ppm for sample III, and 170.95 ppm for sample IV; ⁴δ=170.80 for sample II, 170.87 ppm for sample III, and 170.25 ppm for sample IV.

лее 0,9 м. д. для образцов II и III, 1,5 м. д. для образца IV). По-видимому, это обусловлено различной пространственной ориентацией данной карбонильной группы относительно плоскости макроцикла. В протонном спектре большинство сигналов капреомицинов IA и IB частично или полностью перекрывается с сигналами минорных компонентов IIA и IIB, а также с сигналами родственных примесей, поэтому этот спектр пригоден лишь для быстрой приблизительной оценки соотношения величины IA/IB (например, по нормализованным интенсивностям сигналов C (11) H или C (15) H). В углеродном спектре сигналы минорных компонентов и родственных примесей не проявляются, поэтому в нём для каждого из капреомицинов I можно выделить несколько характеристических сигналов, которые пригодны для корректного интегрирования. Это сигналы карбонильных групп C (3) (175,22 IA и 178,49 IB) и C (9) (170,23 IA и 170,05 IB), а также α-углеродные атомы пентапептидного цикла C (2) (57,35 IA и 51,31 IB), C (5) (56,20 IA и 55,96 IB), C (11) (57,94 IA и 57,82 IB), C (15) (54,37 IA и 54,44 IB).

В связи с тем, что характеристические сигналы капреомицинов IA и IB в углеродном спектре принадлежат однотипным углеводородным фрагментам, они имеют одинаковый коэффициент усиления вследствие ядерного эффекта Оверхаузера и их корректно интегрировать при определении мольного соотношения компонентов. В соответствии с правилами прецизионного интегрирования [17] при проведении количественных измерений методом ЯМР время задержки между импульсными последовательностями должно составлять не менее пятикратного значения времён продольной спин-решёточной релаксации (T₁). Определённые нами значения T₁ ядер ¹³C характеристических сигналов в молекулах капреомицинов IA и IB находятся в интервалах 0,2683÷0,3608 с для α-углеродных атомов пентапептидного цикла и 1,434÷2,315 с для карбонильных групп. С целью сокращения времени эксперимента мы ограничились корректным интегрированием только характеристических сигналов α-углеродных атомов, используя время задержки между импульсными последовательностями 2 с.

Таблица 2. Определение величины IA/IB в образце I методом ^{13}C ЯМР
Table 2. Determination of the IA/IB value in sample I using ^{13}C NMR

Характеристический сигнал	I_{IA}^{N}	I_{IB}^{N}	IA/IB	Среднее IA/IB
C(2)	51,25	48,75	1,051	1,086±0,013 RSD 1,85%
	51,87	48,13	1,078	
	52,17	47,83	1,091	
C(5)	52,87	47,13	1,122	
	52,15	47,85	1,090	
	52,94	47,06	1,125	
	51,87	48,13	1,078	
C(11)	52,55	47,45	1,108	
	51,46	48,54	1,060	
	51,87	48,18	1,078	
C(15)	52,25	47,75	1,094	
	51,93	48,07	1,080	
	52,52	47,48	1,106	

Таблица 3. Сравнение содержания капреомицина IA и IB в образцах I–IV, полученного методами ЯМР и ВЭЖХ
Table 3. Comparison of the content of capreomycin IA and IB in samples I–IV, obtained using NMR and HPLC methods

Образец	IA/IB		IA+IB		
	ЯМР	ВЭЖХ [5]	ВЭЖХ [14]	ВЭЖХ, % [5]	ВЭЖХ, % [14]
I	1,086±0,013	1,031±0,015	1,094±0,018	92,27±0,06	88,38±0,19%
	RSD 1,85%	RSD 1,44%	RSD 1,31%	RSD 0,05%	RSD 0,35%
II	1,097±0,010	1,102±,013	1,113±0,010	97,73±0,17	92,18±0,41
	RSD 0,71%	RSD 1,89%	RSD 0,91%	RSD 0,28%	RSD 0,72%
III	1,333±0,017	1,431±0,014%	1,445±0,024	98,2±0,02	92,85±0,12%
	RSD 2,01%	RSD 1,57%	RSD 1,31%	RSD 0,02%	RSD 0,21%
IV	1,548±0,029	1,547±0,012%	1,561±0,028	99,13±0,007	93,77±0,13%
	RSD 1,77%	RSD 1,21%	RSD 1,41%	RSD 0,39%	RSD 0,21%

В табл. 2 приведены измеренные значения нормализованных интегральных интенсивностей характеристических сигналов и определённое по формуле (1) отношение IA/IB в стандартном образце I. Их усреднение позволяет рассчитать величины RSD и доверительного интервала результата измерения в рамках одного эксперимента. Это дополнительное преимущество метода ЯМР.

На следующем этапе сравнили информацию о содержании капреомицинов IA и IB в образцах I–IV, полученную методами ЯМР и ВЭЖХ (табл. 3). Эксперименты методом ВЭЖХ проводили с использованием двух методик.

Из табл. 3 видно, что результаты определения суммарного содержания капреомицинов IA и IB в образцах I–IV методом ВЭЖХ с использованием методики [5] завышены по сравнению с результатами, полученными по методике [14]. Это объясняется лучшей способностью методики [14] разделять основные и примесные компоненты капреомицина. Результаты измерения величины IA/IB в образцах I и III методами ЯМР и ВЭЖХ (методика [14]) практически совпадают с учётом доверительных интервалов, в то время как для образца II результат измерения методом ВЭЖХ завышен. Одна из возможных причин такого завышения — наличие в образце II родственной примеси, которая в хроматографической системе не разделяется с капреомицином IA.

Заключение

Таким образом, разработана методика количественного определения отношения содержания капреомицинов IA и IB в лекарственном препарате «Капреомицина сульфат» методом ^{13}C ЯМР, которая позволяет оценивать этот показатель с высокой точностью без использования стандартного образца антибиотика и построения калибровочного графика. Результаты измерения величины IA/IB методом ^{13}C ЯМР и ВЭЖХ практически совпадают в том случае, когда условия хроматографирования позволяют разделить на хроматограмме сигналы основных и примесных компонентов капреомицина. В дальнейшем планируется использовать разработанную методику при установлении корреляции между содержанием основных компонентов капреомицина сульфата и его активностью, определённой микробиологическими методами.

Дополнительная информация

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Вклад авторов. Кузьмина Н. Е. — идея, планирование исследования, подбор и анализ литературы, систематизация и обобщение экспериментальных данных, подготовка и оформление рукописи; Моисеев С. В. — пробоподготовка образцов, проведение экспериментальных исследований методом ЯМР, систематизация и обобщение

ние экспериментальных данных, редактирование текста; *Якупов И. Ю.* — проведение экспериментальных исследований методом ВЭЖХ; *Кулешова С. И.* — ответственность за все аспекты работы, включая надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с достоверностью данных и целостностью всех частей статьи.

Литература/References

1. Laughlin Z. T., Conn G. L. Tuberactinomycin antibiotics: Biosynthesis, anti-mycobacterial action, and mechanisms of resistance. *Front Microbiol.* 2022; 13: 961921. doi: 10.3389/fmicb.2022.961921.
2. Wang M., Gould S. J. Biosynthesis of capreomycin. 2. Incorporation of L-serine, L-alanine, and L-2,3-diaminopropionic acid. *J Org Chem.* 1993; 58 (19): 5176–5180.
3. Lin Y., Li Y., Zhu N., Han Y., Jiang W., Wang Y., Si S., Jiang J. The antituberculosis antibiotic capreomycin inhibits protein synthesis by disrupting interaction between ribosomal proteins L12 and L10. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014; 58 (4): 2038–2044. doi: 10.1128/aac.02394-13.
4. Herr Jr E. B., Redstone M. O. Chemical and physical characterization of capreomycin. *Ann N Y Acad Sci.* 1966; 135 (2): 940–6.
5. Monograph Capreomycin sulfate. United States Pharmacopeia. USP43-NF38. Rockville, MD; 2023.
6. Monograph Capreomycin sulfate. Indian Pharmacopoeia. IX ed. 2022; II: 1726.
7. Monograph Capreomycin sulfate. Pharmacopoeia of the peoples republic of China. 2020; II: 287–288.
8. Bycroft B. W., Cameron D., Croft L. R., Hassanali-Walji A., Johnson A. W., Webb T. Total structure of capreomycin IB, a tuberculostatic peptide antibiotic. *Nature.* 1971; 231 (5301): 301–302.
9. Lightbown J. W., De Rossi P., Isaacson P. International standards and international reference preparations. *Bull World Health Organ.* 1972; 47 (3): 343–356.
10. Nomoto S., Teshima T., Wakamiya T., Shiba T. The revised structure of capreomycin. *J Antibiot.* 1977; 30 (11): 955–959. doi: 10.7164/antibiotics.30.955.
11. Lea M. L. A physiological study of streptomyces capreolus and factors governing growth and capreomycin biosynthesis [dissertation]. Liverpool John Moores University; 2007. doi: researchonline.ljmu.ac.uk/view/theses/rg=5Fpha.html.

Информация об авторах

Кузьмина Наталия Евгеньевна — д. х. н., начальник лаборатории спектральных методов анализа испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств Федерального государственного бюджетного учреждения «Научный центр экспертизы средств медицинского применения», Москва, Россия. Author ID: 140709. SPIN-code: 1757-2787. ORCID ID: 0000-0002-9133-0835. Researcher ID: E-3051-2018

Моисеев Сергей Владимирович — к. х. н., доцент, главный эксперт лаборатории спектральных методов анализа испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств Федерального государственного бюджетного учреждения «Научный центр экспертизы средств медицинского применения», Москва, Россия. Author ID: 698422. SPIN-code: 9569-8530. ORCID ID: 0000-0003-1310-4477

Якупов Илья Юрьевич — эксперт 1-й категории лаборатории антибиотиков испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств Федерального государственного бюджетного учреждения «Научный центр экспертизы средств медицинского применения», Москва, Россия. Author ID: 1255636. SPIN-код: 7788-6751. ORCID ID: 0000-0003-3068-0396

Кулешова Светлана Ивановна — к. б. н., начальник лаборатории антибиотиков испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств Федерального государственного бюджетного учреждения «Научный центр экспертизы средств медицинского применения», Москва, Россия. Author ID: 360358. SPIN-код: 1581-5572. ORCID ID: 0000-0002-9103-9239

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00026-24-01 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учёта НИР 124022200076-2).

12. Fifty-first report of the WHO Expert Committee on specifications for pharmaceutical preparations. Geneva: World Health Organization; 2017 (WHO technical report series; No. 1003).
13. WHO Expert Committee on Biological Standardization, sixty-seventh report. Geneva: World Health Organization; 2017 (WHO technical report series; No. 1004).
14. Якупов И. Ю., Кулешова С. И., Симонова Е. П., Демидов А. С. Применение ион-парной хроматографии для определения компонентов и родственных примесей капреомицина сульфата. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. 2023; 13 (2–1): 271–282. doi: <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-451>. [Yakupov I. Yu., Kuleshova S. I., Simonova E. P., Demidov A. S. Ion-pair chromatography for the determination of capreomycin sulfate components and related substances. Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation. 2023; 13 (2–1): 271–282. doi: <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-451>. (in Russian)]
15. Liua G., Luan B., Liang G Xing L., Huang L., Wang C. et al. Isolation and identification of four major impurities in capreomycin sulfate. *J Chromatogr. A.* 2018; 1571: 155–164. doi: 10.1016/j.chroma.2018.08.015.
16. Malz E., Jancke H. Validation of quantitative NMR. *J Pharm Biomed Anal.* 2005; 38 (5): 813–823. doi: 10.1016/j.jpba.2005.01.043.
17. ОФС.1.2.1.1.0007 Спектроскопия ядерного магнитного резонанса. Государственная фармакопея Российской Федерации XV изд. <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-2/1-2-1/1-2-1-1-1-metody-spektralnogo-analiza/spektroskopiya-yadernogo-magnitnogo-rezonansa/> [General monograph. 1.2.1.1.007 Nuclear magnetic resonance spectroscopy. State Pharmacopoeia of the Russian Federation X. V. ed. <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-2/1-2-1/1-2-1-1-1-metody-spektralnogo-analiza/spektroskopiya-yadernogo-magnitnogo-rezonansa/> (in Russian)]

Поступила / Received 19.12.2024

Принята в печать / Accepted 01.02.2025

About the authors

Nataliya E. Kuz'mina — D. Sc. in Chemistry; Head of Spectral Analysis Laboratory of Testing Centre for Medicinal Products Quality Control, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. Author ID: 140709. SPIN-code: 1757-2787. ORCID ID: 0000-0002-9133-0835. Researcher ID: E-3051-2018

Sergey V. Moiseev — Ph. D. in Chemistry, Associate Professor, Chief Expert of Spectral Analysis Laboratory of Testing Centre for Medicinal Products Quality Control, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. Author ID: 698422. SPIN-code: 9569-8530. ORCID ID: 0000-0003-1310-4477

Ilya Yu. Yakupov — first-grade expert of Antibiotics Laboratory of Testing Centre for Medicinal Products Quality Control, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. Author ID: 1255636. SPIN-code: 7788-6751. ORCID ID: 0000-0003-3068-0396

Svetlana I. Kuleshova — Ph. D. in Biology, Head of Antibiotics Laboratory of Testing Centre for Medicinal Products Quality Control, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. Author ID: 360358. SPIN-код: 1581-5572. ORCID ID: 0000-0002-9103-9239

Альтернативный терапевтический потенциал антибиотиков, ингибирующих бактериальную трансляцию, как регуляторов митохондриальной дисфункции

*О. В. КИСИЛЬ¹, М. Э. ЗВЕРЕВА², Е. Н. ОЛСУФЬЕВА¹

¹ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе», Москва, Россия

² Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия

Резюме

Антибиотики, эволюционно появившиеся как химическое оружие одних бактерий против других, в первую очередь известны своим микробицидным и/или бактериостатическим действием, однако они также обладают многочисленными плеiotропными эффектами: антиамилоидными, противовоспалительными, антиоксидантными и антиапоптотическими. В обзоре рассматриваются антибактериальные препараты, по механизму действия, ингибирующие трансляцию, в первую очередь тетрациклины, в контексте их неантибиотического биологического аспекта, а именно возможности поддерживающей терапии при нейродегенеративных заболеваниях, а также их антимитохондриальное действие и опосредованный им эффект отмены старения.

Ключевые слова: антибиотики; митохондриальная дисфункция; тетрациклины; митоторибосомы; нейродегенеративные заболевания

Для цитирования: Кисиль О. В., Зверева М. Э., Олсуфьева Е. Н. Альтернативный терапевтический потенциал антибиотиков, ингибирующих бактериальную трансляцию, как регуляторов митохондриальной дисфункции. *Антибиотики и химиотерапия*. 2025; 70 (7–8): 74–91. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2025-70-7-8-74-91>. EDN: WMUGXT.

Alternative Therapeutic Potential of Antibiotics Inhibiting Bacterial Translation as Regulators of Mitochondrial Dysfunction

*OLGA V. KISIL¹, MARIA I. ZVEREVA², EVGENIYA N. OLSUFYEVA¹

¹ Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, Russia

² Lomonosov Moscow State University, Faculty of Chemistry, Moscow, Russia

Abstract

Antibiotics, which evolved as a chemical weapon of some bacteria against others, are primarily known for their microbicidal and/or bacteriostatic effects; however, they also have numerous pleiotropic effects: anti-amyloid, anti-inflammatory, antioxidant, and anti-apoptotic. This review considers antibiotics with a translation-inhibiting mechanism of action, primarily tetracyclines, in the context of their non-antibiotic biological aspect, namely, the possibilities of supportive therapy for neurodegenerative diseases, as well as their antimitochondrial action and the mediated effect of aging cancellation.

Keywords: antibiotics; mitochondrial dysfunction; tetracyclines; mitoribosomes; neurodegenerative diseases

For citation: Kisil O. V., Zvereva M. I., Olsufyeva E. N. Alternative therapeutic potential of antibiotics inhibiting bacterial translation as regulators of mitochondrial dysfunction. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2025; 70 (7–8): 74–91. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2025-70-7-8-74-91>. EDN: WMUGXT. (in Russian)

Введение

Митохондрии встречаются практически во всех клетках эукариот, за исключением эритроцитов [1]. Митохондрии участвуют в процессе клеточного дыхания, биологическая суть которого — синтез АТФ, а потому являются важнейшими участниками различных клеточных метаболических путей. Основными происходящими в мито-

хондриях процессами являются цикл трикарбоновых кислот, окисление жирных кислот, карнитиновый цикл, транспорт электронов в дыхательной цепи (с помощью I–IV ферментных комплексов) и окислительное фосфорилирование (V ферментный комплекс). Митохондрии выполняют важную роль во внутриклеточной сигнализации, апоптозе, промежуточном метаболизме, а также

*Адрес для корреспонденции:
E-mail: olvv@mail.ru



*Correspondence to:
E-mail: olvv@mail.ru



EDN: WMUGXT

в метаболизме аминокислот, липидов, холестерина, стероидов и нуклеотидов [2].

Митохондриальная дисфункция может привести к проявлению около 50 различных заболеваний, включая нейродегенеративные [3, 4]. Наблюдается постоянно растущий интерес к митохондриям и их компонентам как к мишеням для фармакологических вмешательств при нейродегенеративных заболеваниях и профилактике старения [5]. Старение — это сложный молекулярный процесс, опосредованный разнообразными механизмами и биохимическими событиями, на который влияет множество генетических и экологических факторов. Для объяснения механизмов, лежащих в основе биологического старения (в том числе преждевременного) предложено несколько теорий, и одной из них является митохондриальная дисфункция [6].

Митохондриальная рибосома похожа на бактериальную. Митохондриальные трансляционные факторы по механизму действия ближе к бактериальной, а не эукариотической цитозольной системе [7]. Обзор данных литературы показывает, что антибиотики регулируют митохондриальную трансляцию. Антибиотики — это группа лекарственных средств, являющихся продуктами жизнедеятельности микроорганизмов, и продуктами химической модификации этих веществ. Антибиотики избирательно подавляют жизнедеятельность патогенных микроорганизмов, низших грибов, а также клеток злокачественных опухолей. Направленное ингибирование трансляционного аппарата митохондрий антибиотиками, и возникающий вследствие дисбаланс митонуклеарных белков, способствуют увеличению продолжительности жизни млекопитающих [8]. Проводятся исследования перепрофилирования антибиотиков, как возможных «новых» препаратов, для терапевтической поддержки пациентов с нейродегенеративными заболеваниями [5, 9]. В данной работе рассматриваются возможности применения антибиотиков в решении проблем старения и нейродегенеративных заболеваний.

Митохондрии: жизнь внутри клетки

В первой половине XX века исследователи обнаружили многочисленные сходства между митохондриями и бактериями как в строении, так и функционировании. В 1960-х гг. с обнаружением у митохондрий собственного генома — митохондриальной ДНК (мтДНК) идея о том, что митохондрии произошли от бактерий, стала общепризнанной [10]. Предположительно митохондрии произошли от эндосимбиоза α -протеобактерии с амитохондрией, что дало начало эукариотической клетке [11]. В ходе эволюции большая часть генома

эндосимбионта была перенесена в ядро клетки-хозяина, при этом митохондрии сохранили способность к синтезу некоторых белков при экспрессии своей собственной мтДНК.

мтДНК человека представляет собой двухцепочечную кольцевую молекулу размером 16568 пар нуклеотидов, в которой расположены 37 генов, участвующих в процессе/механизме выработки энергии в дыхательной цепи митохондрий [12]. В их число входят 13 структурных генов, кодирующих субъединицы комплексов окислительного фосфорилирования (ОФ, *англ.* OXPHOS), а также гены 22 тРНК и двух рРНК, принимающих участие в синтезе белка непосредственно в митохондриях. 13 белков ОФ являются частью механизма митохондриальной дыхательной цепи — цепи переноса электронов (мтЭТС, *англ.* mtETC) [13]. Трансляция белков, кодируемых мтДНК, происходит в митохондриальных рибосомах (миторибосомы). Миторибосома — это белковый комплекс, прикрепленный к внутренней митохондриальной мембране.

Кодирующая ёмкость мтДНК не может обеспечить полную потребность митохондрий в белках. Основной пул митохондриальных белков, а их ~1000–1500: переносчики электронов, митохондриальные транслоказы, компоненты транспорта белков в митохондрии, факторы, необходимые для трансляции, транскрипции и репликации мтДНК, — кодируется ядерным геномом (ядДНК) и импортируется в митохондрии [13, 14]. Как митохондриальный, так и ядерный геном необходимы для правильного функционирования митохондрии. Стехиометрический баланс митонуклеарных белков строго регулируется [15, 16].

Нарушение митохондриальных функций обычно вызвано избыточным образованием активных форм кислорода (АФК, *англ.* ROS), разрывом цепи мтЭТС, экспрессией aberrантных (развёрнутые или неправильно свёрнутые) белков или мутациями в митохондриальном и ядерном геноме [17]. Надо заметить, что мтДНК более восприимчива к мутациям, чем яДНК из-за близости к месту генерации АФК и отсутствия защиты гистонами. Скорость мутирования у мтДНК примерно в 17 раз выше, чем у яДНК [18].

В литературе миторибосома часто упоминается в контексте наследственных первичных митохондриальных расстройств. Мутации в генах мтДНК и яДНК, кодирующих миторибосомальные РНК, затрудняют биогенез миторибосом, вызывая дефекты синтеза белка, которые приводят к сбою дыхательной цепи и митохондриальным расстройствам, таким как энцефало- и кардиомиопатия, глухота, невропатия и задержки развития [19]. Первичные митохондриальные заболевания представляют собой, клинически гетерогенный и наследуемый класс заболеваний. Лекарств от них

не существует, и современные методы лечения являются лишь паллиативными [20]. (Подробнее о классических, генетически детерминированных, митохондриальных заболеваниях см. соответствующий подраздел).

В последние годы в литературе стали писать о так называемых вторичных митохондриальных заболеваниях, механизм возникновения которых предполагает нарушения в трансляционном митохондриальном аппарате, не на уровне генома [17]. К этой группе заболеваний относят нейродегенеративные заболевания [21], нарушения обмена веществ (ожирение, инсулинорезистентность) [22], сердечно-сосудистые патологии [23] и онкозаболевания [24, 25]. Предположительно, антибиотики, регулирующие митохондриальную трансляцию, могут стать «новыми» препаратами, для терапевтической поддержки вышеперечисленных заболеваний.

Реакция митохондрий на стресс: реакция митохондриального развёрнутого белка mtUPR

Митохондрии — это динамичные взаимосвязанные двумембранные органеллы, которые постоянно подвергаются циклам слияния и деления, что, наряду с биогенезом *de novo* и митофагией, поддерживает их физиологическую целостность и контролирует межорганелловые связи, участвуя в фундаментальных клеточных процессах [26]. Деление отвечает за образование митохондрий меньшего размера, обеспечивая организацию и перемещение внутри клетки и позволяя наследовать митохондриальную популяцию, слияние позволяет обмениваться материалом между митохондриями, чтобы гарантировать сбалансированность митохондриальной сети как на функциональном, так и на структурном уровне. В условиях сильного или продолжительного стресса слияние митохондрий подавляется, и происходит их деление, что приводит к фрагментации митохондрий и облегчает митофагию [26].

Митофагия — это избирательный клеточный механизм, который удаляет повреждённые или дисфункциональные митохондрии. Другим механизмом внутреннего обновления митохондрии является митохондриальный биогенез, который способствует росту и образованию новых митохондрий независимо от клетки [27]. Для стимулирования биогенеза и должного функционирования в митохондриях есть шапероны, облегчающие сворачивание митохондриальных белков, и митопротеазы, расщепляющие те белки, которые не сворачиваются должным образом или изменены в следствии накопления мутаций в кодирующей

части генома. Сложная архитектура органелл, избыточное образование АФК, генерируемых мтЭТС, и восприимчивость мтДНК к приобретению мутаций могут препятствовать правильному сворачиванию митохондриальных белков.

В ответ на накопление aberrантных белков, превышающих шаперонную работоспособность митохондрии, последние инициируют клеточную реакцию на стресс, связанную с митохондриями — получившую название реакция митохондриального развёрнутого белка (mtUPR) [17]. mtUPR — это путь передачи сигнала/активации генов, приводящий к индукции определённых митохондриальных генов, для восстановления митохондриальных функций: протеостаза, биогенеза, мтЭТЦ, АФК детоксикации для восстановления (выживания) митохондрии [1, 23, 26]. mtUPR тесно связан со старением и возрастными заболеваниями: стареющие клетки накапливают большое количество развёрнутых и повреждённых белков [28]. mtUPR может быть активирован несколькими независимыми друг от друга комплементарными путями (обобщены в табл. 1) [23, 31].

mtUPR играет значимую роль в патофизиологии нейродегенеративных заболеваний [21] (подробней обсуждается далее по тексту). Многие факторы, включая низкомолекулярные соединения, запускают mtUPR. Холин (катион 2-гидроксиэтилтриметиламмония) — витамин B₄, прекурсор ацетилхолина, активирует mtUPR через путь SIRT3-AMPK [32]. Сочетание полидатына (ресвератрол-3-Об-моно-D-глюкозид) и никотинамида активирует mtUPR по пути SIRT3 [17]. Паракват (N, N'-диметил-4,4'-дипиридил дихлорид) — митохондриальный токсин — индуцирует реакцию mtUPR [33]. M. Rauthan и соавт. [34] показали, что этидий бромид, известный мутаген, индуцирует mtUPR, нарушая репликацию и транскрипцию митохондриальной ДНК, и поэтому вряд ли найдёт какое-либо клиническое применение. В той же работе показано, что тетрациклиновый антибиотик метациклин активирует mtUPR. Способность индуцировать mtUPR показана и для других антибиотиков, ингибиторов рибосомального синтеза белка: доксициклина и хлорамфеникола (см. рис. 1).

Антибиотики, ингибирующие трансляцию белков на миторибосоме

Бактериальная рибосома 70S состоит из двух субъединиц: малой (30S) и большой (50S). Между ними расположен рибосомальный канал, в котором происходит синтез белка. На 50S субъединице находится пептидилтрансферазный центр, который объединяет все функциональные ядра рибосомы, включая области входа и выхода тРНК,

Таблица 1. Пути активации реакции митохондриального развёрнутого белка mtUPR

Table 1. Pathways of activation of the mitochondrial unfolded protein reaction mtUPR

Белки, активирующие mtUPR	Особенности механизма активации mtUPR	Ссылка
Киназы → eIF2 α → [ATF4, ATF5, CHOP]	Митохондриальные стрессоры активируют киназы, связанные с интегрированной реакцией на стресс, а именно PERK, HRI и PKR, которые через фосфорилирование активируют эукариотический фактор инициации трансляции 2 α (eIF2 α). Увеличивается трансляция ATF4, ATF5 и C/EBP гомологичного белка (CHOP). ATF5 транслоцируется в ядро, где активирует транскрипцию митохондриальных шаперонов и протеаз. Считается каноническим транскрипционным путём mtUPR.	[1, 26]
SIRT3 → [FOXO3A, PGC-1 α] → [каталаза, СОД 2]	Повышение уровня SIRT3 приводит к деацетилированию двух факторов транскрипции forkhead box O (FOXO3A) и PGC-1 α . FOXO3A транслоцируется в ядро и активирует транскрипции антиоксидантных ферментов каталазы и супероксиддисмутазы 2 (СОД 2). Предположительно все сиртуины, SIRT1-SIRT7, участвуют в mtUPR.	[29]
Akt → ER α → [OMI, NFR1]	Запускается при наличии митохондриальных стрессоров в области митохондриального межмембранного пространства. Митохондриальные стрессоры активируют киназу Akt, которая через фосфорилирование активирует эстрогеновый рецептор альфа (ER α). ER α индуцирует протеазу OMI через внутримитохондриальную протеазу HTRA — транскрипционный фактор NFR1.	[30]

а также А-сайт [35]. В свою очередь миторибосома представляет собой 55S рибонуклеопротеиновый комплекс, так же состоящий из малой (28S) и большой (39S) субъединиц. Хотя митохондриальный аппарат трансляции ведёт своё происхождение от бактериального предка, за время существования в эндосимбиотической среде он приобрёл существенные различия. Показано, что многие межсубъединичные мостики специфичные для миторибосомы, отличаются от тех, которые наблюдаются у бактерий или эукариот [36].

Довольно сильным изменениям подвергся у миторибосом туннель через который выходит растущий полипептид для облегчения синтеза гидрофобных полипептидов и их ко-трансляционного встраивания в мембрану [37]. Митохондриальные мРНК, в отличие от бактериальных, лишены последовательности Шайна–Дальгарно, которая представляет собой сайт связывания рибосом на молекуле мРНК прокариот [15]. Для бактерий соотношение РНК: белок составляет 2:1, для миторибосом млекопитающих, наоборот, белка в два раза больше, чем РНК [36], вероятно, что в ходе эволюции миторибосом белки заменили структурные элементы РНК [38]. При этом трансляционный цикл на миторибосоме также проходит через консервативные канонические этапы — инициация, удлинение, терминация и рециркуляция миторибосомы [7, 39].

Многие антибактериальные препараты обладают способностью ингибировать трансляцию на бактериальной рибосоме путём связывания с ключевыми сайтами, при этом различия между прокариотическими и эукариотическими рибосомами не позволяют антибиотикам ингибировать

эукариотическую трансляционную систему хозяина. Однако задокументирована восприимчивость системы митохондриальной трансляции к антибиотикам: токсические побочные эффекты некоторых антибиотиков объясняются именно ингибированием митохондриальной трансляции [40, 41]. Далее мы подробно обсудим конкретные антибиотики, которые согласно литературным экспериментальным данным ингибируют трансляцию белков на миторибосоме (табл. 2).

Тетрациклины (см. рис. 1) были открыты в 1948 г. как естественные продукты ферментации почвенной бактерии *Streptomyces aureofaciens*. Первым химически очищенным тетрациклином был хлортетрациклин (биомицин), 1954 г. В то же время был открыт тетрациклин (в 1953 г.), и получены полусинтетические производные тетрациклинов (например, доксициклин) [51]. Доксициклин имеет более широкий спектр антибактериального действия в сравнении с другими тетрациклинами и проявляет меньшую гепатотоксичность при пероральном применении. Миноциклин и тигециклин получают путём полного синтеза, они относятся ко 2-му и 3-му поколениям тетрациклиновых антибиотиков соответственно. Тигециклин активен в отношении тетрациклинорезистентных грамположительных бактерий.

Тетрациклины нацелены на бактериальную рибосому: они связываются с 16s рРНК, препятствуя размещению аминокислот тРНК в А-сайте комплекса рибосома — мРНК, и таким образом, ингибируют удлинение зарождающихся пептидов.

В экспериментах на клеточных линиях, растениях (*A. thaliana*), *C. elegans*, *D. melanogaster* и мышах, показано что доксициклин нарушает функцию

митохондрий и запускает глобальные адаптивные реакции. Нарушаются такие митохондриальные механизмы, как митохондриальный транспорт, синтез митохондриальных белков, потенциал митохондриальной мембраны, ёмкость митохондриального ОФ, синтез АТФ и ЦПЭ[40]. В тех же экспериментах амоксициллин, который относится к семейству пенициллинов и нарушает синтез бактериальной клеточной стенки, а не трансляцию, не влияет на дисбаланс митонуклеарных белков и не оказывает влияния на функцию митохондрий, что отражается в неизменном клеточном дыхании.

Обработка доксициклином приводит к диссоциации митоторибосомы [20]. На мутантных цибридных клетках ND1 (гибридные клетки, в которых митохондрии искусственно лишены мтДНК) показано, что общего подавления митохондриальной трансляции недостаточно для выживания митохондриальных мутантов, для этого требуется именно действие тетрациклинов по расщеплению митоторибосомы. Эти утверждения подкреплены наблюдением, что ингибитор трансляции актинонин, не нацеленный на митоторибосому, способствовал выживанию цибридных клеток.

Тиострептон впервые был выделен в 1955 г. из нескольких штаммов стрептомицетов, структура установлена только в 1970 году рентгеноструктурным анализом [35] (см. рис. 1). Тиострептон относится к классу рибосомально синтезируемых посттрансляционно модифицированных пептидов, которые часто называют тиазол-оксазол-модифицированными микроцинами [52]. Тиострептон связывается с бактериальной 50S субъединицей 3CF5 и препятствует взаимодействию факторов трансляции с рибосомой.

В работе L. Zhang и соавт. [42] использовали модельную систему трансляции митохондрий *in vitro*, сконструированную на основе митохондрий быка, чтобы оценить влияние антибиотиков на синтез митохондриальных белков. Тетрациклин и тиострептон показали схожее ингибирующее действие как на митохондриальную систему, так и на *E. coli*. Тетрациклин ингибировал митохондриальную трансляцию с $IC_{50}=170$ мкМ, а трансляцию *E. coli* с $IC_{50}=150$ мкМ. Тиострептон ингибировал митохондриальную трансляцию с $IC_{50}=0,6$ мкМ, а трансляцию *E. coli* с $IC_{50}=0,48$ мкМ. В то же время, эта же модель оказалась невосприимчива к антибиотикам, ингибирующим бактериальную трансляцию, но относящимся к другим классам, а именно: тиамулину, макролидам (джозамицин, спирамицин, мидекамицин), виргиниамицину, фузидиевой кислоте и кирромицину. Для тиамулина и макролидов IC_{50} была в 100 раз выше чем IC_{50} *E. coli* [42].

Хлорамфеникол (см. рис. 1) получен в 1947 г. как продукт биосинтеза *Streptomyces venezuelae* [35]. Антибиотик ингибирует синтез микробного белка,

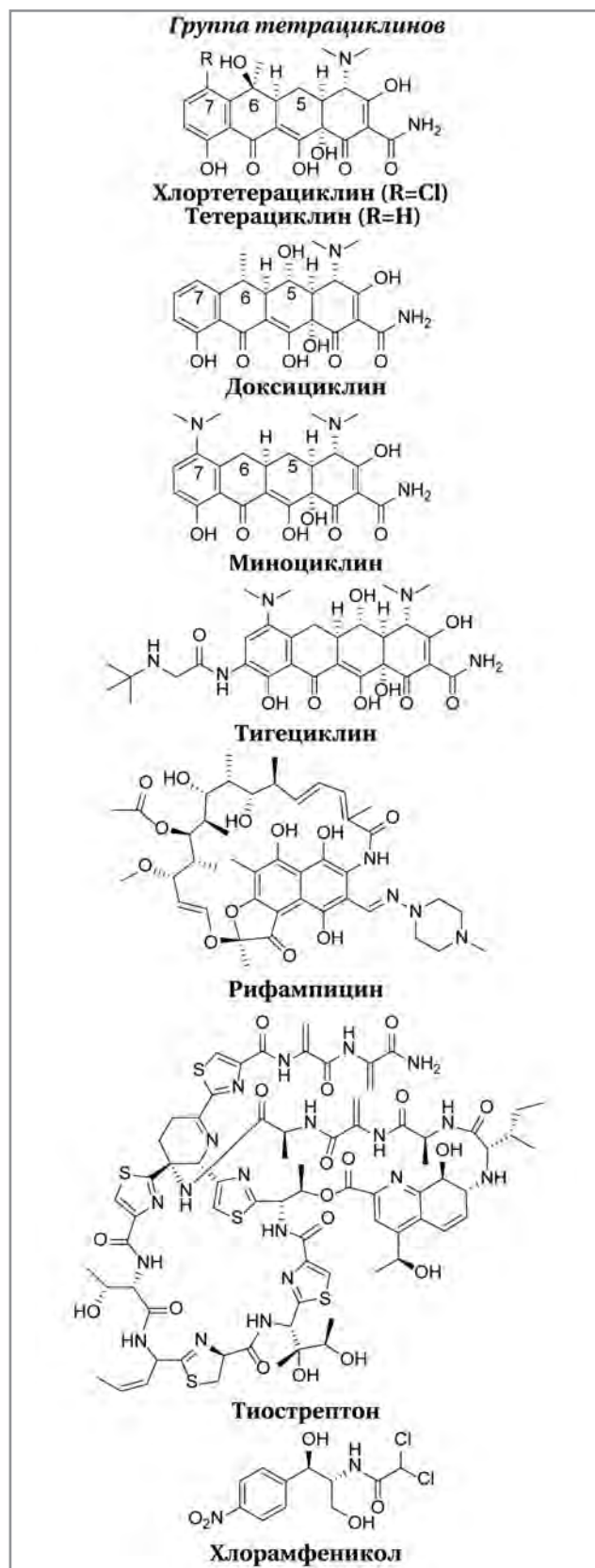


Рис. 1. Структуры антибиотиков, действующих на митоторибосому: группа тетрациклинов, тиострептон, хлорамфеникол и рифампицин.

Fig. 1. Structures of the most studied antibiotics targeted at the mitoribosome: the tetracycline group, thiostrepton, chloramphenicol, and rifampicin.

Таблица 2. Антибиотики, ингибирующие трансляцию белков на рибосоме

Table 2. Antibiotic inhibitors of ribosomal protein synthesis, which affect the synthesis of mitochondrial proteins

Класс антибиотиков	Антибиотики	Степень активности	Ссылка
Тетрациклины	Тетрациклин	**	[42, 43]
	Доксициклин	***	[16, 40, 44]
	Миноциклин	Нет числовых данных	[45]
	Метациклин	***	[34, 46]
	Тигециклин	Нет числовых данных	[7—9]
Амфениколы	Хлорамфеникол	***	[16, 21, 43, 47]
Аминогликозиды	Гентамицин	*	[48]
	Стрептомицин	Нет	[43]
	Противоречивые данные	*	[48]
	Неомицин	*	[48]
Тиострептон	Тиострептон	***	[42]
Макролиды	Азитромицин	Нет	[49]
	Противоречивые данные	*	[48]
	Эритромицин	*	[43, 48, 50]
	Спирамицин	Нет	[42]
	Противоречивые данные	Показано ингибирование изолированных миторибосом	[50]
	Тилозина тартрат	Показано ингибирование изолированных миторибосом	[50]
	Карбомицин (магнамицин), редко используется, включая РФ	Показано значимое ингибирование изолированных миторибосом	[50]
Линкозамиды	Клиндамицин	*	[43]

Примечание. Сильная активность (***) — MIC ≤ 1 г/мл; средняя (**) — MIC 1–16 г/мл; слабая (*) — MIC ≥ 16 г/мл, если был рассчитан MIC. Условия эксперимента в каждой статье сильно разнятся, так что мы использовали усреднение значение, отдавая предпочтения публикациям последних лет.

Note. Strong activity (***) — MIC ≤ 1g/mL; moderate activity (**) — MIC 1–16g/mL; weak activity (*) — MIC ≥ 16g/mL, if MIC was calculated. Experimental conditions in each article vary greatly, so we used an average value, giving preference to publications from recent years.

связываясь с 50S-субъединицей рибосомы, препятствуя связыванию аминоацил-транспортной РНК с активным центром пептидилтрансферазы и тем самым предотвращая образование пептидных связей. В работе [43] влияние различных антибиотиков, на митохондриальную трансляцию изучали на интактных митохондриях, выделенных из сердца, печени и костного мозга млекопитающих. Показано, что касугамицин, линкомицин, клиндамицин, стрептомицин, азитромицин и эритромицин (рис. 2) оказали незначительное или не оказали никакого влияния на синтез митохондриальных белков из неповреждённых митохондрий любой ткани с IC₅₀ > 400 мкМ. Тетрациклин был наиболее эффективным ингибитором с IC₅₀ = 2,1 мкМ, в то время как для хлорамфенткола IC₅₀ = 9,8–11,8 мкМ.

Было установлено, что хлорамфеникол смягчает окислительный стресс путём ингибирования трансляции митохондриального комплекса I в дофаминергических нейронах при токсин-индуцированной болезни Паркинсона [47]. Возможно ингибирование синтеза митохондриальных белков хлорамфениколом может предотвратить усиление окислительной функции митохондрий, необходимых для выживания нейронов после дифференциации [53].

Аминогликозиды — это широко используемый класс антибиотиков, которые в отличие от других ингибиторов синтеза белка оказывают не бактериостатическое, а бактерицидное действие. Первым выделенным аминоглицозидом стал стрептомицин (см. рис. 2). Он был получен в 1943 г. из *Streptomyces griseus* и внедрён в клинику для лечения в 1946 г. [35]. Стрептомицин связывается с 16S рРНК, расположенной на 30S субъединице бактериальной рибосомы, подавляя её функциональность и останавливая дальнейший синтез белка путём ингибирования образования пептидных связей. Показано, что стрептомицин может связываться с миторибосомой человека. Y. Itoh и соавт. [54, 55] методом криоэлектронной микроскопии была определена структура малой субъединицы миторибосомы в комплексе со стрептомицином. У пациентов с мутациями 1494C>T и 1555A>G в мтДНК в гене *12S рРНК* диагностируется ототоксичность вследствие приёма стрептомицина [56]. Анализ структуры миторибосома — стрептомицин показал, что такие мутации создают новые пары оснований РНК, которые локально ужесточают структуру миторибосомы. Стрептомицин же в свою очередь, напрямую взаимодействуя с A1555 и C1556 на миторибосоме, посредством водородных связей усиливает это укрепление

структуры, что дополнительно способствует ингибированию трансляции.

В работе С. N. Jones и соавт. [48] оценили влияние тетрациклинов, аминогликозидов, макролидов и хлорамфеникола на жизнеспособность клеток с митохондриальными дефектами *in vitro*. Была проведена серия экспериментов, в которых варьировались как время воздействия антибиотика, так и его концентрация; условия основывались на рекомендуемой дозировке антибиотика для человека. Клеточные линии, полученные от пациентов с митохондриальными дефектами, обрабатывались антибиотиками, таким образом изучалось влияние этих антибиотиков на выживаемость клеток.

Так же использовался анализ полимеризации poly (U) *in vitro* для оценки влияния антибиотиков на систему митохондриальной трансляции. Аминогликозиды гентамицин и неомицин (см. рис. 2) ингибировали рост клеток, содержащих нормальные митохондрии примерно на 30%. При этом в присутствии гентамицина рост мутантных клеток-дефектов, которых затрагивают белки миторибосомальной малой субъединицы, ингибировался почти на 70%. В то же время рост клеток с мутацией в гене, кодирующем митохондриальный фактор удлинения Ts, подвергаются лишь слабому воздействию этого антибиотика, примерно 30%, как и в случае нормальных клеток. Аминогликозид амикацин (см. рис. 2) не подавлял рост ни нормальных, ни мутантных клеток. Концентрации аминогликозидных антибиотиков, использованных в работе: амикацина — 260 мкМ, 200 мкг/мл, стрептомицина — 1100 мкМ, 800 мкг/мл, гентамицина — 230 мкМ, 150 мкг/мл.

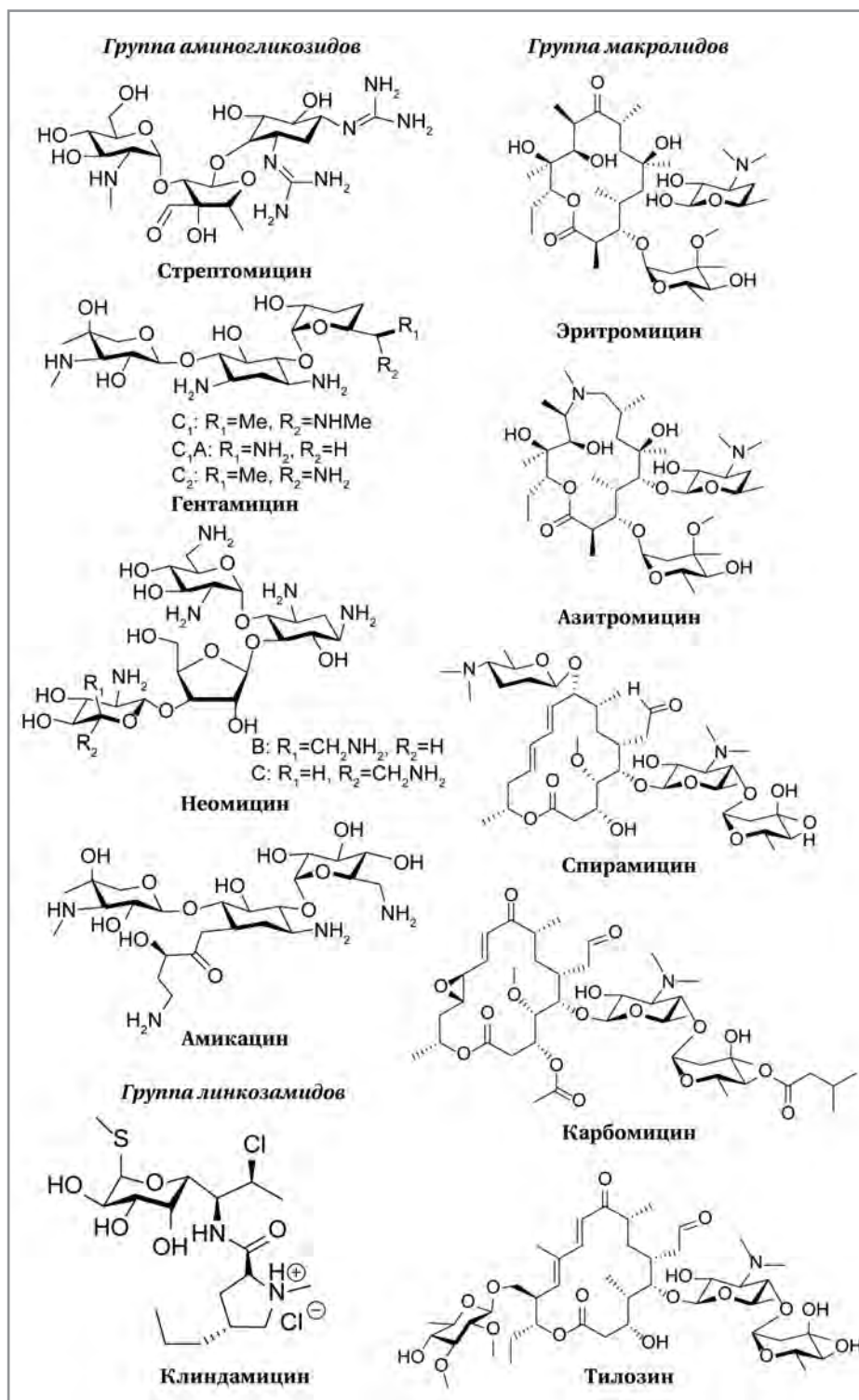


Рис. 2. Структуры наиболее изученных антибиотиков, действующих на миторибосому: группа аминогликозидов, группа макролидов и линкозамиды.
Fig. 2. Structures of the most studied antibiotics targeted at the mitoribosome: the aminoglycoside group, the macrolide group, and lincosamides.

В том же эксперименте рост клеток дикого типа, обработанных доксициклином и тетрациклином, ингибировался на 25%. При этом концентрации доксициклина (19 мкМ, 10 мкг/мл) и тетрациклина (100 мкМ, 77 мкг/мл) были на порядок меньше. Максимальное ингибирующее действие

70% было оказано доксициклином и тетрациклином на клетки с мутацией в гене, кодирующем митохондриальный фактор удлинения Ts, что совпадает с антибактериальным механизмом действием этих антибиотиков (ингибирование удлинения зарождающихся пептидов).

Макролиды (см. рис. 2), как и хлорамфеникол, связываются с выходным туннелем большой рибосомальной 50-субъединицей бактерий. Рост пептидной цепи останавливается за счёт выходного рибосомного туннеля антибиотиками [35]. На изолированных митохондриальных рибосомах в 1970-х гг. было показано, что некоторые макролиды (карбомидин, спирамидин, тилозина тартрат, эритромицин) ингибируют митохондриальную трансляцию [50]. Однако в работе 2009 г. С. N. Jones и соавт. [48] (методология работы [48] описана в подразделе «Аминогликозиды») влияние эритромицина и азитромицина на митохондриальную трансляцию оценивается авторами как незначительное. Используемые концентрации составили для эритромицина — 260 мкМ, 200 мкг/мл и для азитромицина — 33 мкМ, 25 мкг/мл. В работе [49] не было обнаружено существенного влияния лечения азитромицином на функцию митохондрий у детей с муковисцидозом. Митохондриальная функция оценивалась в лимфоцитах крови путём измерения ферментативной активности комплексов ЦПЭ и измерения продукции АТФ. Показано, что, азитромицин не оказал влияния на рост клеток фибробластов, зависящих от ОФ, при этом, оказав незначительное влияние на фибробласты, полученные из мутантных клеток пациентов с дефектами митохондриальной трансляции.

Подводя итог этого раздела, следует отметить, что нельзя однозначно выделить класс антибиотиков, оказывающих антимитохондриальное действие. Так, например, аминогликозид гентамицин влияет на митохондрии, а аминогликозид амикацин нет [48]. Противоречивые данные получены относительно макролидов азитромицина и спиромицина и аминогликозида стрептомицина, поскольку в одних работах для них зафиксировано антимитохондриальное действие, а в других — нет. Максимальное антимитохондриальное действие оказывают антибиотики, относящиеся к классу тетрациклинов и хлорамфеникол, так что в последующих разделах обзора мы сосредоточим наше обсуждение конкретно на них.

Как попасть в митохондрию?

Внутри бактерии тетрациклины попадают как с помощью пассивной диффузии, так и с помощью энергозависимого активного транспорта [57], но как они попадают в митохондрии? В живом организме митохондрии защищены от вмешательства

антибиотиков не только клеточной, но и внешней и внутренней митохондриальной мембранами.

В работе Н. de Vries и соавт. [50] показано, что синтез митохондриального белка млекопитающих чувствителен к эритромицину, тилозина тартрату, спирамицину и карбомидину, но для первых трёх антибиотиков существуют мембранные барьеры: для эритромицина барьером является митохондриальная мембрана, а для тилозина тартрата и спирамицина — клеточная мембрана. Внешняя мембрана митохондрий пористая, и ионы, и небольшие незаряженные молекулы свободно проходят через неё благодаря порообразующим мембранным белкам (пориам) [58]. Более крупные молекулы, особенно белки, должны импортироваться с помощью специальных транслоказ. Из-за пористости внешней мембраны через неё не проходит мембранный потенциал. Внутренняя мембрана, напротив, является непроницаемым диффузионным барьером для всех ионов и молекул. Они могут проникать через неё только с помощью специальных мембранных транспортных белков, каждый из которых избирательно переносит определённый ион или молекулу.

В результате работы мтЭТЦ в матриксе — внутреннем плотном белковом пространстве митохондрий — образуется отрицательный заряд, значит, положительно заряженным молекулам проникнуть туда будет проще. Но митохондриальный матрикс отгорожен от цитоплазмы двумя липидными митохондриальными мембранами. Так, для того, чтобы проникнуть внутрь митохондрии, антибиотики должны быть ещё и липофильными. Опыт применения тетрациклинов при лечении инфекций ЦНС, вызванных микроорганизмами, показывает их хорошую растворимость в липидах и как следствие способность прохождения через гематоэнцефалический барьер [59].

Учитывая, что митохондриально-опосредованные пути определены как перспективные мишени, активно ведётся разработка адресных методов доставки, нацеленных на митохондрии, на основе характеристик митохондриальных мембран [60]. Одной из популярных идей является присоединение к активному соединению адресной молекулы, которая укажет клетке отправить лекарство в митохондрию. В качестве такой молекулы В. П. Скулачевым и Е. А. Либерманом [61] была предложена молекула трифенилфосфония (ТФФ). Производные этого соединения были использованы как вектор доставки биологически активных молекул, в том числе и антибиотиков. В патенте WO 2018/193114 A1 [62] представлен метод конъюгации аналогов ТФФ с тетрациклинами. На рис. 3, а дан пример одного из конъюгатов ТФФ с доксициклином. Соединения рекомендованы для использования в качестве полезных фармакологических препаратов, однако данных о биологиче-

ской активности полученных конъюгатов в патенте не представлено.

Также была получена и изучена серия конъюгатов ТФФ с хлорамфениколом [47] (рис. 3, *b*). Было показано, что производные SAM-C10-TPP и SAM-C14-TPP хотя и токсичны за счёт их способности накапливаться в митохондриях, но у них этот эффект ниже, чем к примеру, у противоопухолевого препарата доксорубина. Это может быть вызвано снижением клеточного метаболизма под влиянием ТФФ вследствие изменения заряда клеточной мембраны. Синтезированные аналоги SAM-C_n-TPP могут быть выгодными и с точки зрения рассмотрения в качестве противомикробных соединений [63]. Также в связи со сниженной токсичностью эти препараты могут быть потенциально полезны и для нейродегенеративных заболеваний.

Антибиотики и старение

В 2013 г. в публикации R. H. Houtkooper и соавт. [16] в экспериментах на животных показали, что у *C. elegans* доксициклин, назначаемый в течение всей жизни, дозозависимо увеличивал продолжительность жизни. Селективное ингибирование трансляции митохондриальных белков доксициклином вызвало дисбаланс митонуклеарных белков (антибиотик увеличивал соотношение окислительного фосфорилирования яДНК по сравнению с мтДНК), нарушило митохондриальный протеостаз, и в итоге запустило механизм mtUPR. Аналогично действовал хлорамфеникол: увеличивал продолжительность жизни и активировал mtUPR. В качестве контроля использовали антибиотик карбенициллин, ингибитор синтеза бактериальной клеточной стенки, не оказавший никакого действия. В концентрации 60 мкг/мл доксициклин вызывал задержку развития, однако не было выявлено никаких отклонений при более низких концентрациях. В экспериментах на мышах, как и ранее в экспериментах на нематодах, доксициклин также индуцировал mtUPR и кроме того вызвал дисбаланс митонуклеарных белков в гепатоцитах. Добавление в рацион мышей доксициклина в течение 10 дней снизило потребление кислорода *in vivo*, что свидетельствует об ослабленной функции митохондрий.

Работа R. H. Houtkooper и соавт [16]. стала одним из главных открытий в области гериатрической медицины. Её результаты были подтверждены аналогичными экспериментами. Так, на нематодах показано, что доксициклин и азитромицин или комбинация обоих препаратов значительно увеличивают среднюю продолжительность жизни *C. elegans* и снижают уровни АТФ по сравнению с контрольными группами. Активации mtUPR, вследствие подавления

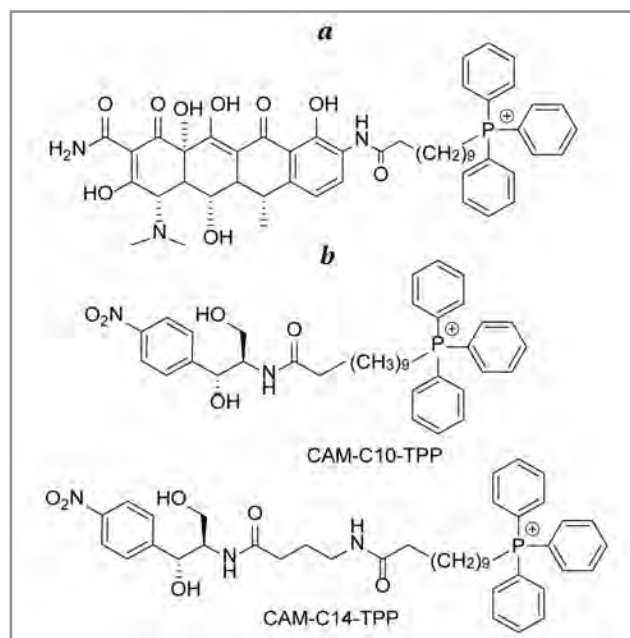


Рис. 3. Структуры конъюгатов трифенилфосфония (ТФФ) с 9-аминодоксициклином (*a*) и с хлорамфениколом с разными спейсерами: SAM-C10-TPP и SAM-C14-TPP (*b*).

Fig. 3. Structures of triphenylphosphonium (TPP) conjugates with 9-aminodoxycycline (*a*) and with chloramphenicol with different spacers: CAM-C10-TPP and CAM-C14-TPP (*b*).

кодируемых яДНК субъединиц ОФ, приводит к увеличению продолжительности жизни у плодовых мушек [65], и нематод [66]. В последнем случае было показано, что подавление IV ферментного комплекса мтЭТЦ с помощью РНК-интерференции, активирует mtUPR и увеличивает продолжительность жизни примерно на 50%. Так же на нематодах было показано, что модуляция уровней кофактора NAD⁺ активирует mtUPR и увеличивает продолжительность жизни посредством активации *sir2.1* и *daf-16*, (данные гены нематод являются гомологами генов *SIRT1* и *daf-16* у млекопитающих) [67].

Показано, что постоянная активация mtUPR в отсутствие митохондриального стресса не увеличивает продолжительность жизни *C. elegans* [68]. Провели скрининг малых молекул РНК по всему геному для выявления негативных регуляторов mtUPR. Показано, что некоторые РНК, индуцирующие mtUPR, сокращают продолжительность жизни, но среди подмножества тех, которые увеличивают продолжительность жизни, индукция mtUPR не всегда требуется для увеличения продолжительности жизни.

Несмотря на то, что вышеуказанные исследования демонстрируют положительную корреляцию между активацией mtUPR антибиотиками и продолжительностью жизни, следует помнить, что молекулярные механизмы, связанные с mtUPR, не линейны. С одной стороны, увеличив продол-

жительность жизни нематод, обработка доксициклином привела к задержке развития и физиологическим нарушениям, связанным с размером тела и плодовитостью [40]. На мышцах лечение доксициклином было связано со снижением уровня АТФ и изменениями в экспрессии различных митохондриальных генов, суммарно приводя к митохондриальной дисфункции [40].

Митохондриальная причина нейрональных расстройств. Роль mtUPR

Как уже упоминалось в начале статьи митохондриальная дисфункция опосредует биологическое старение. Нейродегенеративные заболевания — это широкий спектр возраст-ассоциированных хронических расстройств, характеризующихся прогрессирующей потерей структур и функций нейронов в центральной нервной системе (ЦНС). В последние годы показана взаимосвязь митохондриальной дисфункции с нейродегенеративными заболеваниями [3, 69].

При болезни Альцгеймера (БА), болезни Хантингтона (БХ) и болезни Паркинсона (БП) наблюдается накопление в структурах головного мозга белков α -синуклеина (α Syn), хантингтина, обогащённого полиглутамином, и пептида β -амилоида с 42 аминокислотными остатками (A β) соответственно, которые по сути и являются маркерами этих заболеваний [17]. По мере развития заболевания белки формируют крупные агрегаты, богатые α -синуклеином тельца Леви при БП или цитоплазматические нейрофибриллярные клубки гиперфосфорилированного тау-протеина и β -амилоид содержащие поверхностные бляшки при БА. Показано, что агрегатные формы α Syn могут самораспространяться внутри нейронов по всей нервной системе, что приводит к распространению патологии по мозгу и прогрессированию БП [70, 71].

Накопление белковых агрегатов и митохондриальная дисфункция взаимосвязаны [5, 72]. α Syn и A β нарушают работу белков транслоказы внешней мембраны митохондрий: они легко проходят через пору и вызывают токсические эффекты, напрямую ингибируя митохондриальные ферменты. Показано, что полиморфизм в транслоказе внешней митохондриальной мембраны TOM40 (пора, опосредующая связь между цитоплазмой и внутренней частью митохондрий) связан с риском позднего начала БА [73].

Нарушение импорта синтезируемых с яДНК белков в митохондрии, приводит к снижению митохондриального дыхания, повышению продукции АФК и изменениям митохондриальной мембранного потенциала, т. е. дисфункции митохондрий. Последняя в свою очередь способствует накоплению ещё большего количества α Syn в клетке

и его олигомеризации. Во всех семейных случаях БП в основном обусловлена именно митохондриальной дисфункцией [74]. Митохондриальная дисфункция выделена как критический фактор патофизиологии БХ [75]. Показана прямая связь между мутантным хантингтином, дисфункцией митохондрий и патологией нейронов [76].

J. Lautenschläger и соавт. [77] показали, что митохондриальные протеазы HtrA2 и Lon, а также импорт митохондриальных белков имеют решающее значение для уровня агрегации α Syn. Напротив, прямое ингибирование I митохондриального комплекса, увеличение внутриклеточной концентрации кальция или образование АФК, что, как известно, приводит к митохондриальному стрессу, не влияет на патологию агрегации α Syn [27, 77]. Аналогичные взаимосвязи оказались применимы и к агрегатам A β 42. Возможно, митохондрии сами по себе могут влиять на гомеостаз белка цитозольных белков, склонных к агрегации, тогда для лечения нейрональных расстройств важно именно поддержание митохондриальной приспособленности, а не противодействие митохондриальной дисфункции. А митохондриальная приспособленность — это и есть механизм mtUPR. В статье «Могут ли нарушения в укладке митохондриальных белков стать причиной нейродегенеративных заболеваний?» [78] авторы показывают, что подавление механизма mtUPR связано с развитием нейродегенеративных заболеваний, а активация mtUPR может быть потенциальной терапевтической целью.

J. S. Beck и соавт. [79] провели количественную ПЦР в реальном времени на посмертных образцах фронтальной коры у субъектов со спорадической и семейной БА и когнитивно интактных контролях. По сравнению с контрольной группой, у субъектов со спорадической БА наблюдалось значительное увеличение (~40–60%) уровней экспрессии отдельных генов, активируемых mtUPR, включая митохондриальные шапероны, митохондриальные протеазы, а также, митохондриально-специфическую оксидоредуктазу. Кроме того, уровни всех этих шести генов, активируемых mtUPR были значительно повышены (~70–90%) при семейной БА по сравнению с контрольной группой, и эти уровни экспрессии были значительно выше по сравнению со спорадической БА. Значит как спорадическая, так и семейная БА характеризуются активацией гена *mtUPR*. Высказано предположение, что mtUPR ингибирует токсический эффект агрегированных A β путём координации передачи сигнала между митохондриями и ядром, восстанавливая внутриклеточный гомеостаз белков и обеспечивая нормальную физиологическую функцию клеток. Показано, что мутанты *pdr-1* и *PINK1* (гены, ассоциированные с БП у *C. elegans* и человека) накапливаются в митохондриях с возрастом, приводят к актива-

ции mtUPR и способствуют выживанию дофаминергических нейронов [80].

Y. Shen и соавт. [81] показали цитопротекторный эффект mtUPR на мышечных и клеточных моделях БА. Показано, что mtUPR активировался в клетках SHSY5Y после воздействия A β 25-35, ингибирование mtUPR усугубляло цитотоксические эффекты A β 25-35. В модели БХ повышенная экспрессия транскрипционного фактора ATF5, активировала mtUPR, тем самым уменьшая нейротоксичность, вызванную агрегирующимся мутантным хантигином [76].

Как и с эффектом отмены старения, чрезмерная активация mtUPR может вызывать противоположные ожиданию эффекты, такие как гибель нейронов при БА. S. E. Counts и соавт. [82] обнаружили, что постоянная активация mtUPR может запустить эффекторный путь гибели нейрональных клеток на ранних стадиях БА. На модели БП у *C. elegans*, показано, что накопление белков α Syn, индуцирует механизм mtUPR [83]. При этом ко-экспрессия α Syn и дисрегуляция mtUPR, связанная с ядерно-локализованным фактором транскрипции, ATFS-1, синергически усиливают протеотоксичность в дофаминергических нейронах. А значит сверхактивация mtUPR способствует обострению патогенеза при БП.

Тетрациклины как нейропротекторные антибиотики

Тетрациклины провоцируют митохондриальный стресс и запускают mtUPR. Ввиду долгого применения в клинической практике, эти антибиотики успешно прошли тесты на токсичность и клиническую безопасность, для них характерен длительный период полувыведения и липофильность, обеспечивающая адекватную проникаемость через гематоэнцефалический барьер. Всё это в сумме делает их ценными препаратами для лечения нейродегенеративных заболеваний. Показано, что тетрациклины, в первую очередь доксициклин и миноциклин, ингибируют образование фибрилл A β и агрегацию амилоида при БП [84, 85]. Доксициклин преобразует олигомеры α Syn в неспецифические, высокомолекулярные виды, которые не превращаются в фибриллы при БА [86]. Обобщая антиагрегатное действие тетрациклинов следует отметить несколько моментов, тетрациклины: (i) связываются с амилоидными фибриллами человеческого прионного белка; (ii) препятствует сборке этих пептидов в амилоидные фибриллы; (iii) восстанавливает протеазную устойчивость агрегатов пептида прионного белка и патологического прионного белка; (iv) предотвращает гибель нейронов и пролиферацию астроцитов, вызванную пептидами прионного белка *in vitro* [87].

Молекула тетрациклина представляет собой протяжённое гидрофобное ядро, образованное ароматическими фрагментами с большим количеством гидрофильных заместителей, придающих амфифильный характер. В своё время именно структурные особенности тетрациклина стали причиной исследования возможности его применения для предотвращения патологической агрегации прионных белков. Тетрациклин структурно близок с Конго красным — азокрасителем, используемым для специфического обнаружения патологической агрегации A β и с 4'-дезоксидоксициклином (рис. 4) — антрациклиновым противоопухолевым препаратом, ингибирующим образование амилоидных агрегатов.

Изучение связи структура–активность имеет принципиальное значения при рассмотрении нейропротекторного действия тетрациклинов. Разные структурные элементы молекулы тетрациклина отвечают за антибактериальную и неантибактериальную активность. Показано что удаление антибактериальных структурных элементов сохраняет способность молекулы сохранять не антибактериальную активность. Химически модифицированный тетрациклин: 4,7-дедиметиламино-миноциклин (СМТ-3) проникает через ГЭБ, обладает пониженной антибиотической активностью и при этом ингибирует агрегацию амилоида α -Syn с эффективностью доксициклина [88] (рис. 5).

Сравнили влияние СМТ-3, доксициклина и миноциклина на агрегацию α -Syn. Значения IC₅₀ для ингибирования агрегации α -Syn, оценённые по кривым доза–реакция, были одинаковы 14,91 \pm 2 мкМ и 14,49 \pm 3 мкМ для СМТ-3 и доксициклина соответственно [88]. Миноциклин не ингибировал амилоидную агрегацию. В той же работе показано, что СМТ-3, в отличие от доксициклина, разбирает/деагрегирует уже сформированные амилоидные фибриллы α -Syn. Таким образом, можно предположить, что на антиагрегантные свойства тетрациклинов влияют заместители на кольцевом скелете в верхней периферической области молекулы. Диметиламиногруппа, присутствующая в миноциклине (С-7), но отсутствующая в доксициклине, препятствует способности ингибировать α -Syn амилоидную агрегацию, а диметиламиногруппа, присутствующая в миноциклине и доксициклине (С-4), препятствует способности деагрегировать амилоидные фибриллы α -Syn.

Полезные эффекты тетрациклинов не ограничиваются взаимодействием с олигомерами и разрушением фибрилл, но являются результатом плеiotропного действия, включающего их антиоксидантную, противовоспалительную, антиапоптотическую и ингибирующую матриксную металлопротеиназу активность. То есть, помимо

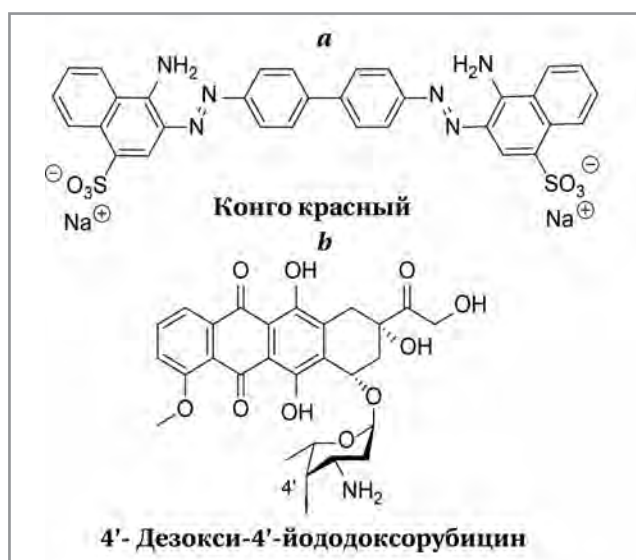


Рис. 4. Химические структуры Конго красного и 4'-дезоксидоксорубина.

Fig. 4. Chemical structures of Congo red and 4'-deoxy-4'-iododoxorubicin.

действия на митохондриальную трансляцию через mtUPR тетрациклины, взаимодействуя с определёнными белками-мишенями, оказывают действие и на другие механизмы/пути нейродеградации (обобщены в табл. 3). Механизм нейропротекторного действия антибиотиков многогранен, так действие тетрациклинов миноциклина и доксициклина перепрограммирует несколько клеточных сигнальных путей через ингибирование каспазы, матриксных металлопротеиназ (ММП) и митоген-активируемой протеинкиназы p38 (МАРК). При этом следует заметить, что антибиотики, ингибирующие митохондриальную трансляцию, по-разному действуют на клеточные сигнальные пути. Так, в хлорамфеникол хелатируется с цинком и кальцием, но в отличие от тетрациклинов не снижает экспрессию, а увеличивает активность ММП [116]. В то же время в отношении каспаз миноциклин, доксициклин и хлорамфеникол оказывают одинаковое действие, ингибируя их активацию [45].

Доксициклин и миноциклин и их структурные аналоги являются перспективными кандидатами для лечения БА и БП. Принимая во внимание разнообразные биологические эффекты, пока не ясно, что делает тетрациклины эффективными против столь разных целей, но было высказано предположение, что повышенная конформационная изменчивость в зависимости от окружающих условий и, следовательно, структурная гибкость (расширенная и свёрнутая конформация молекул), могут быть частично ответственны за это [84].

Нейропротекторная активность миноциклина и доксициклина у животных инициировали исследование их клинической эффективности у пациентов с БА и БП. Показали, что введение док-

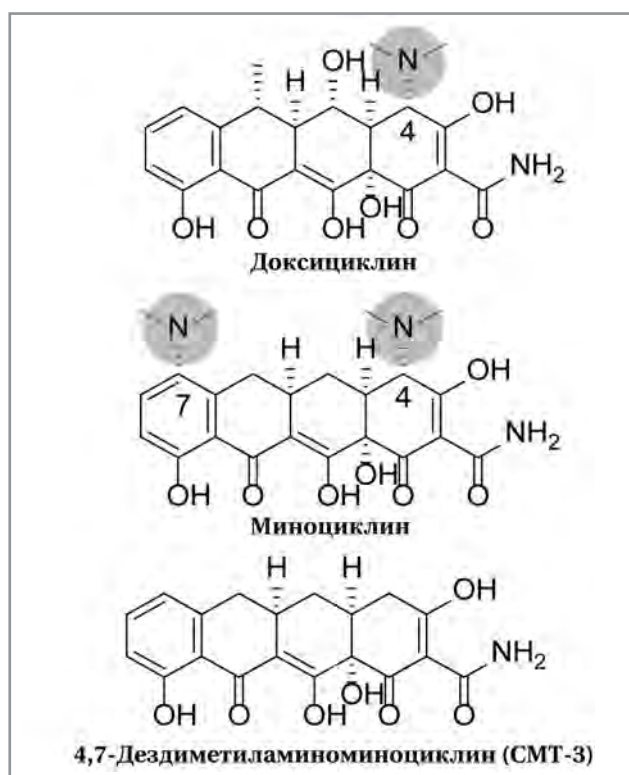


Рис. 5. Химические структуры доксициклина, миноциклина и 4,7-дездиметиламино-миноциклина (СМТ-3).

Примечание. Диметиламиногруппы, влияющие на α -Syn амилоидную агрегацию обозначены серыми кружками [88].

Fig. 5. Chemical structures of doxycycline, minocycline, and 4,7-Desdimethylamino-minocycline (CMT-3).

Note. Dimethylamino groups that influence α -Syn amyloid aggregation are indicated by grey circles [88].

сициклина способствует выживанию, двигательной активности и нейропротекции у мышей на модели БХ [75]. Животные, которым вводили доксициклин, выживали дольше и демонстрировали менее серьёзные признаки неврологической дисфункции, чем мыши, которым вводили физиологический раствор.

Было проведено несколько клинических исследований, в которых изучалась эффективность тетрациклинов у пациентов с БА и БП. Рандомизированное, тройное слепое, контролируемое исследование терапевтической роли лечения доксициклином и рифампицином у пациентов с лёгкой и умеренной формой БА в Канаде (5 поликлиник, 101 пациент) с вероятной болезнью Альцгеймера и лёгкой или умеренной деменцией показало, что группа антибиотиков показала значительно меньшее нарушение поведения через 3 мес. [117]. В то же время более позднее многоцентровое, слепое, рандомизированное, двенадцатимесячное исследование, проведённое в 14 гериатрических амбулаторных клиниках в Канаде, — 406 пациентов с лёгкой и умеренной

Таблица 3. Нейровоспалительные белки, экспрессия которых регулируется тетрациклинами
Table 3. Neuroinflammatory proteins whose expression is regulated by tetracyclines

Белок	Механизм действия белка при патологиях нервной системы	Антибиотик	Взаимодействие антибиотика с белком
Активируемая митогеном протеинкиназа 38 MAPK	Путь MAPK высококонсервативен во всех эукариотических клетках. Он задействован в регуляции, пролиферации, выживания, дифференцировке и апоптозе клеток [89]	Миноциклин	Ингибирование активации пути MAPK [90]
c-Jun N-терминальная киназа (JNK)	Регулирует пролиферацию клеток, апоптоз, аутофагию и воспаление, активна при нейродегенерации и гибели нейронных клеток [91]	Доксициклин	Активация JNK [92]
Ядерный фактор каппа В, NF-κB	Фактор транскрипции, регулятор врождённого иммунитета, нацелен на гены, которые способствуют пролиферации и выживанию клеток, фактор прогрессирования канцерогенеза. Показано наличие NF-κB в митохондриях [93]	Доксициклин	Ингибирование активации NF-κB [94]
Каспазы	Цистеиновые протеазы, активация каспаз является ключевым событием запускающим апоптоз [95]	Доксициклин, миноциклин	Ингибирование экспрессию каспаз-1, -3, -7, -8, -9 и -12 [45, 96–98]
Митохондриальный цитохром С	В ответ на стресс из митохондрии высвобождается цитохром С, который попадая в цитоплазму, образует мультибелковый комплекс — апоптосому и инициирует активацию каспаз, что в свою очередь служит сигналом для запуска апоптоза [84]	Доксициклин, миноциклин	Миноциклин на клеточных линиях болезни Хатигттона ингибирует проапоптотическое высвобождение митохондриального цитохрома С [96, 99, 100]
Фактор индуцируемый гипоксией, HIF-1	Транскрипционный фактор регулирующий экспрессию генов при гипоксии и ишемии, доказано влияние HIF-1 на нейродегенерацию [101]	Миноциклин	Уменьшение экспрессии HIF-1 [102]
Индукцируемая синтаза оксида азота, iNOS	Фермент, катализирующий производство оксида азота (NO) из L-аргинина. Сверхэкспрессированная или дисрегулируемая iNOS вовлечена в многочисленные патологии, включая нейродегенерацию [103]	Тетрациклин, миноциклин	Снижение уровня/активности iNOS [104–106]
Белки семейства Bcl-2	Ключевые регуляторы митохондриального апоптоза, выступают либо в качестве промоторов, либо ингибиторов клеточной смерти [107]	Миноциклин	Повышение уровня Bcl-2 [108]
Матриксные металлопротеиназы, ММП	Цинк-зависимые протеазы, участвующие в протеолизе внеклеточного матрикса. Чрезмерная экспрессия ММП способствует демиелинизации, нейротоксичности и нейровоспалению [109]	Доксициклин, миноциклин	Прямое подавление экспрессии ММП за счёт хелатирования с цинком и кальцием [84, 110]
Поли АДФ-рибоза полимераза 1, PARP-1	Гликозилтрансфераза, участвует в репарации повреждений ДНК и remodelировании хроматина [111]	Миноциклин	Подавление экспрессии PARP-1 [111]
Интерлейкин-1β, IL-1β	Цитокин оказывает провоспалительный эффект на ткани и клетки [112]	Доксициклин, миноциклин	Подавление экспрессии IL-1β [106, 113]
Интерлейкин-1α, IL-1α	Цитокин обладает метаболической и гемопэтической активностью, играет важную роль в регуляции иммунных реакций [105]	Тетрациклин	Подавление экспрессии IL-1α [105]
Фактор некроза опухоли α, TNF-α	Цитокин вызывает воспаление путём связывания со своими рецепторами на других клетках, является одним из основных медиаторов нейровоспаления, связанного с нейродегенерацией [114]	Тетрациклин, миноциклин	Подавление экспрессии TNF-α [105, 106]
Циклооксигеназа -2, ЦОГ-2	Фермент катализирует реакцию превращения арахидоновой кислоты в простагландин. В норме клетками не продуцируется, концентрация нарастает вместе с активностью воспаления [115]	Миноциклин	Снижение уровня ЦОГ-2 [104]

степенью БА на лечении доксициклином или рифампицином, по отдельности или в комбинации, не оказывает положительного влияния на когнитивные функции при болезни Альцгеймера [118]. В обзоре [5] обобщаются несколько клинических исследований, в которых изучалась эффективность тетрациклинов у пациентов с нейродегенеративными заболеваниями, включая БА и БП.

Антибиотики, действующие на рибосомальный синтез белка, не единственный класс антибиотиков, который оказывает нейропротекторное действие. Рифампицин (см. рис. 1), антибиотик ингибирующий синтез нуклеиновых кислот, показывает нейропротекторное и прокогнитивное свойства, опосредованные его анти- τ ау, анти-амилоидным и холинергическим действием. Показано, что рифампицин проявляет сильные защитные эффекты мозга при БА [119]. Показан потенциальный эффект бета-лактаманного антибиотика — ингибитора синтеза клеточной стенки бактерий, цефтриаксона для облегчения симптомов различных экспериментально вызванных неврологических расстройств: БП, БА, бокового амиотрофического склероза, эпилептических припадков, ишемии мозга, черепно-мозговых травм и нейропатической боли.

В заключение хочется упомянуть о теории, что патогенез БА может быть связан с проникновением в мозг микроорганизмов. Согласно этой теории, исходный, немутантный пептид А β представляет собой антимикробный пептид, вырабатываемый врожденной иммунной системой человека, причём защитный механизм реализуется посредством олигомеризации пептида А β [120]. Множество пептидов А β агрегирует в волокнистые сети для захвата вторгающихся микроорганизмов, чтобы ограничить их пролиферацию и воздействие, и в конечном итоге эти волокнистые структуры образуют нерастворимые бляшки А β . С этой точки зрения антибиотики, выполняя свою прямую функцию — защиту от инфекций, могут замедлить прогрессирования БА.

Классические, генетически детерминированные, митохондриальные заболевания

Классические митохондриальные заболевания — это группа расстройств, определяемых дефектами окислительного фосфорилирования, вызванными мутациями генов, кодируемых ядерным или митохондриальным кодом [20]. В работе [48] (обсуждалось выше по тексту обзора) показано, что антибиотики, нацеленные на трансляцию (тетрациклины, аминогликозиды), отрицательно влияют на рост фибробластов, полу-

ченных от пациентов с различными молекулярно-определёнными дефектами митохондриальной трансляции. Даже для макролидов (эритромицина и азитромицина), оказывавших незначительное воздействие на рост клеток дикого типа, зафиксировано значительное снижение плотности для клеток с дефектами митохондриальной трансляции. В 2021 г. Е. А. Perry и соавт. [121], провели скрининг 5000 известных биологически активных соединений на гомоплазматических мутантных гибридных клетках, полученных от пациента с MELAS-синдромом, содержащих несколько точечных мутаций и делеций мтДНК в качестве модели митохондриальных заболеваний [121]. С помощью высокопроизводительного химического скрининга авторы показали, что тетрациклины способствуют выживанию и приспособленности в моделях митохондриальных заболеваний. При митохондриальных заболеваниях лечение тетрациклинами спасает клетки от гибели, путём обращения вспять экспрессии воспалительных генов и восстановления окислительно-восстановительного гомеостаза, в первую очередь соотношений НАДФН/НАДФ⁺, что согласуется с ингибированием митоген-активируемой протеинкиназы p38 (MAPK) [121]. Кроме того, тетрациклины улучшили выживаемость и приспособленность мышей NDUF54^{-/-}, у которых нейромышечный спад, сопровождающий этот тип митохондриального заболевания, был отсрочен, а нейровоспалительная сигнализация была подавлена [121].

Заключение

Существует множество преимуществ в продвижении повторно используемых агентов в программах разработки лекарств. Для одобренных препаратов уже установлены доклинические и клинические показатели токсичности одобренных доз; решены фармакокинетические и производственные проблемы. На сегодняшний день ясно, что антибактериальные агенты не являются соединениями с исключительным сродством к бактериям и, хотя сродство к мишеням, уникальными для бактерий, несоизмеримо выше, для антибиотиков в организме есть альтернативные объекты действия, к которым относится миторибосома.

Антибиотикотерапия основана на избирательной токсичности, что означает, что должен быть затронут микроорганизм и минимально — хозяин. Из-за бактериального происхождения митохондрий некоторые антибиотики могут также действовать на митохондриальную трансляцию. Полный микробиом человека в десять раз больше, чем количество клеток в организме — 10^{14} бактерий против 10^{13} клеток, основная микробная по-

пуляция обитает в толстом кишечнике, более 500 видов [40]. При этом количество митохондрий в клетках варьирует: от нескольких сотен до 1–2 тыс., в клетках печени и до 200 тыс. в зрелых яйцеклетках [122]. Значит популяция митохондрий (которые можно рассматривать как бактерии внутри наших клеток), как минимум на порядок превышает количество бактериальных клеток. 10^{15} митохондрий создают прочную основу для возникновения терапевтических эффектов при действии на них антибиотиками. Но перевешивают ли риски, связанные с приёмом антибиотиков, их полезные свойства? Ингибирующие трансляцию антибиотики могут обеспечить нейропротекцию и сыграть положительную роль в увеличении продолжительности жизни людей.

Однако нельзя забывать о всемирной угрозе развития бактериальной резистентности к антибиотикам. БА и БП являются широко распространёнными неизлечимыми заболеваниями, а значит, поддерживающая терапия потребует длительный приём антибиотиков.

Принимая во внимание далеко идущие нежелательные эффекты, связанные с антибактериальной активностью как для пациентов, так

и в глобальном масштабе возможна дальнейшая работа по перепрофилированию антибиотиков для долгосрочной терапии БА и БП, которая должна переключиться на химически модифицированные соединения, лишённые антимикробных свойств, но сохраняющие плейотропные эффекты против нейродегенеративных заболеваний.

Дополнительная информация

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации. Работа Кисиль О. В. и Олсуфьевой Е. Н. выполнена в рамках НИР государственного задания ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе». Работа Зверевой М. Э. выполнена в рамках НИР государственного задания Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова № 121031300037-7.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Conflict of interests. The authors declare that there is no conflict of interest related to the publication of this article.

Литература/References

- Naresh N. U., Haynes C. M. Signaling and regulation of the mitochondrial unfolded protein response. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2019; 11 (6): a033944. doi: 10.1101/cshperspect.a033944.
- Фомченко Н. Е., Воронцов Е. В., Скачков А. В., Затора Н. Ю. Биологическая роль митохондрий в старении организма. Проблемы здоровья и экологии. 2015; 4 (46): 8–13. doi: https://doi.org/10.51523/2708-6011.2015-12-4-2. [Fomchenko N. E., Voroncov E. V., Skachkov A. V., Zatora N. Yu. The biological role of mitochondria in body aging. *Problemy Zdorov'ya i Ekologii.* 2015; 4 (46). doi: https://doi.org/10.51523/2708-6011.2015-12-4-2 [In Russian]]
- Henrich M. T., Oertel W. H., Surmeier D. J., Geibl F. F. Mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease — a key disease hallmark with therapeutic potential. *Mol Neurodegener.* 2023; 18, 83. doi: 10.1186/s13024-023-00676-7.
- Pagliarini D. J., Calvo S. E., Chang B., Sheth S. A., Vafai S. B., Ong S. E., Walford G. A., Sugiana C., Boneh A., Chen W. K., Hill D. E., Vidal M., Evans J. G., Thorburn D. R., Carr S. A., Mootha V. K. A mitochondrial protein compendium elucidates complex I disease biology. *Cell.* 2008; 134 (1), 112–123. doi: 10.1016/j.cell.2008.06.016.
- Markulin I., Matasin M., Turk V. E., Salković-Petrisic M. Challenges of repurposing tetracyclines for the treatment of Alzheimer's and Parkinson's disease. *J Neural Transm (Vienna).* 2022; 129 (5–6): 773–804. doi: 10.1007/s00702-021-02457-2.
- Salarda E. M., Zhao N. O., Lima C. N., Fries G. R. Mini-review: The anti-aging effects of lithium in bipolar disorder. *Neurosci Lett.* 2021; 79: 136051. doi: 10.1016/j.neulet.2021.136051.
- Kummer E., Ban N. Mechanisms and regulation of protein synthesis in mitochondria. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2021; 22 (5): 307–325. doi: 10.1038/s41580-021-00332-2.
- Ozkurede U., Miller R. A. Improved mitochondrial stress response in long-lived Snell dwarf mice. *Aging Cell.* 2019; 18 (6): e13030. doi: 10.1111/acel.13030.
- Appleby B. S., Nacopoulos D., Milano N., Zhong K., Cummings J. L. A review: treatment of Alzheimer's disease discovered in repurposed agents. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2013; 35 (1–2), 1–22. doi: 10.1159/000345791.
- Pallen M. J. Time to recognise that mitochondria are bacteria? *Trends Microbiol.* 2011; 19 (2): 58–64. doi: 10.1016/j.tim.2010.11.001.
- Gray M. W., Burger G., Lang B. F. The origin and early evolution of mitochondria. *Genome Biol.* 2001; 2 (6): REVIEWS1018. doi: 10.1186/gb-2001-2-6-reviews1018.
- Anderson S., Bankier A. T., Barrell B. G., de Bruijn M. H., Coulson A. R., Drouin J., Eperon I. C., Nierlich D. P., Roe B. A., Sanger F., Schreier P. H., Smith A. J., Staden R., Young I. G. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature.* 1981; 290 (5806): 457–65. doi: 10.1038/290457a0.
- Мазунин И. О., Володько Н. В., Стариковская Е. Б., Сукерник Р. И. Митохондриальный геном и митохондриальные заболевания человека. Молекулярная биология. 2010; 44 (5): 755–772. [Mazunin I. O., Volodko N. V., Starikovskaya E. B., Sukernik R. I. Mitochondrial genome and human mitochondrial diseases. *Molecular Biology.* 2010; 44 (5): 755–772. (in Russian)]
- Костерина Е. А., Козенков И. И., Касымов В. А., Каменский П. А., Доминова И. Н., Королёва Ю. А., Патрушева В. Е., Богачев Р. С., Литвинова Л. С., Бабак С. В., Моисеева Е. М., Богданов Е. А., Мухоморова О. А., Вавилина Я. С., Михальченко Т. А., Патрушев М. В. Митохондриальный белковый профиль и его роль в патологических процессах. Бюллетень сибирской медицины. 2013; 12 (3): 5–17. [Kosterina Ye. A., Kozenkov I. I., Kasymov V. A., Kamensky P. A., Dominova I. N., Korolyova Yu. A., Patrusheva V. Ye., Bogachev R. S., Litvinova L. S., Babak S. V., Moiseeva Ye. M., Bogdanov Ye. A., Mukhortova O. A., Vavilina Ya. S., Mikhachenkova T. A., Patrushev M. V. Mitochondrial protein profile and its role in pathologic processes. *Bulletin of Siberian Medicine.* 2013; 12 (3): 5–17. (in Russian)]
- Aibara S., Singh V., Modelska A., Amunts A. Structural basis of mitochondrial translation. *Elife.* 2020; 9: e58362. doi: 10.7554/eLife.58362
- Houtkooper R. H., Mouchiroud L., Ryu D., Moullan N., Katsyuba E., Knott G., Williams R. W., Auwerx J. Mitonuclear protein imbalance as a conserved longevity mechanism. *Nature.* 2013; 497 (7450): 451–457. doi: 10.1038/nature12188.
- Cilleros-Holgado P., Gómez-Fernández D., Piñero-Pérez R., Reche-López D., Álvarez-Córdoba M., Munuera-Cabeza M., Talaverón-Rey M., Povea-Cabello S., Suárez-Carrillo A., Romero-González A., Suárez-Rivero J. M., Romero-Domínguez J. M., Sánchez-Alcázar J. A. mtUPR Modulation as a therapeutic target for primary and secondary mitochondrial diseases. *Int J Mol Sci.* 2023; 24 (2): 1482. doi: 10.3390/ijms24021482.
- Тодоров И. И., Тодоров Г. И. Мультифакторная природа высокой частоты мутаций в мтДНК соматических клеток млекопитающих. Биохимия. 2009; 74: 1184–1194. [Todorov I. N., Todorov G. I. Multifactorial nature of high frequency of mitochondrial DNA mutations in somatic mammalian cells. *Biochemistry (Moscow).* 2009; 74: 1184–1194. (in Russian)]
- Ferrari A., Del'Olivo S., Barrientos A. The Diseased Mitochondrion. *FEBS Lett.* 2021; 595 (8): 1025–1061. doi: 10.1002/1873-3468.14024.
- Ronayne C. T., Jackson T. D., Bennett C. F., Perry E. A., Kantorovic N., Puigserver P. Tetracyclines activate mitochondria quality control and reduce ER stress to promote cell survival. *EMBO reports.* 2023; 24 (12), e57228. doi: 10.15252/embr.202357228.

21. Wilkins H. M., Weidling I. W., Ji Y., Swerdlow R. H. Mitochondria-derived damage-associated molecular patterns in neurodegeneration. *Front. Immunol.* 2017; 8: 508. doi: 10.3389/fimmu.2017.00508.
22. Yi H. S., Chang J. Y., Shong M. The Mitochondrial unfolded protein response and mitohormesis: a perspective on metabolic diseases. *J Mol Endocrinol.* 2018; 61 (3): R91–R105. doi: 10.1530/JME-18-0005.
23. Wang Y. T., Lim Y., McCall M. N., Huang K. T., Haynes C. M., Nehrke K., Brookes P. S. Cardioprotection by the mitochondrial unfolded protein response requires ATF5. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2019; 317: H472–H478. doi: 10.1152/ajpheart.00244.2019.
24. O'Malley J., Kumar R., Inigo J., Yadava N., Chandra D. Mitochondrial stress response and cancer. *Trends Cancer.* 2020; 6: 688–701. doi: 10.1016/j.trecan.2020.04.009.
25. Zhang X., Fan Y., Tan K. A bird's eye view of mitochondrial unfolded protein response in cancer: mechanisms, progression and further applications. *Cell Death Dis.* 2024; 15 (9): 667. doi: 10.1038/s41419-024-07049-y.
26. Patergnani S., Morciano G., Carinci M., Leo S., Pinton P., Rimessi A. The «mitochondrial stress responses»: the «Dr. Jekyll and Mr. Hyde» of neuronal disorders. *Neural Regen Res.* 2022; 17 (12): 2563–2575. doi: 10.4103/1673-5374.339473.
27. Lautenschläger J., Kaminski Schierle G. S. Mitochondrial degradation of amyloidogenic proteins — a new perspective for neurodegenerative diseases. *Prog Neurobiol.* 2019; 181: 101660. doi: 10.1016/j.pneurobio.2019.101660.
28. Bueno M., Papazoglou A., Valenzi E., Rojas M., Lafyatis R., Mora A. L. Mitochondria, aging, and cellular senescence: implications for scleroderma. *Curr Rheumatol Rep.* 2020; 22 (8): 37. doi: 10.1007/s11926-020-00920-9.
29. Papa L., Germain D. Sirt3 regulates the mitochondrial unfolded protein response. *Mol Cell Biol.* 2014; 34 (4): 699–710. doi: 10.1128/MCB.01337-13.
30. Riar A. K., Burstein S. R., Palomo G. M., Arreguin A., Manfredi G., Germain D. Sex specific activation of the ER α axis of the mitochondrial UPR (UPRmt) in the G93A-SOD1 mouse model of familial ALS. *Hum Mol Genet.* 2017; 26 (7): 1318–1327. doi: 10.1093/hmg/ddx049.
31. Münch C. The different axes of the mammalian mitochondrial unfolded protein response. *BMC Biol.* 2018; 16 (1): 81. doi: 10.1186/s12915-018-0548-x.
32. Xu M., Xue R. Q., Lu Y., Yong S. Y., Wu Q., Cui Y. L., Zuo X. T., Yu X. J., Zhao M., Zang W. J. Choline ameliorates cardiac hypertrophy by regulating metabolic remodelling and UPRmt through SIRT3-AMPK pathway. *Cardiovasc Res.* 2019; 115: 530–545. doi: 10.1093/cvr/cvy217.
33. Bora S., Vardhan G. S. H., Deka N., Khatanar L., Gogoi D., Baruah A. Paraquat exposure over generation affects lifespan and reproduction through mitochondrial disruption in *C. elegans*. *Toxicology.* 2021; 447: 152632. doi: 10.1016/j.tox.2020.152632.
34. Rauthan M., Pilon M. A chemical screen to identify inducers of the mitochondrial unfolded protein response in *C. elegans*. *Worm.* 2015; 4 (4): e1096490. doi: 10.1080/21624054.2015.1096490.
35. Шекотихин А. Е., Олсуфьева Е. Н., Янковская В. С. Антибиотики и родственные соединения. Научное издание. М.: Лаборатория знаний, 2022; 511. ISBN 978-5-93208-247-8 [Shchekotikhin A. E., Olsufeva E. N., Yankovskaya V. S. Antibiotiki i rodstvennye soedineniya. Nauchnoe izdanie. Moscow: Laboratoriya Znanij, 2022; 511. ISBN 978-5-93208-247-8. (in Russian)]
36. Amounts A., Brown A., Toots J., Scheres S. H. W., Ramakrishnan V. Ribosome. The structure of the human mitochondrial ribosome. *Science.* 2015; 348 (6230): 95–98. doi: 10.1126/science.aaa1193.
37. Ott M., Herrmann J. M. Co-translational membrane insertion of mitochondrially encoded proteins. *Biochim Biophys Acta.* 2010; 1803 (6): 767–75. doi: 10.1016/j.bbamcr.2009.11.010.
38. O'Brien T. W. *Gene.* 2002 Mar 6; 286 (1): 73–9. doi: 10.1016/s0378-1119(01)00808-3.
39. Nadler F., Lavdovskaia E., Richter-Dennerlein R. Maintaining mitochondrial ribosome function: The role of ribosome rescue and recycling factors. *RNA Biology.* 2022; 19 (1): 117–131. doi: 10.1080/15476286.2021.2015561.
40. Moullan N., Mouchiroud L., Wang X., Ryu D., Williams E. G., Mottis A., Jovaisaite V., Frochaux M. V., Quiros P. M., Deplancke B., Houtkooper R. H., Auwerx J. Tetracyclines disturb mitochondrial function across eukaryotic models: a call for caution in biomedical research. *Cell Rep.* 2015; 10 (10): 1681–1691. doi: 10.1016/j.celrep.2015.02.034.
41. Chatzispayrou I. A., Held N. M., Mouchiroud L., Auwerx J., Houtkooper R. H. Tetracycline antibiotics impair mitochondrial function and its experimental use confounds research. *Cancer Res.* 2015; 75 (21): 4446–4449. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-15-1626.
42. Zhang L., Ging N. C., Komoda T., Hanada T., Suzuki T., Watanabe K. Antibiotic susceptibility of mammalian mitochondrial translation. *FEBS letters.* 2005; 579 (28): 6423–6427. doi: 10.1016/j.febslet.2005.09.103.
43. McKee E. E., Ferguson M., Bentley A. T., Marks T. A. Inhibition of mammalian mitochondrial protein synthesis by oxazolidinones. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006; 50 (6): 2042–2049. doi: 10.1128/AAC.01411-05.
44. Wüst R. C. I., Coolen B. F., Held N. M., Daal M. R. R., Alizadeh Tazehkandi V., Baks-Te Bulte L., Wiersma M., Kuster D. W. D., Brundel B. J. J. M., van Weeghel M., Strijkers G. J., Houtkooper R. H. The antibiotic doxycycline impairs cardiac mitochondrial and contractile function. *Int J Mol Sci.* 2021; 22 (8): 4100. doi: 10.3390/ijms22084100.
45. Li C. H., Tzeng S. L., Cheng Y. W., Kang J. J. Chloramphenicol-induced mitochondrial stress increases p21 expression and prevents cell apoptosis through a p21-dependent pathway. *J Biol Chem.* 2005; 280 (28): 26193–26199. doi: 10.1074/jbc.M501371200.
46. Kupsch K., Hertel S., Kreutzmann P., Wolf G., Wallesch C. W., Siemen D., Schönfeld P. Impairment of mitochondrial function by minocycline. *FEBS J.* 2009; 276 (6): 1729–1738. doi: 10.1111/j.1742-4658.2009.06904.x.
47. Han J., Kim S. J., Ryu M. J., Jang Y., Lee M. J., Ju X., Lee Y. L., Cui J., Shong M., Heo J. Y., Kweon G. R. Chloramphenicol mitigates oxidative stress by inhibiting translation of mitochondrial complex in dopaminergic neurons of toxin-induced parkinson's disease model. *Oxid Med Cell Longev.* 2019; 2019: 4174803. doi: 10.1155/2019/4174803.
48. Jones C. N., Miller C., Tenenbaum A., Spremulli L. L., Saada A. Antibiotic effects on mitochondrial translation and in patients with mitochondrial translational defects. *Mitochondrion.* 2009; 9 (6): 429–437. doi: 10.1016/j.mito.2009.08.001.
49. Negari S. B., Aouizerat T., Tenenbaum A., Cohen-Cymbarknoh M., Shoseyov D., Kerem E., Saada A. Mitochondrial OXPHOS function is unaffected by chronic azithromycin treatment. *J Cyst Fibros.* 2013; 12 (6): 682–687. doi: 10.1016/j.jcf.2013.04.006.
50. de Vries H., Arendzen A. J., Kroon A. M. The interference of the macrolide antibiotics with mitochondrial protein synthesis. *Biochim Biophys Acta.* 1973; 331 (2): 264–75. doi: 10.1016/0005-2787(73)90439-5.
51. Sapadin A. N., Fleischmajer R. Tetracyclines: nonantibiotic properties and their clinical implications. *J Am Acad Dermatol.* 2006; 54 (2): 258–265. doi: 10.1016/j.jaad.2005.10.004.
52. Kelly W. L., Pan L., Li C. Thiostrepton biosynthesis: prototype for a new family of bacteriocins. *J Am Chem Soc.* 2009; 131 (12): 4327–34. doi: 10.1021/ja807890a.
53. Guimarães C. A., Linden R. Chloramphenicol induces apoptosis in the developing brain. 2000; 39 (9): 1673–1679. doi: 10.1016/s0028-3908(99)00246-4.
54. Itoh Y., Singh V., Khawaja A., Naschberger A., Nguyen M. D., Rorbach J., Amunts A. Structure of the mitoribosomal small subunit with streptomycin reveals Fe-S clusters and physiological molecules. *Elife.* 2022; 11: e77460. doi: 10.7554/eLife.77460.
55. Itoh Y., Khawaja A., Laptev I., Cipullo M., Atanassov I., Sergiev P., Rorbach J., Amunts A. Mechanism of mitoribosomal small subunit biogenesis and preinitiation. *Nature.* 2022; 606 (7914): 603–608. doi: 10.1038/s41586-022-04795-x.
56. Gao Z., Chen Y., Guan M. X. Mitochondrial DNA mutations associated with aminoglycoside induced ototoxicity. *J Otol.* 2017; 12 (1): 1–8. doi: 10.1016/j.joto.2017.02.001.
57. Chopra I., Roberts M. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2001; 65 (2): 232–260. doi: 10.1128/MMBR.65.2.232-260.2001.
58. Kühlbrandt W. Structure and function of mitochondrial membrane protein complexes. *BMC Biol.* 2015; 13: 89. doi: 10.1186/s12915-015-0201-x.
59. Karlsson M., Hammers S., Nilsson-Ehle L., Malmberg A. S., Wretling B. Concentrations of doxycycline and penicillin G in sera and cerebrospinal fluid of patients treated for neuroborreliosis. *Antimicrob Agents Chemother.* 1996; 40 (5): 1104–1107. doi: 10.1128/AAC.40.5.1104.
60. Kim S., Nam H. Y., Lee J., Seo J. Mitochondrion-targeting peptides and peptidomimetics: recent progress and design principles. *Biochemistry.* 2020; 59 (3): 270–284. doi: 10.1021/acs.biochem.9b00857.
61. Liberman E. A., Topaly V. P., Tsofin L. M., Jasaitis A. A., Skulachev V. P. Mechanism of coupling of oxidative phosphorylation and the membrane potential of mitochondria. *Nature.* 1969; 65 (222): 1076–1078.
62. Spare T., Ratcliffe A., Hallett D., Cochran E., Lassalle G., Froidbise A., Stevenson B. Triphenylphosphonium-tethered tetracyclines for use in treating cancer. *United States patent.* WO 2018/193114 A1. 2018 Oct 25.
63. Pavlova J. A., Khairullina Z. Z., Tereshchenkov A. G., Nazarov P. A., Lukianov D. A., Volynkina I. A., Skvortsov D. A., Makarov G. I., Abad E., Murayama S. Y., Kajiura S., Paleskava A., Konevega A. L., Antonenko Y. N., Lyakhovich A., Osterman I. A., Bogdanov A. A., Sumbatyan N. V. Triphenylphosphonium analogs of chloramphenicol as dual-acting antimicrobial and antiproliferating agents. *Antibiotics (Basel).* 2021; 10 (5): 489. doi: 10.3390/antibiotics10050489.
64. Bonuccelli G., Brooks D. R., Shepherd S., Sotgia F., Lisanti M. P. Antibiotics that target mitochondria extend lifespan in *C. elegans*. *Aging (Albany NY).* 2023; 15 (21): 11764–11781. doi: 10.18632/aging.205229.
65. Owusu-Ansah E., Song W., Perrimon N. Muscle mitohormesis promotes longevity via systemic repression of insulin signaling. *Cell.* 2013; 155 (3): 699–712. doi: 10.1016/j.cell.2013.09.021.

66. Durieux J., Wolff S., Dillin A. The cell-non-autonomous nature of electron transport chain-mediated longevity. *Cell*. 2011; 144 (1): 79–91. doi: 10.1016/j.cell.2010.12.016.
67. Mouchiroud L., Houtkooper R. H., Moullan N., Katsyuba E., Ryu D., Cantó C., Mottis A., Jo Y. S., Viswanathan M., Schoonjans K., Guarente L., Auwerx J. The NAD (+)/sirtuin pathway modulates longevity through activation of mitochondrial UPR and FOXO signaling. *Cell*. 2013; 154 (2): 430–441. doi: 10.1016/j.cell.2013.06.016.
68. Bennett C. E., Vander Wende H., Simko M., Klum S., Barfield S., Choi H., Pineda V. V., Kaerberlein M. Activation of the mitochondrial unfolded protein response does not predict longevity in *Caenorhabditis elegans*. *Nat Commun*. 2014; 5: 3483. doi: 10.1038/ncomms4483.
69. Ashleigh T., Swerdlow R. H., Beal M. F. The role of mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease pathogenesis. *Alzheimers Dement*. 2023; 19 (1): 333–342. doi: 10.1002/alz.12683.
70. Lindström V., Gustafsson G., Sanders L. H., Howlett E. H., Sigvardson J., Kasrayan A., Ingelsson M., Bergström J., Erlandsson A. Extensive uptake of α -synuclein oligomers in astrocytes results in sustained intracellular deposits and mitochondrial damage. *Mol Cell Neurosci*. 2017; 82: 143–156. doi: 10.1016/j.mcn.2017.04.009.
71. Шварцман А. Л., Сенкевич К. А., Емельянов А. К., Пчелина С. Н. Прионные свойства альфа-синуклеина. Молекулярная биология. 2019; 53 (3): 380–387. doi: https://doi.org/10.1134/S0026898419030182. [Schwarzman A. L., Senkevich K. A., Emelyanov A. K., Pchelina S. N. Prion properties of alpha-synuclein. *Molecular Biology*. 2019; 53 (3): 380–387. doi: https://doi.org/10.1134/S0026898419030182. (in Russian)]
72. Di Maio R., Barrett P. J., Hoffman E. K., Barrett C. W., Zharikov A., Borah A., Hu X., McCoy J., Chu C. T., Burton E. A., Hastings T. G., Greenamyre J. T. α -Synuclein binds to TOM20 and inhibits mitochondrial protein import in Parkinson's disease. *Sci Transl Med*. 2016; 8 (342): 342ra78. doi: 10.1126/scitranslmed.aaf3634.
73. Gottschalk W. K., Lutz M. W., He Y. T., Saunders A. M., Burns D. K., Roses A. D., Chiba-Falek O. The broad impact of TOM40 on neurodegenerative diseases in aging. *J Parkinsons Dis Alzheimers Dis*. 2014; 1 (1): 12. doi: 10.13188/2376-922X.1000003.
74. Pramstaller P. P., Schlossmacher M. G., Jacques T. S., Scaravilli F., Eskelson C., Pepivani L., Hedrich K., Adel S., Gonzales-McNeal M., Hilker R., Kramer P. L., Klein C. Lewy body Parkinson's disease in a large pedigree with 77 Parkin mutation carriers. *Ann Neurol*. 2005; 58 (3): 411–422. doi: 10.1002/ana.20587.
75. Paldino E., Balducci C., La Vitola P., Artioli L., D'Angelo V., Giampà C., Artuso V., Forloni G., Fusco F. R. Neuroprotective effects of doxycycline in the R6/2 mouse model of huntington's disease. *Mol Neurobiol*. 2020; 57 (4): 1889–1903. doi: 10.1007/s12035-019-01847-8.
76. Yano H., Baranov S. V., Baranova O. V., Kim J., Pan Y., Yablonska S., Carlisle D. L., Ferrante R. J., Kim A. H., Friedlander R. M. Inhibition of mitochondrial protein import by mutant huntingtin. *Nat Neurosci*. 2014; 17 (6): 822–831. doi: 10.1038/nn.3721.
77. Lautenschläger J., Wagner-Valladolid S., Stephens A. D., Fernández-Villegas A., Hockings C., Mishra A., Manton J. D., Fantham M. J., Lu M., Rees E. J., Kaminski C. F., Kaminski Schierle G. S. Intramitochondrial proteostasis is directly coupled to α -synuclein and amyloid β 1-42 pathologies. *J Biol Chem*. 2020; 295 (30): 10138–10152. doi: 10.1074/jbc.RA119.011650.
78. Ji T., Zhang X., Xin Z., Xu B., Jin Z., Wu J., Hu W., Yang Y. Does perturbation in the mitochondrial protein folding pave the way for neurodegeneration diseases? *Ageing Res Rev*. 2020; 57: 100997. doi: 10.1016/j.arr.2019.100997.
79. Beck J. S., Mufson E. J., Counts S. E. Evidence for Mitochondrial UPR Gene Activation in Familial and Sporadic Alzheimer's Disease. *Curr Alzheimer Res*. 2016; 13 (6): 610–614. doi: 10.2174/1567205013666151221145445.
80. Cooper J. E., Machiela E., Dues D. J., Spielbauer K. K., Senchuk M. M., Van Raamsdonk J. M. Activation of the mitochondrial unfolded protein response promotes longevity and dopamine neuron survival in Parkinson's disease models. *Sci Rep*. 2017; 7 (1): 16441. doi: 10.1038/s41598-017-16637-2.
81. Shen Y., Ding M., Xie Z., Liu X., Yang H., Jin S., Xu S., Zhu Z., Wang Y., Wang D., Xu L., Zhou X., Wang P., Bi J. Activation of Mitochondrial Unfolded Protein Response in SHSY5Y Expressing APP Cells and APP/PS1 Mice. *Front Cell Neurosci*. 2020; 13: 568. doi: 10.3389/fncel.2019.00568.
82. Counts S. E., Kelly S. C., Weinberg R. B., Beck J. S. Mitochondrial unfolded protein response (mtupr) dysfunction during the progression of alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement*. 2017; 13 (7): P674–P675. doi: 10.1016/j.jalz.2017.06.830.
83. Martinez B. A., Petersen D. A., Gaeta A. L., Stanley S. P., Caldwell G. A., Caldwell K. A. Dysregulation of the mitochondrial unfolded protein response induces non-apoptotic dopaminergic neurodegeneration in *C. elegans* models of Parkinson's disease. *J Neurosci*. 2017; 37 (46): 11085–11100. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1294-17.2017.
84. Stoilova T., Colombo L., Forloni G., Tagliavini F., Salmona M. A new face for old antibiotics: tetracyclines in treatment of amyloidoses. *J Med Chem*. 2013; 56 (15): 5987–6006. doi: 10.1021/jm400161p.
85. Dominguez-Mejide A., Parrales V., Vasili E., González-Lizárraga F., König A., Lázaro D. E., Lannuzel A., Haik S., Del Bel E., Chehin R., Raisman-Vozari R., Michel P. P., Bizat N., Outeiro T. F. Doxycycline inhibits α -synuclein-associated pathologies *in vitro* and *in vivo*. *Neurobiol Dis*. 2021; 151: 105256. doi: 10.1016/j.nbd.2021.105256.
86. González-Lizárraga F., Socías S. B., Ávila C. L., Torres-Bugeau C. M., Barbosa L. R., Binolfi A., Sepúlveda-Díaz J. E., Del-Bel E., Fernandez C. O., Papy-Garcia D., Itri R., Raisman-Vozari R., Chehin R. N. Repurposing doxycycline for synucleinopathies: remodelling of α -synuclein oligomers towards non-toxic parallel beta-sheet structured species. *Sci Rep*. 2017; 7: 41755. doi: 10.1038/srep41755.
87. Tagliavini F., Forloni G., Colombo L., Rossi G., Girola L., Canciani B., Angeretti N., Giampaolo L., Peressini E., Awan T., De Gioia L., Ragg E., Bugiani O., Salmona M. Tetracycline affects abnormal properties of synthetic PrP peptides and PrP (Sc) *in vitro*. *J Mol Biol*. 2000; 300 (5): 1309–1322. doi: 10.1006/jmbi.2000.3840.
88. González-Lizárraga F., Ploper D., Ávila C. L., Socías S. B., Dos-Santos-Pereira M., Machin B., Del-Bel E., Michel P. P., Pietrasanta L. I., Raisman-Vozari R., Chehin R. CMT-3 targets different α -synuclein aggregates mitigating their toxic and inflammogenic effects. *Sci Rep*. 2020; 10 (1): 20258. doi: 10.1038/s41598-020-76927-0.
89. Sun Y., Liu W. Z., Liu T., Feng X., Yang N., Zhou H. F. Signaling pathway of MAPK/ERK in cell proliferation, differentiation, migration, senescence and apoptosis. *J Recept Signal Transduct Res*. 2015; 35 (6): 600–604. doi: 10.3109/10799893.2015.1030412.
90. Tikka T., Fiebich B. L., Goldsteins G., Keinänen R., Koistinaho J. Minocycline, a tetracycline derivative, is neuroprotective against excitotoxicity by inhibiting activation and proliferation of microglia. *J Neurosci*. 2001; 21 (8): 2580–2588. doi: 10.1523/JNEUROSCI.21-08-02580.2001.
91. de Los Reyes Corrales T., Losada-Pérez M., Casas-Tintó S. JNK pathway in CNS pathologies. *Int J Mol Sci*. 2021; 22 (8): 3883. doi: 10.3390/ijms22083883.
92. Shieh J. M., Huang T. F., Hung C. E., Chou K. H., Tsai Y. J., Wu W. B. Activation of c-Jun N-terminal kinase is essential for mitochondrial membrane potential change and apoptosis induced by doxycycline in melanoma cells. *Br J Pharmacol*. 2010; 160 (5): 1171–1184. doi: 10.1111/j.1476-5381.2010.00746.x.
93. Albensi B. C. What is nuclear factor kappa B (NF- κ B) doing in and to the mitochondrion? *Front Cell Dev Biol*. 2019; 7: 154. doi: 10.3389/fcell.2019.00154.
94. Alexander-Savino C. V., Hayden M. S., Richardson C., Zhao J., Poligone B. Doxycycline is an NF- κ B inhibitor that induces apoptotic cell death in malignant T-cells. *Oncotarget*. 2016; 7 (46): 75954–75967. doi: 10.18632/oncotarget.12488.
95. Fan T. J., Han L. H., Cong R. S., Liang J. Caspase family proteases and apoptosis. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. 2005; 37 (11): 719–727. doi: 10.1111/j.1745-7270.2005.00108.x.
96. Scarabelli T. M., Stephanou A., Pasini E., Gitti G., Townsend P., Lawrence K., Chen-Scarabelli C., Saravolatz L., Latchman D., Knight R., Gardin J. Minocycline inhibits caspase activation and reactivation, increases the ratio of XIAP to smac/DIABLO, and reduces the mitochondrial leakage of cytochrome C and smac/DIABLO. *J Am Coll Cardiol*. 2004; 43 (5): 865–874. doi: 10.1016/j.jacc.2003.09.050.
97. Wu Z., Zou X., Zhu W., Mao Y., Chen L., Zhao F. Minocycline is effective in intracerebral hemorrhage by inhibition of apoptosis and autophagy. *J Neurol Sci*. 2016; 371: 88–95. doi: 10.1016/j.jns.2016.10.025.
98. Chen M., Ona V. O., Li M., Ferrante R. J., Fink K. B., Zhu S., Bian J., Guo L., Farrell L. A., Hersch S. M., Hobbs W., Vonsattel J. P., Cha J. H., Friedlander R. M. Minocycline inhibits caspase-1 and caspase-3 expression and delays mortality in a transgenic mouse model of Huntington disease. *Nat Med*. 2000; 6 (7): 797–801. doi: 10.1038/77528.
99. Zhu S., Stavrovskaya I. G., Drozda M., Kim B. Y., Ona V., Li M., Sarang S., Liu A. S., Hartley D. M., Wu D. C., Gullans S., Ferrante R. J., Przedborski S., Kristal B. S., Friedlander R. M. Minocycline inhibits cytochrome c release and delays progression of amyotrophic lateral sclerosis in mice. *Nature*. 2002; 417 (6884): 747–8. doi: 10.1038/417074a.
100. Wang X., Zhu S., Drozda M., Zhang W., Stavrovskaya I. G., Cattaneo E., Ferrante R. J., Kristal B. S., Friedlander R. M. Minocycline inhibits caspase-independent and -dependent mitochondrial cell death pathways in models of Huntington's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003; 100 (18): 10483–10487. doi: 10.1073/pnas.1832501100.
101. Mitroshina E. V., Vedunova M. V. The role of oxygen homeostasis and the HIF-1 factor in the development of neurodegeneration. *Int J Mol Sci*. 2024; 25 (9): 4581. doi: 10.3390/ijms25094581.
102. Ataie-Kachoe P., Pourgholami M. H., Bahrami-B F., Badar S., Morris D. L. Minocycline attenuates hypoxia-inducible factor-1 α expression correlated with modulation of p53 and AKT/mTOR/p70S6K/4E-BP1 pathway in ovarian cancer: *in vitro* and *in vivo* studies. *Am J Cancer Res*. 2015; 5 (2): 575–88.
103. Cinelli M. A., Do H. T., Miley G. P., Silverman R. B. Inducible nitric oxide synthase: regulation, structure, and inhibition. *Med Res Rev*. 2020; 40 (1): 158–189. doi: 10.1002/med.21599.

104. McLarnon J. G. Glial-derived neuroinflammation induced with amyloid-beta-peptide plus fibrinogen injection in rat hippocampus. *Curr Alzheimer Res.* 2023; 20 (7): 515–522. doi: 10.2174/1567205020666230912113501.
105. Milano S., Arcoleo E., D'Agostino P., Cillari E. Intraperitoneal injection of tetracyclines protects mice from lethal endotoxemia downregulating inducible nitric oxide synthase in various organs and cytokine and nitrate secretion in blood. *Antimicrob Agents Chemother.* 1997; 41 (1): 117–121. doi: 10.1128/AAC.41.1.117.
106. Huang T. Y., Chu H. C., Lin Y. L., Lin C. K., Hsieh T. Y., Chang W. K., Chao Y. C., Liao C. L. Minocycline attenuates experimental colitis in mice by blocking expression of inducible nitric oxide synthase and matrix metalloproteinases. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2009; 237 (1): 69–82. doi: 10.1016/j.taap.2009.02.026.
107. Czabotar P. E., Garcia-Saez A. J. Mechanisms of BCL-2 family proteins in mitochondrial apoptosis. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2023; 24 (10): 732–748. doi: 10.1038/s41580-023-00629-4.
108. Wang J., Wei Q., Wang C. Y., Hill W. D., Hess D. C., Dong Z. Minocycline up-regulates Bcl-2 and protects against cell death in mitochondria. *J Biol Chem.* 2004; 279 (19): 19948–19954. doi: 10.1074/jbc.M313629200.
109. Yong V. W., Power C., Forsyth P., Edwards D. R. Metalloproteinases in biology and pathology of the nervous system. *Nat Rev Neurosci.* 2001; 2 (7): 502–511. doi: 10.1038/35081571.
110. Lau A. C., Duong T. T., Ito S., Wilson G. J., Yeung R. S. Inhibition of matrix metalloproteinase-9 activity improves coronary outcome in an animal model of Kawasaki disease. *Clin Exp Immunol.* 2009; 157 (2): 300–309. doi: 10.1111/j.1365-2249.2009.03949.x.
111. Wu Y., Chen Y., Wu Q., Jia L., Du X. Minocycline inhibits PARP 1 expression and decreases apoptosis in diabetic retinopathy. *Mol Med Rep.* 2015; 12 (4): 4887–4894. doi: 10.3892/mmr.2015.4064.
112. Kempuraj D., Thangavel R., Natteru P. A., Selvakumar G. P., Saeed D., Zahoor H., Zaheer S., Iyer S. S., Zaheer A. Neuroinflammation induces neurodegeneration. *J Neurol Neurosurg Spine.* 2016; 1 (1): 1003.
113. Solomon A., Rosenblatt M., Li D. Q., Liu Z., Monroy D., Ji Z., Lokeshwar B. L., Pflugfelder S. C. Doxycycline inhibition of interleukin-1 in the corneal epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2000; 41 (9): 2544–2557.
114. Amin R., Quispe C., Docea A. O., Ydyrys A., Kulbayeva M., Durna Daştan S., Calina D., Sharifi-Rad J. The role of Tumour Necrosis Factor in neuroinflammation associated with Parkinson's disease and targeted therapies. *Neurochem Int.* 2022; 158: 105376. doi: 10.1016/j.neuint.2022.105376.
115. Teismann P., Tieu K., Choi D. K., Wu D. C., Naini A., Hunot S., Vila M., Jackson-Lewis V., Przedborski S. Cyclooxygenase-2 is instrumental in Parkinson's disease neurodegeneration. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003; 100 (9): 5473–5478. doi: 10.1073/pnas.0837397100.
116. Li C. H., Cheng Y. W., Liao P. L., Yang Y. T., Kang J. J. Chloramphenicol causes mitochondrial stress, decreases ATP biosynthesis, induces matrix metalloproteinase-13 expression, and solid-tumor cell invasion. *Toxicol Sci* 2010; 116: 140–150. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfq085>.
117. Loeb M. B., Molloy D. W., Smieja M., Standish T., Goldsmith C. H., Mahony J., Smith S., Borrie M., Decoteau E., Davidson W., McDougall A., Gnarp J., O'Donnell M., Chernesky M. A randomized, controlled trial of doxycycline and rifampin for patients with Alzheimer's disease. *J Am Geriatr Soc.* 2004; 52 (3): 381–387. doi: 10.1111/j.1532-5415.2004.52109.x.
118. Molloy D. W., Standish T. I., Zhou Q., Guyatt G.; DARAD Study Group. A multicenter, blinded, randomized, factorial controlled trial of doxycycline and rifampin for treatment of Alzheimer's disease: the DARAD trial. *Int J Geriatr Psychiatry.* 2013; 28 (5): 463–470. doi: 10.1002/gps.3846.
119. Sheng S., Zhao S., Zhang F. Insights into the roles of bacterial infection and antibiotics in Parkinson's disease. *Front Cell Infect Microbiol.* 2022; 12: 939085. doi: 10.3389/fcimb.2022.939085.
120. Gao L., Shuai Y., Wen L., Zhang H., Zhang Y., Zhang X. Benefit and safety of antibiotics for Alzheimer's disease: Protocol for a systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore).* 2022; 101 (47): e31637. doi: 10.1097/MD.00000000000031637.
121. Perry E. A., Bennett C. F., Luo C., Balsa E., Jedrychowski M., O'Malley K. E., Latorre-Muro P., Ladley R. P., Reda K., Wright P. M., Gygi S. P., Myers A. G., Puigserver P. Tetracyclines promote survival and fitness in mitochondrial disease models. *Nat Metab.* 2021; 3 (1): 33–42. doi: 10.1038/s42255-020-00334-y.
122. Мазунин И. О., Володько Н. В. Митохондрии: жизнь в клетке и ее последствия. *Природа.* 2010; 10: 3–14. [Mazunin I. O., Volod'ko N. V. Mitochondria: life within a cell and its consequence. *Priroda.* 2010; 10: 3–14. (in Russian)]

Поступила / Received 08.04.2025

Принята в печать / Accepted 28.04.2025

Информация об авторах

Ольга Валерьевна Кисиль — к. х. н., ученый секретарь ФГБНУ «Научно-исследовательского института по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе», Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0003-4799-1318

Мария Эмильевна Зверева — д. х. н., профессор кафедры химии природных соединений химического факультета МГУ им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0002-7432-1574

Евгения Николаевна Олсуфьева — д. х. н., профессор, главный научный сотрудник ФГБНУ «Научно-исследовательского института по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе», Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0002-2598-913X

About the authors

Olga V. Kisil — Ph. D. in Chemistry, Scientific Secretary, Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0003-4799-1318

Maria I. Zvereva — D. Sc. in Chemistry, Professor, Department of Chemistry of Natural Compounds, Faculty of Chemistry, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0002-7432-1574

Evgeniya N. Olsufyeva — D. Sc. in Chemistry, Professor, Chief Researcher, Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0002-2598-913X

К вопросу об антибактериальной терапии болезни Лайма

*Б. С. БЕЛОВ, Л. П. АНАНЬЕВА

ФБГНУ НИИ ревматологии им. В. А. Насоновой, Москва, Россия

Резюме

Болезнь Лайма (БЛ) или клещевой боррелиоз ежегодно поражает тысячи людей в разных регионах мира, в первую очередь, США и Европы. При этом всё большую актуальность приобретают вопросы рациональной антимикробной терапии БЛ, направленной на достижение необходимого эффекта при минимизации токсичности и нежелательных явлений. В настоящем обзоре проанализированы данные литературы в отношении возможности проведения коротких курсов антибактериальной терапии БЛ. Актуальность рассматриваемой проблемы обуславливает необходимость проведения дальнейших исследований, направленных на оценку продолжительности лечения, с достаточными размерами выборки и чётко определёнными результатами терапии.

Ключевые слова: болезнь Лайма; мигрирующая эритема; нейроборрелиоз; Лайм-артрит; антибактериальная терапия

Для цитирования: Белов Б. С., Ананьева Л. П. К вопросу об антибактериальной терапии болезни Лайма. *Антибиотики и химиотер.* 2025; 70 (7–8): 92–100. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2025-70-7-8-92-100>. EDN: XIGQOY.

On The Issue of Antibiotic Therapy for Lyme Disease

*BORIS S. BELOV, LIDIA P. ANANYEVA

V. A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, Moscow, Russian Federation

Abstract

Lyme disease (LD), or tick-borne borreliosis, annually affects thousands of people in different parts of the world, primarily the United States and Europe. At the same time, the issues of rational antimicrobial therapy of LD, which is aimed at achieving the desired effect while minimizing toxicity and adverse events, are becoming increasingly relevant. This review analyzes the literature data on the possibility of conducting short courses of antibiotic therapy for LD. The urgency of the problem under consideration necessitates further studies aimed at assessing treatment duration, with sufficient sample sizes and clearly defined treatment outcomes.

Keywords: Lyme disease; erythema migrans; neuroborreliosis; Lyme arthritis; antibacterial therapy

For citation: Belov B. S., Ananyeva L. P. On the issue of antibiotic therapy for Lyme disease. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy.* 2025; 70 (7–8): 92–100. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2025-70-7-8-92-100>. EDN: XIGQOY. (in Russian)

Введение

Болезнь Лайма (БЛ) или клещевой боррелиоз (A69.2 по МКБ-10) — инфекционное трансмиссивное природно-очаговое заболевание, вызываемое спирохетами и передающееся иксодовыми клещами, имеющее склонность к хроническому и латентному течению с преимущественным поражением кожи, нервной системы и опорно-двигательного аппарата. БЛ вызывается грамотрицательными спирохетами рода *Borrelia* трёх видов: *Borrelia burgdorferi* (доминирует в США), *Borrelia garinii* и *Borrelia afzelii* (преобладают в Европе и России). Заболевание достаточно распространено в зоне умеренного климата Северного полушария. Большинство случаев БЛ в США регистрируется в регионах Средней Атлантики, Северо-Востока и верхнего Среднего Запада (Висконсин, Миннесота). БЛ является наиболее распространённым

клещевым заболеванием в Европе. В 25 европейских странах с системами эпиднадзора за БЛ ежегодно регистрируется ~129 тыс. случаев болезни. Страны с самой высокой зарегистрированной заболеваемостью (>100 случаев/100 000 населения в год) включают Эстонию, Францию, Литву, Польшу, Словению и Швейцарию; однако заболеваемость может значительно варьироваться в пределах одной страны [1]. По данным Росздравнадзора, в 2022 г. в Российской Федерации зарегистрировано 7 264 случая БЛ, по сравнению с 2021 г. произошёл рост в 1,9 раза. При этом рост заболеваемости отмечен во всех федеральных округах России [2]. Следовательно, БЛ по-прежнему является важной проблемой общественного здравоохранения, поскольку её заболеваемость повсеместно продолжает расти, а зоны риска расширяются [3].

*Адрес для корреспонденции:
E-mail: belovbor@yandex.ru



*Correspondence to:
E-mail: belovbor@yandex.ru



EDN: XIGQOY

Следует отметить, что в современных условиях рациональное применение антибиотиков в нужной дозе, с необходимой продолжительностью эффекта и с максимально узким спектром действия стало важным фактором для успешного лечения бактериальных инфекций. Это в основном связано с возникновением устойчивости к антибиотикам, но также и с улучшением соблюдения режима приёма лекарств, снижением частоты нежелательных явлений (НЯ) и уменьшением расходов на здравоохранение. Основным принципом лечения заключается в достижении желаемого эффекта при минимизации токсичности и НЯ. Поэтому при многих бактериальных инфекциях теперь рекомендуется назначать более короткие курсы антибиотиков.

В связи с изложенным всё большую актуальность приобретают вопросы рациональной антимикробной терапии БЛ. Большинство европейских и американских медицинских ассоциаций недавно обновили свои рекомендации по лечению БЛ, однако сроки антибактериальной терапии в указанных документах представляются весьма разнородными и варьируют от 5 до 30 дней в зависимости от стадии БЛ, клинических проявлений и используемых препаратов. Так, при мигрирующей эритеме (МЭ) — ранней локализованной стадии БЛ — антибиотики назначают в течение 5–21 дня, а при распространённых формах (например, нейроборрелиоз — НБ или Лайм-артрит — ЛА) — 14–30 дней, в зависимости от рекомендаций, которые могут отличаться в разных странах [4]. Сохранение симптомов может также иметь место после завершения рекомендованной антибиотикотерапии; данный феномен получил название «синдрома болезни Лайма после лечения» — сБЛПЛ (*post-treatment Lyme disease syndrome*) [5]. В последнем случае продолжение антибактериальной терапии не рекомендуется, поскольку убедительные научные доказательства сохранения активной боррелиозной инфекции в этой ситуации у людей отсутствуют, в то время как назначение антибиотиков подвергает пациентов риску развития потенциальных НЯ. Действительно, удлинённая продолжительность лечения (до 3 мес.) была предпринята в рандомизированных клинических исследованиях (РКИ) при сохранении симптомов после первого курса антибиотиков, однако какого-либо доказанного длительного терапевтического эффекта не отмечалось [6, 7].

В исследованиях *in vitro* было показано, что продолжительность инкубации с антибиотиками <120 ч была достаточной для достижения значимого ингибирования боррелий [8–11]. По данным недавно опубликованного обзора, результаты современных исследований на животных не представляют достаточных доказательств персистенции жизнеспособных спирохет после лечения антибиотиками в среднем в течение 5 дней [12].

Таким образом, представляло несомненный интерес проанализировать научные данные в отношении возможности проведения коротких курсов антибактериальной терапии БЛ у людей. С этой целью был проведён поиск литературы в библиографической системе MEDLINE, в результате которого в настоящий обзор были отобраны данные рандомизированных и проспективных сравнительных клинических исследований (табл. 1), а также метаанализов.

Как свидетельствуют данные метаанализа, включавшего 5 РКИ из представленных в табл. 1 [17–19, 28, 29], при оценке результатов лечения в целом через 12 мес. короткие курсы антибактериальной терапии для любых клинических проявлений БЛ не уступали более длительным срокам лечения по частоте неудач (отношение шансов — ОШ 1,50, 95% доверительный интервал — ДИ 0,43–5,22) и наличия остаточных симптомов (ОШ 0,95, 95% ДИ 0,66–1,37). При краткосрочной антибактериальной терапии наблюдалось меньше НЯ, однако различия были статистически незначимыми (ОШ 0,78, 95% ДИ 0,59–1,03). В то же время авторы подчёркивают, что, несмотря на хорошее/удовлетворительное общее качество включённых РКИ, такие факторы как существенная (>10%) доля пациентов, выбывших из последующего наблюдения [17], отсутствие ослепления в двух исследованиях [18, 19] и небольшое число пациентов в изучаемых группах, особенно при ЛА [28], привели к отсутствию мощности метаанализа для получения надёжных выводов [33].

Мигрирующая эритема

Метаанализ, включавший 640 взрослых пациентов, продемонстрировал, что удлинение сроков лечения доксициклином с 7–10 дней до 14–20 дней или добавление одной дозы цефтриаксона в начале 10-дневного курса доксициклина не повышали терапевтическую эффективность у пациентов с МЭ ни в США, ни в Европе [17–19]. Отсутствовали статистические различия по частоте неудач через 3 мес. (ОШ 1,83, 95% ДИ 0,48–6,92) и 12 мес. (ОШ 4,33, 95% ДИ 0,22–87,18), остаточных симптомов через 3 мес. (ОШ 1,05, 95% ДИ 0,69–1,61) и 12 мес. (ОШ 0,91, 95% ДИ 0,60–1,40), а также НЯ (ОШ 0,95, 95% ДИ 0,68–1,31). Однако упомянутые значения ОШ следует интерпретировать с осторожностью, поскольку не было достаточной статистической мощности, чтобы сделать надёжные выводы о не меньшей эффективности. В то же время частота случаев неэффективности лечения как при коротких, так и при более длительных курсах антибиотиков была очень низкой, что подтверждает вывод о достаточности краткосрочной терапии для элиминации боррелий у пациентов с МЭ. Показана эффектив-

Таблица 1. Оценка эффективности и безопасности антибактериальной терапии БЛ в ходе сравнительных исследований
Table 1. Evaluation of the efficacy and safety of antibacterial therapy for LD in comparative studies

Автор [библио-графический источник]	Число больных	Схемы лечения	Длительность, дни	Сроки наблюдения, дни	Результаты
Мигрирующая эритема (взрослые)					
E. M. Massarotti et al. [13]	57	АЗМ 500 мг — 1 день, затем 250 мг/сут ($n=16$) АМОКС+ПРОБ 500 мг + 500 мг 3 р/сут ($n=19$) ДОКС 100 мг 2 р/сут ($n=22$)	5	18, 30, 180	Полное выздоровление через 1 мес.: 18/19 — АМОКС + ПРОБ, 15/16 — АЗМ, 21/22 — ДОКС. Лекарственная сыпь: 6/19 (32%) — АМОКС + ПРОБ. Дизестезия на момент начала исследования — единственный фактор риска, связанный с неудачей лечения ($p<0,001$).
F. Strle et al. [14]	107	АЗМ 500 мг — 1 день, затем 250 мг/сут ($n=55$) ДОКС 100 мг 2 р/сут ($n=52$)	5	7, 14, 60, 180, 365	Средняя длительность кожных поражений от начала лечения: $7,5\pm5,9$ дней — АЗМ и $11,4\pm7,8$ дней — ДОКС ($p<0,05$). Положительный посев через 3 мес. после лечения: 4/13 — ДОКС, 1/15 — АЗМ. В течение 12 мес. «большие» признаки БЛ: 3 — ДОКС, 0 — АЗМ, «малые» признаки БЛ: 15 — ДОКС, 10 — АЗМ. Пациенты с «большими» признаками получили цефтриаксон в дозе 14 дней, все вылечены через 1 год наблюдения.
B. J. Luft et al. [15]	217	АМОКС 500 мг 3 р/сут ($n=122$) АЗМ 500 мг/сут ($n=124$)	20	8, 20, 30, 90, 180	АМОКСИ — более частое излечение к 20-му дню ($p=0,024$), меньшая частота рецидивов ($p=0,005$).
B. Barsic et al. [16]	88	АЗМ 500 мг 2 р/сут — 1 день, затем 500 мг/сут ($n=48$) ДОКС 100 мг 2 р/сут ($n=40$)	5	14, 60, 180, 365	Анализ клинической эффективности в зависимости от цели лечения (intention-to-treat): различий нет. Клиническое излечение: 46 (95,8%) — АЗМ, 33 (82,5%) — ДОКС ($p=0,07$). Сохранение незначительных симптомов после лечения: 2/47 — АЗМ, 3/35 — ДОКС ($p=0,646$). Развитие значимых симптомов после лечения: 2 — ДОКС. Различий в переносимости не было.
G. P. Wormser et al. [17]	180	ДОКС 100 мг 2 р/сут ($n=61$) ЦЕФ 2 г/сут однократно, затем ДОКС 100 мг 2 р/сут ($n=60$) ДОКС 100 мг 2 р/сут ($n=59$)	10	10, 20, 90, 180, 365, затем 24 мес., 30 мес.	Частота полного ответа через 30 мес.: 83,9% — ДОКС — 20, 90,3% — ДОКС — 10, 86,5% — ЦЕФ + ДОКС ($p>0,2$). Неудачи в лечении: 1 — ДОКС — 10. Диарея: 35% — ЦЕФ + ДОКС ($p<0,001$)
D. Stupica et al. [18]	225	ДОКС 100 мг 2 р/сут	10 $n=108$ 15 $n=117$	14, 60, 180, 365	Полный ответ на лечение через 2 мес.: 86,7% в 15-дневной группе и 84,6% в 10-дневной группе. Ни в одной из групп не было осложнений. Фототоксичность — 3,1% — ДОКС — 15.
D. Stupica et al. [19]	300	ДОКС 100 мг 2 р/сут	7 ($n=150$) 14 $n=150$	14, 60, 180, 365	Отсутствие эффекта: 5/147 (3%) — ДОКС — 7, 3/147 (2%) — ДОКС — 14 ($p=0,64$).
Мигрирующая эритема (дети)					
M. Arnez et al. [20]	90	ЦРКС-А 30 мг/кг/сут ($n=46$) ПЕН V 100000 МЕ/кг/сут ($n=44$)	14	7, 14, 30, 90, 180, 365	Продолжительность МЭ: $7,1\pm7,5$ дней — ЦРКС-А, $10,6\pm19,3$ дней — ПЕН V; частота незначительных проявлений БЛ: 8,8 и 9,1% соответственно. Серьезных проявлений зарегистрировано не было. Через 12 мес. — отсутствие симптомов во всех случаях. НЯ: 26,1 и 6,8% соответственно ($p=0,0301$).
M. Arnez et al. [21]	84	АЗМ 20 мг/кг/сут — 1 день, затем 10 мг/кг/сут ($n=42$) ПЕН V 100000 МЕ/кг/сут ($n=42$)	5	7, 14, 30, 90, 180, 365	Длительность МЭ: 3 и 4 дня соответственно; $p=0,247$. «Малые» признаки БЛ: 17,5 и 24,4% соответственно, $p=0,625$. «Большие» признаки БЛ: по 1 пациенту в каждой группе. НЯ: 5,3 и 6% соответственно. РЯГ в начале лечения: 7/42 (6%) в каждой группе.

Продолжение табл. 1.
Continuation of Table 1.

Автор [библио-графический источник]	Число больных	Схемы лечения	Длительность, дни	Сроки наблюдения, дни	Результаты
T. Nizic et al. [22]	135	КЛАР 15 мг/кг/сут в 2 приёма (n=66) АМОКС 50 мг/кг/сут в 3 приёма (n=69)	14	7, 14, 30, 90, 180, 365	Средняя длительность МЭ от начала лечения — 4 дня в каждой группе. «Малые» признаки БЛ: 11/50 (22,0%) — КЛАР, 16/54 (29,6%) — АМОКС. «Большие» признаки БЛ: 2 (3,7%) — АМОКСИ, в обоих случаях назначен ЦЕФ на 14 дней. НЯ: 24,2% — КЛАР, 28,1% — АМОКС (p=0,761). РЯГ — 10,6 и 10,3% соответственно; p=0,823. Через 1 год излечение во всех случаях.
M. Arnez et al. [23]	168	АЗМ 20 мг/кг/сут — 1 день, затем 10 мг/кг/сут (n=84) АМОКС 50 мг/кг/сут в 3 приёма (n=84)	5 14	7, 14, 30, 90, 180, 365	Не было существенных различий между группами, включая продолжительность МЭ (медиана 3 дня; p=0,8984), появление «малых» (12 и 21% соответственно; p=0,2146) и «больших» признаков БЛ (2,6% в каждой — все переведены на ЦЕФ в течение 14 дней). НЯ: 21% — АЗМ, 16% — АМОКС. РЯГ: 7 и 15% соответственно (p=0,1438). Через 1 год: 152 — излечение, 16 — прекратили наблюдение.
Нейроборрелиоз (взрослые и дети)					
H. W. Pfister et al. [24]	21	ПЕН G 5 млн МЕ/сут (n=10) ЦТКС 6 г/сут в 2 введения (n=11)	10 10	7,7±2,4 мес.	При наблюдении в течение указанного срока после антибиотикотерапии не выявлено признаков персистирующей инфекции. О НЯ не сообщалось
H. W. Pfister et al. [25]	30	ЦЕФ 2 г/сут (n=14) ЦТКС 6 г/сут в 2 введения (n=16)	10 10	8,1±1,9 мес.	Улучшение: 86 и 88% соответственно. НЯ: 7 и 19% соответственно.
R. R. Müllegger et al. [26]	23	ПЕН G 400000–500000 МЕ/кг/сут (n=11) ЦЕФ 74–93 мг/кг/сут (n=12)	14 14	3,6 и 12 мес.	Состояние всех детей в обеих группах значительно улучшилось, рецидивов не было. Снижение титров антител через 6 мес.: 91% — ПЕН G, 92% — ЦЕФ. НЯ: 0 и 25% соответственно.
M. Karlsson et al. [27]	54	ДОКС 100 мг 2 р/сут (n=31) ПЕН G 12 г/сут (n=23)	14 14	14 дней, 3, 6, 12 мес.	Состояние всех пациентов улучшилось. Ухудшения не было ни у одного пациента. Резидуальные симптомы после лечения: через 2 нед. — 61 и 57% соответственно; через 1 год — 10 и 14% соответственно. НЯ: по 13% в каждой группе.
J. Oksi et al. [28]	145	ЦЕФ 2 г/сут, затем АМОКС 2 г/сут (n=73) ЦЕФ 2 г/сут, затем плацебо 2 р/сут (n=72)	21 100 21 100	1, 3, 6 и 12 мес.	У 59 из 62 пациентов достигнут отличный результат через 12 мес. наблюдения. Различий между группами лечения не выявлено. Отсутствуют доказательства дополнительных преимуществ от продления лечения антибиотиками после начального курса ЦЕФ в течение 21 дня.
A. M. Solheim et al. [29]	173	ДОКС 100 мг 2 р/сут (n=52) ДОКС 100 мг 2 р/сут (n=53)	14 42	2, 5, 6, и 12 мес.	Результаты убедительно свидетельствуют об отсутствии преимуществ лечения ДОКС продолжительностью > 2 нед. у европейцев.
Лайм-артрит					
A. C. Steere et al. [30]	60	Бензатин пенициллин 2,4 млн МЕ/нед. (n=20) Плацебо (n=20) ПЕН G 3,3 МЕ 6 р/сут (n=20)	21 21 10	13, 12, 33 мес.	У 7 из 20 (35%) пациентов, получавших бензатин пенициллин, артрит полностью купирован в течение 4 нед. У 20 (100%) пациентов, получавших плацебо, продолжались приступы артрита. У 11/20 (55%) из группы, получавшей ПЕН G, наблюдалось полное выздоровление.
D. Hassler et al. [31]	73	ПЕН G 10 млн ЕД 2 р/сут (n=34) ЦТКС 3 г 2 р/сут (n=39)	8–10	3, 6, 9, 12, 18 и 24 мес.	Полная ремиссия в течение 3–6 мес. и отсутствие симптомов через 24 мес.: 4/34 и 17/39 соответственно.
R. J. Dattwyler et al. [32]	120	ЦЕФ 2 г/сут (n=80) ЦЕФ 2 г/сут (n=67)	14 28	3–12 мес.	Клиническое излечение через 12 мес.: 76 и 70% соответственно (p>0,05)

Продолжение табл. 1.
Continuation of Table 1.

Автор [библио- графический источник]	Число боль- ных	Схемы лечения	Длитель- ность, дни	Сроки наблюдения, дни	Результаты
J. Oksi. et al. [28]	45	ЦЕФ 2 г/сут, затем АМОКС 2 г/сут ($n=22$) ЦЕФ 2 г/сут, затем плацебо 2 р/сут ($n=23$)	21 100 21 100	1, 3, 6 и 12 мес.	Результаты лечения: 37/45 — отличный/хороший, 2/45 — сомнитель- ный, 6/45 — неудовлетворительный. $p>0,05$ во всех случаях.

Примечание. АЗМ — азитромицин; АМОКС — амоксициллин; ПРОБ — пробенецид; ДОКС — доксициклин; ЦЕФ — цефтриаксон; ЦРКС-А — цефуроксим-аксетил; ПЕН — пенициллин; КЛАР — кларитромицин; ЦТКС — цефотаксим; РЯГ — реакция Яриша-Геркстеймера. ¹ — менингит с параличом лицевого нерва, менингоорадикулит, артрит; ² — раздражительность, усталость, головная боль, артралгии, парестезии.

Note. АЗМ — azithromycin; АЗМ — amoxicillin; ПРОБ — probenecid; ДОКС — doxycycline; ЦЕФ — ceftriaxone; ЦРКС-А — cefuroxime axetil; ПЕН — penicillin; КЛАР — clarithromycin; ЦТКС — cefotaxime; РЯГ — Jarisch-Herxheimer reaction. ¹ — meningitis with facial nerve paralysis, meningoradiculitis, arthritis; ² — irritability, fatigue, headache, arthralgia, paresthesia.

ность азитромицина в течение 5 дней [13, 14, 16] и пенициллина V в течение 10–12 дней [34, 35]. В двух исследованиях продемонстрирована аналогичная эффективность амоксициллина по сравнению с доксициклином в течение как 10 [13], так и 14 дней [36]. У детей 5-дневный курс азитромицина не уступал 14-дневному курсу амоксициллина или пенициллина V [21, 23].

В двух РКИ [37, 38] продемонстрирована схожая эффективность цефтриаксона и доксицикина, назначаемых в течение 14 дней как взрослым, так и детям с многоочаговой МЭ, однако оптимальная продолжительность приёма антибиотиков в указанных работах не изучалась.

Нейроборрелиоз

По данной проблеме шесть исследований, представленных в табл. 1, в основном были сосредоточены на сопоставлении клинических результатов в двух группах пациентов, получавших различные препараты, назначаемые либо перорально (доксициклин, амоксициллин), либо внутривенно (пенициллин G, цефотаксим, цефтриаксон) [24–29]. Лечение в течение 21 дня или менее оказалось столь же эффективным, как и длительная терапия (от 6 нед. до 3 мес.), без сообщений о неудачах в течение 12 мес. и при отсутствии вероятности большего количества остаточных симптомов (ОШ 0,94, 95% ДИ 0,44–2,03) или НЯ (ОШ 0,60, 95% ДИ 0,31–1,15) [33]. В большинстве исследований лечение антибиотиками проводилось в течение 10–14 дней и, по-видимому, было эффективным и безопасным с минимальными НЯ [24–27, 39, 40]. Отсутствуют данные, подтверждающие дополнительные преимущества антибиотикотерапии длительностью более 2 нед. [29] и 3 нед. [28, 41], а также парентерального введения препаратов по сравнению с пероральным приёмом доксициклина [39, 40].

Лайм-артрит

В ходе РКИ, включавшем 45 больных ЛА, были выделены 2 группы, одна из которых получала цефтриаксон в течение 21 дня с последующим переходом на амоксициллин в течение 100 дней, вторая — цефтриаксон по аналогичной схеме с дальнейшим применением плацебо. В группе цефтриаксон+плацебо не отмечено значимого увеличения числа неудач (ОШ 2,02, 95% ДИ 0,37–11,05) или остаточных симптомов (ОШ 2,11, 95% ДИ 0,34–12,86) в течение 12 мес., в то время как НЯ наблюдались значимо меньше (ОШ 0,23, 95% ДИ 0,07–0,72) [28].

А. С. Steere и соавт. [30] сравнили трёхкратное еженедельное применение бензатин пенициллина с плацебо. Через 6 мес. в группе бензатин пенициллина были излечены только 9/16 пациентов, что указывает на необходимость более длительного курса или применения антибиотиков другого класса. Косвенные доказательства продемонстрировали частичную пользу лечения антибиотиками (10–92%) в течение 14 или 21 дня в сравнительных исследованиях, не предполагавших оценку оптимальной продолжительности терапии для ЛА [30–32, 42]. R. J. Dattwyler и соавт. [43] продемонстрировали неэффективность 14-дневного курса цефтриаксона у 5/80 пациентов по сравнению с 28-дневным курсом (0/28), с большим числом выбывших из последующего наблюдения (>50%), что не позволяет сделать определённые выводы.

Основными ограничениями указанных исследований были отсутствие чёткого различия между активным боррелиозным ЛА и постинфекционным артритом, а также небольшое число включённых пациентов.

Другие редкие клинические проявления БЛ

Данные о сравнительных клинических испытаниях с участием пациентов с боррелиозной

Таблица 2. Предлагаемые критерии успеха и неудачи лечения в соответствии с клиническими проявлениями БЛ (при условии, что другие диагнозы учтены и маловероятны при последующем наблюдении) [33]

Table 2. Proposed criteria for the success and failure of the treatment according to clinical manifestations of LD (assuming that other diagnoses are considered and are unlikely during follow-up) [33]

Клиническое проявление БЛ	Успех лечения	Неудача лечения
Мигрирующая эритема	Исчезновение ИЛИ уменьшение очагов МЭ через 2 мес. после лечения ПЛЮС отсутствие объективных признаков диссеминированной инфекции	Стойкая эритема в течение 2 мес. и более после лечения ИЛИ возникновение новых объективных проявлений БЛ в течение 6 мес. после лечения ИЛИ выделение боррелий в культуре при биопсии кожи или ПЦР в течение 2 мес. и более после лечения
Лимфоцитома	Исчезновение ИЛИ уменьшение очага поражения или уменьшение размера лимфоцитомы через 2 мес. после лечения ПЛЮС отсутствие объективных признаков диссеминированной инфекции	Стойкая лимфоцитома в течение 2 мес. и более после лечения ИЛИ возникновение новых объективных проявлений БЛ в течение 6 мес. после лечения ИЛИ выделение боррелий в культуре при биопсии кожи или ПЦР в течение 2 мес. и более после лечения
Хронический атрофический акродерматит	Исчезновение ИЛИ значительное улучшение симптоматики акродерматита через 12 мес. после лечения ПЛЮС отсутствие объективных признаков диссеминированной инфекции	Распространение акродерматита через 12 мес. и более после лечения ¹ ИЛИ возникновение новых объективных проявлений БЛ в течение 6 мес. после лечения ИЛИ выделение боррелий в культуре при биопсии кожи или ПЦР в течение 2 мес. и более после лечения
Нейроборрелиоз	Выраженное уменьшение боли в течение первых 14 дней лечения (минус 4 балла от исходного уровня по визуально-аналоговой шкале боли). Исчезновение ИЛИ значительное улучшение неврологических симптомов в течение 3–6 мес. после лечения ПЛЮС отсутствие дополнительных объективных признаков диссеминированной инфекции	Рецидив или сохраняющиеся неврологические признаки ² ПЛЮС сохраняющийся плеоцитоз через 3–6 мес. после лечения или значительно повышенные уровни хемокина CXCL-13
Лайм-артрит	Исчезновение ИЛИ значительное улучшение артрита (небольшая остаточная припухлость суставов) в течение 3–6 мес. после лечения ПЛЮС отсутствие дополнительных объективных признаков диссеминированной инфекции	Рецидив ИЛИ персистирующий артрит ² (умеренный или выраженный отёк суставов ³) ПЛЮС сохраняющаяся воспалительная суставная жидкость ИЛИ положительный результат ПЦР на <i>Borrelia</i> через 12 мес. после лечения
Лайм-кардит	Исчезновение ИЛИ значительное улучшение сердечных симптомов через 2 мес. после лечения	Прогрессирование сердечных симптомов через 2 мес. после лечения

Примечание. ¹ — При появлении новых объективных проявлений следует учитывать возможность повторного заражения даже в течение 6 мес. ² — Субъективные стойкие симптомы не считаются неудачами. ³ — В том же суставе, что и изначально.

Note. ¹ — If new objective manifestations appear, the possibility of re-infection should be considered even within 6 months.

² — Subjective persistent symptoms are not considered failures. ³ — In the same joint as initially

лимфоцитомой, хроническим атрофическим акродерматитом, Лайм-кардитом и поражением глаз в рамках БЛ в доступной литературе отсутствуют. В рамках описательных несравни-

тельных исследований, показана эффективность 21-дневной антибиотикотерапии — при лимфоцитоме, Лайм-кардите и поражении глаз и 30-дневной — при акродерматите, но с низким

или очень низким уровнем доказательств во всех случаях [44–47].

Направления будущих исследований

На сегодняшний день хорошо известно, что 10-дневный курс доксициклина достаточен для успешного лечения МЭ [33, 48]. Но вопрос краткосрочного применения антибиотиков, по-видимому, окончательно не решён ни для НБ, ни для ЛА. В исследовании «не меньшей эффективности» (non-inferiority) A. M. Solheim и соавт. [29] продемонстрировали эквивалентность 2-недельной и 6-недельной схем применения доксициклина у пациентов с НБ. Для этих пациентов остаётся открытым вопрос в отношении сроков между 14 и 21 днём терапии. Кроме того, примерно у 10% пациентов с ЛА в рамках СБЛПЛ имело место поражение суставов воспалительного характера, аналогичное таковому при другом хроническом артрите с ответом на противовоспалительную терапию. Поэтому необходимы дальнейшие, желательно международные и многоцентровые исследования для оценки наилучшей продолжительности антибиотикотерапии при ЛА и показаний к применению противовоспалительных препаратов [49]. Более того, чёткое определение «неудачи лечения» при каждом клиническом проявлении БЛ должно быть официально утверждено научными сообществами с целью дальнейшего сопоставления результатов, полученных в разных исследованиях.

Поэтому экспертами Европейской группы по изучению клещевых заболеваний (European Study Group for Tick-Borne Diseases, ESGBOR) предложены дефиниции «успеха и неудачи лечения» для каждого проявления БЛ (табл. 2), основанные на сохранении или рецидиве объективных симптомов с учётом того, что антибиотики влияют только на рост бактерий и не способствуют заживлению тканей *per se*. Можно предположить, что сравнительные исследования по продолжительности лечения антибиотиками БЛ покажут отсутствие статистически значимых различий, поскольку неудачи лечения редки. Этот факт следует учитывать при планировании необходимого количества испытуемых для включения в исследования.

Литература/References

1. Burn L., Tran T. M. P., Pilz A., Vyse A., Fletcher M. A., Angulo F. J. et al. Incidence of Lyme borreliosis in Europe from National surveillance systems (2005–2020). *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2023; 23 (4): 156–171. doi: 10.1089/vbz.2022.0071.
2. Рудакова С. А., Теслова О. Е., Муталинова Н. Е., Пенёвская Н. А., Блох А. И., Рудаков Н. В. и др. Обзор эпидемиологической ситуации по иксодовым клещевым боррелиозам в Российской Федерации в 2013–2022 гг. и прогноз на 2023 г. Проблемы особо опасных инфекций. 2023; 2: 75–87. doi: <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2023-2-75-87>. [Rudakova S. A., Teslova O. E., Mutalynova N. E., Pen'evskaya N. A., Blokh A. I., Rudakov N. V. et al. Review of the epidemiological situation

Кроме того, в случае очевидной неудачи лечения следует проводить тщательную дифференциальную диагностику с другими заболеваниями, поскольку они могут быть причиной неудовлетворительного результата после лечения верифицированной БЛ [50–52]. Также следует тщательно оценить последствия лечения и наличие остаточных симптомов, чтобы лучше определить этиологию СБЛПЛ и его распространённость, особенно с учётом того, что субъективные проявления данного синдрома весьма распространены среди населения в целом. Имеющиеся данные пока не позволяют дать какие-либо рекомендации в отношении терапевтических схем, направленных на предотвращение СБЛПЛ.

Заключение

Таким образом, актуальность рассматриваемой проблемы обуславливает необходимость проведения дальнейших исследований, направленных на оценку продолжительности лечения, с достаточными размерами выборки и чётко определёнными результатами терапии. Полученные в будущих работах данные будут способствовать внедрению в практику усовершенствованных схем персонифицированной антибактериальной терапии БЛ, направленной на повышение комплаентности, уменьшение частоты НЯ и снижение устойчивости к противомикробным препаратам.

Дополнительная информация

Финансирование. Исследование выполнено в рамках научно-исследовательской работы ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В. А. Насоновой», № государственного задания РК 125020301268-4. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Конфликт интересов отсутствует.

Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать. Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами.

- on ixodic tick-borne borrelioses in the Russian Federation in 2013–2022 and forecast for 2023. *Problemy osobo opasnykh infektsii. Problems of Particularly Dangerous Infections.* 2023; 2: 75–87. doi: <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2023-2-75-87>. (in Russian)]
3. Gould L. H., Colby E., Pilz A., Brestrich G., Halsby K., Kelly P. H. et al. Lyme borreliosis awareness and risk perception: a survey in 20 European countries. *Epidemiol Infect.* 2025 Jan 23; 153: e29. doi: 10.1017/S0950268825000068.
 4. Nguala S., Baux E., Patrat-Delon S., Saunier F., Schemoul J., Tattevin P. et al. Methodological quality assessment with the agree ii scale and a comparison of european and american guidelines for the treatment of lyme borreliosis: a systematic review. *Pathogens.* 2021; 10 (8): 972. doi: 10.3390/pathogens10080972.

5. Nemeth J., Bernasconi E., Heininger U., Abbas M., Nadal D., Strahm C. et al. For The Swiss Society for Infectious Diseases and The Swiss Society for Neurology. Update of the Swiss guidelines on post-treatment Lyme disease syndrome. *Swiss Med Wkly.* 2016; 146: w14353. doi: 10.4414/smww.2016.14353.
6. Berende A., ter Hofstede H. J., Vos F. J., van Middendorp H., Vogelaar M. L., Tromp M. et al. Randomized trial of longer-term therapy for symptoms attributed to Lyme disease. *N Engl J Med.* 2016; 374 (13): 1209–20. doi: 10.1056/NEJMoa1505425.
7. Fallon B. A., Keilp J. G., Corbera K. M., Petkova E., Britton C. B., Dwyer E. et al. A randomized, placebo-controlled trial of repeated IV antibiotic therapy for Lyme encephalopathy. *Neurology.* 2008; 70 (13): 992–1003. doi: 10.1212/01.WNL.0000284604.61160.2d.
8. Hunfeld K. P., Krawczyk P., Kekouk E., Schäfer V., Brade V. Standardised *in vitro* susceptibility testing of *Borrelia burgdorferi* against well-known and newly developed antimicrobial agents possible implications for new therapeutic approaches to Lyme disease. *Int J Med Microbiol.* 2002; 291 Suppl 33: 125–37. doi: 10.1016/s1438-4221 (02)80024-8.
9. Hunfeld K. P., Krawczyk P., Wichelhaus T. A., Schäfer V., Brade V. New colorimetric microdilution method for *in vitro* susceptibility testing of *Borrelia burgdorferi* against antimicrobial substances. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2000; 19 (1): 27–32. doi: 10.1007/s100960050005.
10. Hunfeld K. P., Wichelhaus T. A., Rödel R., Acker G., Brade V., Krawczyk P. Comparison of *in vitro* activities of ketolides, macrolides, and an azalide against the spirochete *Borrelia burgdorferi*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004; 48 (1): 344–7. doi: 10.1128/AAC.48.1.344-347.2004.
11. Agger W. A., Callister S. M., Jobe D. A. *In vitro* susceptibilities of *Borrelia burgdorferi* to five oral cephalosporins and ceftriaxone. *Antimicrob Agents Chemother.* 1992; 36 (8): 1788–90. doi: 10.1128/AAC.36.8.1788.
12. Verschoor Y. L., Vrijlandt A., Spijker R., van Hest R. M., Ter Hofstede H., van Kempen K. et al. Persistent *Borrelia burgdorferi* sensu lato infection after antibiotic treatment: systematic overview and appraisal of the current evidence from experimental animal models. *Clin Microbiol Rev.* 2022; 35 (4): e0007422. doi: 10.1128/cmr.00074-22.
13. Massarotti E. M., Luger S. W., Rahn D. W., Messner R. P., Wong J. B., Johnson R. C., Steere A. C. Treatment of early Lyme disease. *Am J Med.* 1992; 92 (4): 396–403. doi: 10.1016/0002-9343 (92)90270-1.
14. Strle F., Preac-Mursic V., Cimperman J., Ruzic E., Maraspin V., Jereb M. Azithromycin versus doxycycline for treatment of erythema migrans: clinical and microbiological findings. *Infection.* 1993; 21 (2): 83–8. doi: 10.1007/BF01710737.
15. Luft B. J., Dattwyler R. J., Johnson R. C., Luger S. W., Bosler E. M., Rahn D. W. et al. Azithromycin compared with amoxicillin in the treatment of erythema migrans. A double-blind, randomized, controlled trial. *Ann Intern Med.* 1996; 124 (9): 785–91. doi: 10.7326/0003-4819-124-9-199605010-00002.
16. Barsic B., Maretic T., Majerus L., Strugar J. Comparison of azithromycin and doxycycline in the treatment of erythema migrans. *Infection.* 2000; 28 (3): 153–6. doi: 10.1007/s150100050069.
17. Wormser G. P., Ramanathan R., Nowakowski J., McKenna D., Holmgren D., Visintainer P. et al. Duration of antibiotic therapy for early Lyme disease. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med.* 2003; 138 (9): 697–704. doi: 10.7326/0003-4819-138-9-200305060-00005.
18. Stupica D., Lusa L., Ruzic-Sabljić E., Cerar T., Strle F. Treatment of erythema migrans with doxycycline for 10 days versus 15 days. *Clin Infect Dis.* 2012; 55 (3): 343–50. doi: 10.1093/cid/cis402.
19. Stupica D., Collinet-Adler S., Blagus R., Gomišček A., Cerar Kisek T., Ruzic-Sabljić E., Velušček M. Treatment of erythema migrans with doxycycline for 7 days versus 14 days in Slovenia: a randomised open-label non-inferiority trial. *Lancet Infect Dis.* 2023; 23 (3): 371–379. doi: 10.1016/S1473-3099 (22)00528-X.
20. Arnez M., Radsel-Medvescek A., Pleterski-Rigler D., Ruzic-Sabljić E., Strle F. Comparison of cefuroxime axetil and phenoxymethyl penicillin for the treatment of children with solitary erythema migrans. *Wien Klin Wochenschr.* 1999; 111 (22-23): 916–22.
21. Arnez M., Pleterski-Rigler D., Luznik-Bufon T., Ruzic-Sabljić E., Strle F. Solitary erythema migrans in children: comparison of treatment with azithromycin and phenoxymethylpenicillin. *Wien Klin Wochenschr.* 2002; 114 (13-14): 498–504.
22. Nizič T., Velikanje E., Ruzic-Sabljić E., Arnez M. Solitary erythema migrans in children: comparison of treatment with clarithromycin and amoxicillin. *Wien Klin Wochenschr.* 2012; 124 (13-14): 427–33. doi: 10.1007/s00508-012-0194-1.
23. Arnez M., Ruzic-Sabljić E. Azithromycin Is Equally Effective as Amoxicillin in Children with Solitary Erythema Migrans. *Pediatr Infect Dis J.* 2015; 34 (10): 1045–8. doi: 10.1097/INF.0000000000000804.
24. Pfister H. W., Preac-Mursic V., Wilske B., Einhäupl K. M. Cefotaxime vs penicillin G for acute neurologic manifestations in Lyme borreliosis. A prospective randomized study. *Arch Neurol.* 1989; 46 (11): 1190–4. doi: 10.1001/archneur.1989.00520470044025.
25. Pfister H. W., Preac-Mursic V., Wilske B., Schielke E., Sörgel F., Einhäupl K. M. Randomized comparison of ceftriaxone and cefotaxime in Lyme neuroborreliosis. *J Infect Dis.* 1991; 163 (2): 311–8. doi: 10.1093/infdis/163.2.311.
26. Mülleger R. R., Millner M. M., Stanek G., Spork K. D. Penicillin G sodium and ceftriaxone in the treatment of neuroborreliosis in children — a prospective study. *Infection.* 1991; 19 (4): 279–83. doi: 10.1007/BF01644967.
27. Karlsson M., Hammers-Berggren S., Lindquist L., Stiernstedt G., Svenungsson B. Comparison of intravenous penicillin G and oral doxycycline for treatment of Lyme neuroborreliosis. *Neurology.* 1994; 44 (7): 1203–7. doi: 10.1212/wnl.44.7.1203.
28. Oksi J., Nikoskelainen J., Hiekkanen H., Lauhio A., Peltomaa M., Pitkäranta A. et al. Duration of antibiotic treatment in disseminated Lyme borreliosis: a double-blind, randomized, placebo-controlled, multicenter clinical study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2007; 26 (8): 571–81. doi: 10.1007/s10096-007-0340-2.
29. Solheim A. M., Lorentzen Å. R., Dahlberg A. O., Flemmen H. Ø., Brune S., Forselv K. J. N. et al. Six versus 2 weeks treatment with doxycycline in European Lyme neuroborreliosis: a multicentre, non-inferiority, double-blinded, randomised and placebo-controlled trial. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2022 Jul 27; 93 (11): 1222–8. doi: 10.1136/jnnp-2022-329724.
30. Steere A. C., Green J., Schoen R. T., Taylor E., Hutchinson G. J., Rahn D. W., Malawista S. E. Successful parenteral penicillin therapy of established Lyme arthritis. *N Engl J Med.* 1985; 312 (14): 869–74. doi: 10.1056/NEJM19850403121401.
31. Hassler D., Zöller L., Haude M., Hufnagel H. D., Heinrich F., Sonntag H. G. Cefotaxime versus penicillin in the late stage of Lyme disease prospective, randomized therapeutic study. *Infection.* 1990; 18 (1): 16–20. doi: 10.1007/BF01644175.
32. Dattwyler R. J., Halperin J. J., Volkman D. J., Luft B. J. Treatment of late Lyme borreliosis randomised comparison of ceftriaxone and penicillin. *Lancet.* 1988; 1 (8596): 1191–4. doi: 10.1016/s0140-6736 (88)92011-9.
33. Raffetin A., Henningson A. J., Ornstein K., Arias P., Fingerle V., Patrat-Delon S., et al. Towards shortening the duration of antibiotic therapy for Lyme borreliosis: a systematic review and meta-analysis. *Infection.* 2025; 53 (3): 809–830. doi: 10.1007/s15010-025-02501-3. Epub 2025 Apr 17. PMID: 40246800.
34. Weber K., Preac-Mursic V., Wilske B., Thurmayer R., Neubert U., Scherwitz C. A randomized trial of ceftriaxone versus oral penicillin for the treatment of early European Lyme borreliosis. *Infection.* 1993; 21 (2): 91–6. doi: 10.1007/BF01641422. PMID: 2185158.
35. Weber K., Wilske B., Preac-Mursic V., Thurmayer R. Azithromycin versus penicillin V for the treatment of early Lyme borreliosis. *Infection.* 1993; 21 (6): 367–72. doi: 10.1007/BF01728915.
36. Eliassen K. E., Reiso H., Berild D., Lindbæk M. Comparison of phenoxymethylpenicillin, amoxicillin, and doxycycline for erythema migrans in general practice. A randomized controlled trial with a 1-year follow-up. *Clin Microbiol Infect.* 2018; 24 (12): 1290–1296. doi: 10.1016/j.cmi.2018.02.028.
37. Dattwyler R. J., Luft B. J., Kunkel M. J., Finkel M. E., Wormser G. P., Rush T. J. et al. Ceftriaxone compared with doxycycline for the treatment of acute disseminated Lyme disease. *N Engl J Med.* 1997; 337 (5): 289–294. doi: 10.1056/NEJM19970713370501.
38. Stupica D., Velušček M., Blagus R., Bogovic P., Rojko T., Cerar T., Strle F. Oral doxycycline versus intravenous ceftriaxone for treatment of multiple erythema migrans: an open-label alternate-treatment observational trial. *J Antimicrob Chemother.* 2018; 73 (5): 1352–1358. doi: 10.1093/jac/dkx534.
39. Borg R., Dotevall L., Hagberg L., Maraspin V., Lotric-Furlan S., Cimperman J., Strle F. Intravenous ceftriaxone compared with oral doxycycline for the treatment of Lyme neuroborreliosis. *Scand J Infect Dis.* 2005; 37 (6-7): 449–54. doi: 10.1080/00365540510027228.
40. Ljøstad U., Skogvoll E., Eikeland R., Midgard R., Skarpaas T., Berg A., Myglund A. Oral doxycycline versus intravenous ceftriaxone for European Lyme neuroborreliosis: a multicentre, non-inferiority, double-blind, randomised trial. *Lancet Neurol.* 2008; 7 (8): 690–5. doi: 10.1016/S1474-4422 (08)70119-4.
41. Kortela E., Kanerva M. J., Puustinen J., Hurme S., Airas L., Lauhio A. et al. Oral Doxycycline Compared to Intravenous Ceftriaxone in the Treatment of Lyme Neuroborreliosis: A Multicenter, Equivalence, Randomized, Open-label Trial. *Clin Infect Dis.* 2021; 72 (8): 1323–1331. doi: 10.1093/cid/ciaa217.
42. Caperton E. M., Heim-Duthoy K. L., Matzke G. R., Peterson P. K., Johnson R. C. Ceftriaxone therapy of chronic inflammatory arthritis. A double-blind placebo-controlled trial. *Arch Intern Med.* 1990; 150 (8): 1677–82.
43. Dattwyler R. J., Wormser G. P., Rush T. J., Finkel M. E., Schoen R. T., Grunwaldt E., et al. A comparison of two treatment regimens of ceftriaxone in late Lyme disease. *Wien Klin Wochenschr.* 2005; 117 (11-12): 393–397. doi: 10.1007/s00508-005-0361-8.
44. Glatz M., Resinger A., Semmelweis K., Ambros-Rudolph C. M., Mülleger R. R. Clinical spectrum of skin manifestations of Lyme borreliosis in 204 children in Austria. *Acta Derm Venereol.* 2015; 95 (5): 565–71. doi: 10.2340/00015555-2000.

45. Shen R. V., McCarthy C. A., Smith R. P. Lyme Carditis in hospitalized children and adults, a case series. *Open Forum Infect Dis.* 2021; 8 (7): ofab140. doi: 10.1093/ofid/ofab140.
46. Sauer A., Speeg-Schatz C., Hansmann Y. Two cases of orbital myositis as a rare feature of lyme borreliosis. *Case Rep Infect Dis.* 2011; 2011: 372470. doi: 10.1155/2011/372470.
47. Aberer E., Breier E., Stanek G., Schmidt B. Success and failure in the treatment of acrodermatitis chronica atrophicans. *Infection.* 1996; 24 (1): 85–87. doi: 10.1007/BF01780666.
48. Roca Mora M. M., Cunha L. M., Godoi A., Donadon I., Clemente M., Marcolin P. *et al.* Shorter versus longer duration of antimicrobial therapy for early Lyme disease: A systematic review and meta-analysis. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2024; 109 (2): 116215. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2024.116215.
49. Arvikar S. L., Steere A. C. Lyme Arthritis. *Infect Dis Clin North Am.* 2022 Sep; 36 (3): 563–577. doi: 10.1016/j.idc.2022.03.006.
50. Coutou J., Herkes E. A., Brouwer M. C., van de Beek D., Tas S. W., Casteelen G. *et al.* Ticking the right boxes: classification of patients suspected of Lyme borreliosis at an academic referral center in the Netherlands. *Clin Microbiol Infect.* 2015; 21 (4): 368.e11–20. doi: 10.1016/j.cmi.2014.11.014.
51. Gynther R. M. M., Tetens M. M., Ørbæk M., Haahr R., Fana V., Hansen K. *et al.* Classification of patients referred under suspicion of tick-borne diseases, Copenhagen, Denmark. *Ticks Tick Borne Dis.* 2021; 12 (1): 101591. doi: 10.1016/j.ttbdis.2020.101591.
52. Raffetin A., Schemoul J., Chahour A., Nguala S., Caraux-Paz P., Paoletti G. *et al.* On the behalf of the tick-borne diseases reference center-paris and northern region working group. multidisciplinary management of suspected lyme borreliosis: clinical features of 569 patients, and factors associated with recovery at 3 and 12 months, a prospective cohort study. *Microorganisms.* 2022; 10 (3): 607. doi: 10.3390/microorganisms10030607.

Поступила / Received 15.07.2025

Принята в печать / Accepted 05.08.2025

Информация об авторах

Белов Борис Сергеевич — д. м. н., заведующий лабораторией коморбидных инфекций и вакцинопрофилактики, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В. А. Насоновой», Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0001-7091-2054. ResearcherID: ABD-2219-2020. eLIBRARY SPIN-код: 3298-4315. Scopus Author ID: 7004592537

Ананьева Лидия Петровна — д. м. н., профессор, научный консультант лаборатории системного склероза, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В. А. Насоновой», Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0002-3248-6426. ResearcherID: U-7411-2017. eLIBRARY SPIN-код: 7182-3868. Scopus Author ID: 6603356433

About the authors

Boris S. Belov — D. Sc. in Medicine, Head of the Laboratory of Comorbid Infections and Vaccine Prevention, V. A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0001-7091-2054. ResearcherID: ABD-2219-2020. eLIBRARY SPIN-code: 3298-4315. Scopus Author ID: 7004592537

Lidia P. Ananyeva — D. Sc. in Medicine, Professor, Scientific Consultant at the Laboratory of Systemic Sclerosis, V. A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0002-3248-6426. ResearcherID: U-7411-2017. eLIBRARY SPIN-code: 7182-3868. Scopus Author ID: 7004592537.

Пероральные лекарственные формы на основе цефалоспоринов: преимущества цефиксима в капсульной форме

*Е. В. ХЕЙФЕЦ, А. В. ПАНОВ

МИРЭА — Российский технологический университет, Институт тонких химических технологий им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия

Резюме

Антибиотики группы цефалоспоринов выступают важными агентами при лечении широкого спектра бактериальных инфекций. С момента выделения первого их представителя в 1945 г., они получили распространение как при локальном лечении инфекций, так и при комплексном лечении в больничных учреждениях. Особое место среди цефалоспоринов занимает представитель их третьего поколения — цефиксим. Он не только является первым полусинтетическим перорально активным и эффективным антибиотиком, но и демонстрирует яркую антибактериальную активность против большого числа бактериальных штаммов. Актуальным остаётся вопрос правильного выбора лекарственной формы для перорального введения антибиотика. В 2025 г. на российском рынке реализуется довольно скромный спектр цефалоспориновых антибиотиков в капсульной форме и непосредственно цефиксима в пероральных формах. Несмотря на потенциальные материальные затраты при производстве, капсулы, содержащие цефиксим в качестве активной фармацевтической субстанции, могут быть подходящими кандидатами для лечения широкого спектра бактериальных инфекций из-за ряда преимуществ данной лекарственной формы. В тексте обзора рассмотрены краткие сведения о цефалоспориновых антибиотиках (история открытия, классификация, спектр действия, схема полусинтетического синтеза и т. д.) и преимуществах и недостатках пероральной капсульной лекарственной формы. Также был проведён анализ состояния российского фармацевтического рынка относительно зарегистрированных капсульных лекарственных форм на основе цефалоспоринов и в целом пероральных лекарственных форм на основе представителя 3-го класса цефалоспоринов — цефиксима.

Ключевые слова: цефалоспорины; цефиксим; бактериальные инфекции; пероральный приём лекарственных средств; капсулы; фармацевтический рынок Российской Федерации

Для цитирования: Хейфец Е. В., Панов А. В. Пероральные лекарственные формы на основе цефалоспоринов: преимущества цефиксима в капсульной форме. *Антибиотики и химиотер.* 2025; 70 (7–8): 101–106. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2025-70-7-8-101-106>. EDN: VBRYLY.

Oral Cephalosporin Dosage Forms: Advantages of Cefixime in Capsule Form

*EVGENII V. KHEIFETS, ALEKSEI V. PANOV

MIREA — Russian Technological University, Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies, Moscow, Russia

Abstract

Cephalosporins are important agents in the treatment of a wide range of bacterial infections. Since the isolation of their first representative in 1945, they have become widespread both in local treatment of infections and in complex treatment in hospitals. A special place among cephalosporins is occupied by a representative of their third generation, cefixime. It is not only the first semi-synthetic, orally active, and effective antibiotic, but it also demonstrates remarkable antibacterial activity against a wide range of bacterial strains. The choice of dosage form for oral administration of cefixime remains relevant to this day. A rather modest range of cephalosporin antibiotics in capsule form and cefixime in oral forms is sold on the Russian market in 2025. Despite the potential material costs in production, capsules containing cefixime as an active pharmaceutical substance may be eligible candidates for the treatment of a wide range of bacterial infections due to a number of advantages of this particular dosage form. The review presents brief information about cephalosporins (history of discovery, classification, spectrum of action, scheme of semi-synthetic synthesis, etc.), as well as advantages and disadvantages of oral capsule dosage form. Also, the state of the Russian pharmaceutical market regarding registered capsule dosage forms based on cephalosporins and, in general, oral dosage forms based on a representative of class 3 cephalosporins, cefixime, had been analyzed.

Keywords: cephalosporins; cefixime; bacterial infections; oral administration of drugs; capsules; pharmaceutical market of Russian Federation

*Адрес для корреспонденции:
E-mail: zhenia-solo@mail.ru



EDN: VBRYLY

*Correspondence to:
E-mail: zhenia-solo@mail.ru

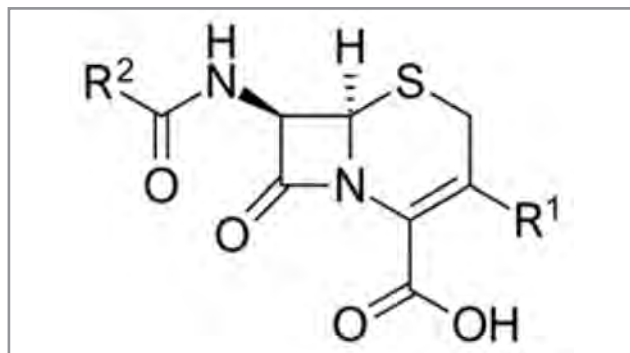


Общие сведения о цефалоспорилах

Цефалоспорины (рисунок) относятся к классу бета-лактамов противомикробных препаратов, используемых для лечения различных инфекций, вызванных как грамположительными, так и грамотрицательными бактериями. Как правило, цефалоспорины демонстрируют эффективность в лечении кожных инфекций и мягких тканей, пневмонии, менингита и других инфекций [1].

Класс цефалоспоринов произошёл от грибка *Cephalosporium acremonium*, впервые обнаруженного Джузеппе Бротцу в 1945 г., когда он заметил, что воды у побережья острова Сардиния содержат вещество с антибактериальной активностью [1]. Первоначальное соединение, цефалоспорин С, позже превратилось в современные цефалоспорины посредством структурных модификаций бета-лактамового кольца, которые улучшили его антибактериальный спектр, стабильность и фармакокинетические свойства [2]. После этого открытия цефалоспорины быстро получили клиническое распространение как надёжные антибиотики, особенно полезные для пациентов с аллергией на пенициллин или для тех, в лечении которых пенициллин не был бы эффективен [1–4].

Цефалоспорины обычно подразделяют на 5 поколений (классов) в зависимости от их спектра действия по отношению к грамположительным, грамотрицательным бактериям и бактериальным ферментам β -лактамазам, структуры и времени их открытия. Цефалоспорины первого поколения (цефазолин, цефалексин, цефрадин, цефалоридин, цефапирин и др.) действуют против большинства грамположительных кокков и некоторых грамотрицательных бактерий, включая *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* и *Klebsiella pneumoniae*. Цефалоспорины второго поколения (цефуроксим, цефокситин, цефпрозил, цефотиам, цефсулодин и др.) оказывают действие против *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* и *Bacteroides* spp. Цефалоспорины третьего поколения (цефиксим, цефтриаксон, цефодизим, цефдитарен, цефтибутен и др.) меньше защищают против большинства грамположительных организмов, но имеют выраженную защиту против Enterobacteriaceae, *Neisseria* spp. и *H. influenzae*. Представители цефалоспоринов четвёртого поколения (цефпиром, цефепим) схожи с представителями третьего по своей устойчивости, но демонстрируют дополнительную защиту против грамотрицательных бактерий с устойчивостью к противомикробным препаратам. Цефа-



Общая структурная формула цефалоспоринов
General structural formula of cephalosporins

лоспорины пятого поколения (цефтобипрол, цефтолозан, цефтаролин) устойчивы к метициллинорезистентным стафилококкам и пенициллинорезистентным пневмококкам [5, 6].

Цефалоспорин С продуцируется исключительно нитчатым грибом *A. chrysogenum*. Весь биосинтетический путь был детально изучен из-за его высокой фармацевтической и экономической ценности [6]. Подобно пенициллину и другим бета-лактамам антибиотикам, биосинтез цефалоспорина С инициируется тремя аминокислотами: L-цистеином, L-валином и непротеиногенной L- α -аминоадипиновой кислотой (L- α -AAA). Эти три аминокислоты катализируются с образованием трипептида ACV с помощью ACV-синтазы в цитозоле. Циклизация молекулы ACV опосредуется изопенициллин N (IPN)-синтазой. С данной стадии пути биосинтеза различаются для разных групп бета-лактамовых антибиотиков [7, 8].

В биосинтезе цефалоспоринов полученный IPN изомеризуется в пенициллин N с помощью двухкомпонентных эпимераз, расположенных в пероксисомах [8]. Следующая стадия снова происходит в цитозоле, где пенициллин N превращается в деацетоксицефалоспорин С (DAOC) с помощью DAOC-синтазы. Здесь пятичленное тиазолидиновое кольцо, присоединённое к бета-лактамовому кольцу, расширяется до шестичленного дигидротиазинового кольца, которое является отличительной структурной чертой цефалоспоринов [7, 9]. Далее следует модификация боковой цепи DAOC, осуществляемая цитоплазматической гидроксилазой, в результате чего образуется деацетилцефалоспорин С (DAC) [6, 7]. Наконец, ацетилтрансфераза добавляет группу ацетил-КоА (кофермент А) к DAC для получения цефалоспорина С. Он активно секретируется из цитозоля грибка во внеклеточное пространство как природное антибактериальное вещество [8, 10]. Механизм транспорта до сих пор неясен, хотя сообщалось, что ген

cefT, кодирующий предполагаемый эффлюксный насос, участвует в экспорте CPC [10].

В современной фармацевтической промышленности одними из ключевых промежуточных соединений для получения полусинтетических антибиотиков цефалоспоринового ряда являются 7-аминодезацетоксицефалоспориановая кислота (7-ADCA) и 7-аминоцефалоспориановая кислота (7-ACA). Последняя, в свою очередь, синтезируется при химико-ферментативном гидролизе природного цефалоспориана C [10–12].

Фармацевтические компании используют высокоактивные ациллазы цефалоспориана C для одностадийного превращения с 2006 г., применяя их в качестве иммобилизованного биокатализатора, производимого *E. coli* [12]. До сих пор промышленное применение ациллаз цефалоспориана C ограничивалось ферментативным процессом, проводимым *in vitro*. Недавно был опубликован многообещающий подход *in vivo* для преобразования цефалоспориана C в 7-ACA [6]. Сконструировали ген бактериальной ацилазы, чьё генетическое использование кодонов было адаптировано к хозяину гриба для успешной экспрессии гена в продуцирующем цефалоспорин C грибе *A. chrysogenum*. Масс-спектрометрический анализ показал, что бактериальный фермент успешно обрабатывается в клетке гриба, а активный фермент секретируется в среде супернатанта. Используя оптимизированные условия ферментации-инкубации, исследователи наблюдали 30% скорость конверсии из CPC в 7-ACA [6, 10]. Авторы ожидают, что перенос этого лабораторного подхода на промышленные производственные линии потребует адаптации к крупным производственным масштабам и объектам. Тем не менее, этот простой подход минимизирует сложные производственные процессы и будет экологически и экономически выгоден для устойчивого производства антибиотиков [6].

Цефалоспорины, как правило, хорошо переносятся организмом. Как и пенициллин, цефалоспорины могут вызывать реакцию гиперчувствительности примерно у 2% людей с кожной сыпью, лихорадкой, крапивницей и отёком, но это довольно редко приводит к анафилаксии. Цефалоспорины первого и второго поколения чаще вызывают реакции гиперчувствительности и демонстрируют перекрёстную реактивность с пенициллином. Некоторые цефалоспорины (например, цефазолин и цефамандол) могут вызывать нефротоксические эффекты у животных, при этом они с меньшей вероятностью увеличивают риск нефротоксических явлений у людей. Переизбыток цефтриаксона может привести к холециститу из-за осаждения соли кальция в желчном пузыре, от чего его нельзя вводить вместе с добавками кальция или растворами, содержащими кальций. Он также может вытеснять билирубин из альбу-

мина, увеличивая риск желтухи у новорождённых. Цефтриаксон и цефотетан также связаны с развитием лекарственно-индуцированной иммунной гемолитической анемии, вызванной IgG против этих препаратов, которые связываются с эритроцитами, переносящими препараты на своей клеточной мембране, провоцируя гемолиз [1, 6].

Помимо интенсивной терапии в больницах, значительное количество цефалоспоринов назначается для лечения инфекций. Согласно исследованию, проведённому в 28 странах Европейского союза/Европейской экономической зоны в 2017 г., цефалоспорины составляли 11,6% потребления антибиотиков в обществе [13, 14]. Среди всех классов цефалоспориновых антибиотиков на рынке доминировали пять представителей, на долю которых приходилось 90% общего потребления, а именно: цефалексин (8,0%) из первого поколения; цефуроксим (63,0%) и цефаклор (7,2%) из второго поколения; и цефиксим (8,9%) и цефподоксим (3,1%) из третьего поколения. Значительные колебания тенденций наблюдались с 1997 г. по 2017 г. Пропорциональное потребление цефалоспоринов второго и третьего поколений значительно возросло с течением времени, тогда как для цефалоспоринов первого поколения постепенно снизилось. Пропорциональное потребление цефалоспоринов четвёртого поколения незначительно и существенно снизилось лишь с течением времени (с 0,02% в 2009 г. до 0,01% в 2017 г.) [1, 13, 14].

Антибиотики цефалоспоринового ряда остаются краеугольным камнем в лечении широкого спектра инфекций благодаря их широкому спектру действия и благоприятному профилю безопасности. В последние годы растёт интерес к оптимизации введения цефалоспоринов с помощью расширенных инфузий, непрерывных инфузий и стратегий прерывистого дозирования для достижения надёжных фармакокинетических/фармакодинамических целей и борьбы с всё более лекарственно-устойчивыми патогенами [2, 3].

Преимущества и недостатки капсульной лекарственной формы

Несмотря на множество различных путей введения препарата, пероральный путь остаётся предпочтительным просто из-за его удобства, соблюдения пациентом режима лечения, а также низких затрат на производство. Однако для того, чтобы перевести препарат в любую пероральную лекарственную форму, он должен обладать достаточной растворимостью в воде. Из-за этого сложно разработать любой препарат в пероральной лекарственной форме, поскольку почти половина идентифицированных активных веществ

Таблица 1. Лекарственные препараты в форме капсул на основе антибиотиков цефалоспоринового ряда, реализуемые на российском рынке в 2025 г. [16]

Table 1. Medicinal products in capsule form based on cephalosporin antibiotics sold on the Russian market in 2025 [16]

Наименование	Действующее вещество	Дозировка	Производитель
Супракс	Цефиксим	400 мг	ACS DOBFAR (Италия)
Цедекс	Цефтибутен	400 мг	Merck sharp & dohme (США)
Цефалексин	Цефалексин	250/500 мг	АВВА РУС (Россия)
			Белмедпрепараты (Республика Беларусь)
			Nemofarm (Сербия)
ЦЕФИКСИМ	Цефиксим	400 мг	Биохимик (Россия)
Экоцефрон	Цефалексин	250 мг	АВВА РУС (Россия)

либо нерастворимы, либо плохо растворимы в воде. Низкие скорости растворения водонерастворимых или плохо растворимых препаратов являются значительной проблемой, с которой сталкивается фармацевтическая промышленность, поскольку это считается этапом, ограничивающим скорость абсорбции и, следовательно, биодоступность [11, 15].

На российском рынке лекарственные препараты на основе цефалоспоринов представлены множеством разных форм: гранулы для приготовления суспензии для приёма внутрь, таблетки диспергируемые, таблетки с оболочкой, различные порошки и т. д. Довольно маленький процент от общего числа форм составляют капсулы, несмотря на ряд преимуществ данной лекарственной формы (табл. 1). Часть этих препаратов производят российские компании.

С точки зрения пациента, капсулы имеют много преимуществ, что делает их одной из самых популярных лекарственных форм на рынке. В целом, большинство пациентов считают оболочки капсул гладкими, скользкими и более удобными для проглатывания, чем таблетки. Кроме того, капсулы исключают любой контакт между лекарством и ротовой полостью, что делает их безвкусными и без запаха, с учётом того, что большинство лекарств имеют горький вкус с неприятным послевкусием. Это значительно улучшает соблюдение пациентом режима лечения и, следовательно, терапевтические результаты. Кроме того, капсулы могут быть изготовлены из прозрачной, глянцевой плёнки, которую можно ярко раскрасить, при этом они будут иметь элегантный внешний вид, что также является положительным фактором для пациента. Для больных, у которых есть проблемы с глотанием, капсулу можно открыть, а содержимое высыпать в пищу, что может подойти для детей и пожилых пациентов [17, 18].

С точки зрения доставки лекарств капсулы имеют много преимуществ. Для лекарственных форм с немедленным высвобождением ключевым этапом является разрушение оболочки капсулы, что аналогично распаду в таблетке. Для капсул это происходит довольно легко. Таким образом, капсулы идеально подходят для немедленной до-

ставки действующего вещества. Кроме того, капсулы можно использовать и для других типов профилей высвобождения. Помимо помещения порошка в капсулу, с помощью современного оборудования для наполнения капсулы можно использовать другие лекарственные формы, такие как мини-таблетки и всевозможные комбинации гранул, таблеток, капсул, порошков и даже жидкостей [18].

Разумеется, у капсульной формы лекарственных препаратов есть и недостатки, которые можно нейтрализовать на стадии разработки состава лекарства. Один из них включает в себя взаимодействие между лекарственным средством, вспомогательными веществами и оболочкой капсулы. Гигроскопичные материалы могут высушить оболочку капсулы и сделать её хрупкой. Типичная оболочка капсулы содержит от 12 до 16% воды, а если её содержание значительно ниже, то оболочка может треснуть. Принцип работает и в обратную сторону: оболочки капсул могут впитывать воду из окружающей среды и приводить к проблемам, связанным со стабильностью препарата из-за слишком большого количества воды, и оболочка капсулы может стать липкой. Ко всему прочему, машины для наполнения капсул сложнее, чем таблеточный пресс, и требуют больше времени на настройку, разборку и проверку очистки из-за всех движущихся частей. При переходе с одного размера капсул на другой необходимо заменить дозирующий диск, штамповочные штифты или дозатор и все втулки, принимающие участие в отделении оболочки капсулы. Переход с одного размера на другой может занять много часов [17, 19].

Цефиксим как оптимальный представитель антибиотиков цефалоспоринового ряда

Цефиксим — это бактерицидный, устойчивый к β -лактамазам цефалоспорин третьего поколения широкого спектра действия, а также он является первым полусинтетическим перорально активным и эффективным антибиотиком [20]. Годы обширных исследований цефиксима показали, что он является превосходным активным антибиотиком

Таблица 2. Лекарственные препараты на основе цефиксима, реализуемые на российском рынке в 2025 г. [16]
Table 2. Cefixime-based drugs sold on the Russian market in 2025 [16]

Наименование	Лек. форма	Дозировка	Производитель
Иксим Люпин	Порошок для приготовления суспензии для приёма внутрь	100 мг/5 мл	Lupin (Индия)
Панцеф	Гранулы для приготовления суспензии для приёма внутрь	100 мг/5 мл	ALKALOID AD Skopje (Республика Северная Македония)
	Таблетки, покрытые плёночной оболочкой	400 мг	
Скертцо	Порошок для приготовления суспензии для приёма внутрь	20 мг/мл	Sandoz (Австрия)
	Таблетки, покрытые плёночной оболочкой	400 мг	
Супракс	Гранулы для приготовления суспензии для приёма внутрь	100 мг/5 мл	ACS DOBFAR (Италия)
	Капсулы	400 мг	
Супракс Солютаб	Таблетки диспергируемые	400 мг	A. Menarini Manufacturing Logistics and Services (Италия)
Цеидексор	Таблетки, покрытые плёночной оболочкой	100 мг	Suzhou Dawnrays Pharmaceutical (Китай)
ЦЕФИКСИМ	Капсулы	400 мг	Биохимик (Россия)
	Таблетки диспергируемые	400 мг	
Цефиксим ЭКСПРЕСС	Таблетки диспергируемые	400 мг	ЛЕККО (Россия)
Цефорал Солютаб	Таблетки диспергируемые	400 мг	A. Menarini Manufacturing Logistics and Services (Италия)

с аналогичной антибактериальной активностью и устойчивостью к β -лактамазам, как и у других парентеральных цефалоспоринов третьего поколения. Цефиксим обладает ярко выраженными биологическими свойствами, демонстрируя мощную антибактериальную активность и устойчивость к большинству грамотрицательных бактерий, содержащих бета-лактамазы [21, 22]. Он эффективен против 90% энтеробактерий (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp. и т. д. [23, 24]. Особую эффективность он проявляется против *S. pyogenes*, стрептококков группы В, С и G, пенициллиночувствительного *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis*, *N. gonorrhoeae*, *P. multocida* [23–25]. Он не метаболизируется в организме и выводится в неизменённом виде через мочу и желчные пути [25].

Цефиксим имеет низкую биодоступность при пероральном приёме (22–54%) [25–27]. Из-за плохой растворимости и проницаемости препарат считается препаратом IV класса, согласно биофармацевтической системе классификации [28]. По-

этому проблемы либо с растворением препарата, либо с абсорбцией, либо с тем и другим способствуют его низкой биодоступности [29–31].

На момент 2025 года российский рынок реализует ряд лекарственных препаратов на основе цефиксима, лишь малый процент из которых составляют капсулы (табл. 2).

Выводы

Разработка состава и технологии получения капсул на основе цефиксима может являться перспективной сферой развития отечественной фармацевтической промышленности. Поскольку цефиксим является антибиотиком высокого спектра активности, он может подойти для лечения как длительных бактериальных заболеваний, так и краткосрочных. Подбор правильных вспомогательных веществ и корректировка технологических процессов могут выступить значительным преимуществом в сравнении с другими близкими по составу лекарственными препаратами, реализуемыми на рынке.

Литература/References

1. Dhruvi D., Mittal I. A. Comprehensive review of cephalosporin antibiotics: pharmacokinetic/pharmacodynamic considerations, extended infusion strategies, and clinical outcomes. PEXACY International Journal of Pharmaceutical Science. 2025; 4 (1): 1–22. doi: 10.5281/zenodo.14647689.
2. Dulhunty J. M., Roberts J. A. Lipman J., BLING III Study Investigators. continuous vs intermittent β -lactam antibiotic infusions for sepsis — reply. JAMA. 2025; 333 (2): 174–175. doi: 10.1001/jama.2024.23275.
3. Marshall W. F., Blair J. E. The cephalosporins. Mayo Clin Proc. 1999; 74 (2): 187–195. doi: 10.4065/74.2.187.
4. Vilvanathan S. Penicillins, Cephalosporins, and other β -lactam antibiotics. In: Paul A., Anandabaskar N., Mathaiyan J., Raj G. M. Introduction to basics of pharmacology and toxicology. Springer, Singapore. 2021; 821–834. doi: 10.1007/978-981-33-6009-9_54.
5. Bui T., Patel P., Preuss C. V. Cephalosporins. 2024, In: StatPearls [Internet]. treasure island (FL): StatPearls publishing; 2025 Jan. PMID: 31855361.

6. Kim Y, Hol W. G. J. Structure of cephalosporin acylase in complex with glutaryl-7-aminocephalosporanic acid and glutarate: insight into the basis of its substrate specificity. *Chem Biol.* 2001; 8 (12): 1253–1264. doi: 10.1016/s1074-5521 (01)00092-8.
7. Rasyidah M., Siswindari S., Purwanto P. Cephalosporin C acylase: important role, obstacles, and strategies to optimize expression in *E. coli*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science.* 2024; 1–10. doi: 10.7324/japs.2024.179954.
8. Sun H., Liu T., Luo H., Nie Z., Chang Y., Yu H. et al. Optimization of cephalosporin c acylase expression in *Escherichia coli* by high-throughput screening a constitutive promoter mutant library. *Appl Biochem Biotechnol.* 2021; 193 (4): 1056–1071. doi: 10.1007/s12010-020-03482-9.
9. Tan Q., Qiu J., Luo X., Zhang Y., Liu Y., Chen Y. et al. Progress in one-pot bioconversion of cephalosporin c to 7-aminocephalosporanic acid. *Curr Pharm Biotechnol.* 2018; 19 (1): 30–42. doi: 10.2174/1389201019666180509093956.
10. Lin X., Kück U. Cephalosporins as key lead generation beta-lactam antibiotics. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2022; 106 (24): 8007–8020. doi: 1007/s00253-022-12272-8.
11. Hutchings M. I., Truman A. W., Wilkinson B. Antibiotics: past, present and future. *Curr Opin Microbiol.* 2019; 51: 72–80. doi: 10.1016/j.mib.2019.10.008.
12. Gröger H., Pieper M., König B., Bayer T., Schleich H. Industrial landmarks in the development of sustainable production processes for the β -lactam antibiotic key intermediate 7-aminocephalosporanic acid (7-ACA). *Sustainable Chemistry and Pharmacy.* 2017; 5: 72–9. doi: 10.1016/j.scp.2016.08.001.
13. Bruyndonckx R., Adriaenssens N., Versporten A., Hens N., Monnet D. L., Molenberghs G. et al. Consumption of antibiotics in the community, European Union/European Economic Area, 1997–2017. *J Antimicrob Chemother.* 2021; 76 (Suppl 2): 7–13. doi: 10.1093/jac/dkab172.
14. Walsh T. L., Taffe K., Sacca N., Bremner D. N., Sealey M. L., Cuevas E. et al. Risk factors for unnecessary antibiotic prescribing for acute respiratory tract infections in primary care. *Mayo Clin Proc Innov Qual Outcomes.* 2020; 4 (1): 31–39. doi: 10.1016/j.mayocpiqo.2019.09.004.
15. Mahdi Z. H., Maraie N. K., Al-juboori Z. A. Application of liquisolid technology to enhance the dissolution of cefixime from its oral capsules. *International Journal of Applied Pharmaceutics.* 2018; 10 (5): 214–219. doi: 10.22159/ijap.2018v10i5.28359.
16. Регистр лекарственных средств России [Интернет]. [Доступ от: 01.04.2025]. Доступ по ссылке: <https://www.rlsnet.ru/pharm-groups/cefalosporyny-92>. [Registrl lekarstvennykh sredstv Rossii [Internet]. [Dostup ot: 01.04.2025]. Dostup po ssylke: <https://www.rlsnet.ru/pharm-groups/cefalosporyny-92>. (in Russian)]
17. Hoag S. W. Capsules dosage form: formulation and manufacturing considerations. In: Yihong Q., Yisheng C., Zhang G. G. Z., Yu L. et al. *Developing solid oral dosage forms: pharmaceutical theory and practice*, second edition. Elsevier Inc. 2017; 723–747. doi: 10.1016/B978-0-12-802447-8.00027-3.
18. Laha B., Sarkar T., Seth S. Advances in solid dosage forms. In: Nayak A. K., Sen K. K. *Physico-chemical aspects of dosage forms and biopharmaceutics.* 2024; 407–445. doi: 10.1016/b978-0-323-91818-3.00022-0.
19. Sohail Arshad M., Zafar S., Yousef B., Alyassin Y., Ali R., AlAsiri A. et al. A review of emerging technologies enabling improved solid oral dosage form manufacturing and processing. *Adv Drug Deliv Rev.* 2021; 178: 113840. doi: 10.1016/j.addr.2021.113840.
20. Савенкова М. С. Цефалоспорины: история вопроса, классификация, показания к применению парентеральных и пероральных форм. *Педиатрия. Consilium Medicum.* 2012; 4: 56–60. [Savenkova M. S. Cephalosporins: history of the issue, classification, indications for use of par-enteral and oral forms. *Pediatrics. Consilium Medicum.* 2012; 4: 56–60. (in Russian)]
21. Panggabean S. N., Retnosari R., Subhan S., Latuperissa D. Overview of antibiotic prescribing based on aware category at fatmawati hospital in the period of May 2024 — November 2024. *Eduvest — Journal of Universal Studies.* 2025; 5 (3): 3339–3348. doi: 10.59188/eduvest.v5i3.50291.
22. Ajmal M., Zamir A., Rehman A. U., Imran I., Saeed H., Majeed A. et al. Clinical pharmacokinetics of cefixime: a systematic review. *Xenobiotica.* 2023; 53 (3): 149–162. doi: 10.1080/00498254.2023.2217265.
23. Bhavana P., Reddy Dr M. S. formulation and evaluation of fast-dissolving tablets of losartan potassium using co-processed excipients and statistical optimisation using central composite design. *International Journal of Research Publication and Reviews.* 2023; 4 (12): 3161–3174. doi: 10.55248/gengpi.4.1223.123526.
24. Голуб А. В. Пероральные цефалоспорины III поколения в амбулаторной клинической практике: современные аспекты применения. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* 2015; 17 (1): 18–23. [Golub A. V. Oral Third-Generation Cephalosporins in Current Outpatient Clinical Practice. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy.* 2015; 17 (1): 18–23. (in Russian)]
25. Asiri Y. A., Al-Said M. S., Al-Khamis K. I., Niazay E. M., El-Sayed Y. M., Al-Rashood K. A. et al. Comparative bioavailability study of cefixime (equivalent to 100 mg/5 ml) suspension (Winex vs Suprax) in healthy male volunteers. *Randomized Controlled Trial.* *Int J Clin Pharmacol Ther.* 2005; 43 (10): 499–504. doi: 10.5414/cpp43499.
26. Tanvir S. B., Qasim S. S. B., Shariq A., Najeeb S. Systematic review and meta-analysis on efficacy of cefixime for treating gonococcal infections. *Int J Health Sci.* 2018; 12 (5): 90–100.
27. Ali F. H., Mohammed D. H. Spectrophotometric determination of cefixime using hydralazine as coupling reagent. *Int J Health Sci.* 2022; 14487–14497. doi: 10.53730/ijhs.v6ns2.8795.
28. Mahmood A., Khan L., Ijaz M., Nazir I., Naseem M., Tahir M. A. et al. Enhanced intestinal permeability of cefixime by self-emulsifying drug delivery system: *in-vitro* and *ex-vivo* characterization. *Molecules.* 2023; 28 (6): 2827. doi: 10.3390/molecules28062827.
29. Purohit D. C., Rawal K. D., Patel K., Patel C. N. A comprehensive review on analytical method development and validation for cefixime in pharmaceutical dosage form. *W J Pharm Pharm Sci.* 2024; 13 (2): 1695–1708. doi: <https://doi.org/10.20959/wjpps20242-26627>.
30. Kzar T. T., Rasheed A. S., Hassan M. J. M. Optimization of hydrophilic interaction chromatography method for determination of Cefixime in some pharmaceutical preparations using HPLC coupled with UV detection. *Plant Archives.* 2020; 20 (2): 4356–4360.
31. Faulkner R. D., Sia L. L., Look Z. M., Barone J. S., Forbes S. J., Weiss A. I. et al. Bioequivalency of solid oral dosage forms of cefixime. *Int J Pharm.* 1988; 43 (1–2): 53–58. doi: 10.1016/0378-5173 (88)90058-0.

Поступила / Received 21.05.2025

Принята в печать / Accepted 26.06.2025

Информация об авторах

Хейфец Евгений Владимирович — аспирант 3-го года обучения кафедры Биотехнологии и промышленной фармации (БТИПФ) РТУ — МИРЭА (ИТХТ им. М. В. Ломоносова), Москва, Россия. ORCID ID: 0009-0001-2425-4975. SPIN-Code: 8129-4492

Панов Алексей Валерьевич — к. х. н., доцент кафедры Биотехнологии и промышленной фармации (БТИПФ) РТУ — МИРЭА (ИТХТ им. М. В. Ломоносова), Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0002-1603-143X. e-library SPIN-Code: 5369-3083

About the authors

Evgenii V. Kheifets — 3rd year postgraduate student at Department of Biotechnology and Industrial Pharmacy, MIREA — Russian Technological University (Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies), Moscow, Russia. ORCID ID: 0009-0001-2425-4975. SPIN-Code: 8129-4492

Aleksei V. Panov — Ph. D. in Chemistry, Associate Professor at Department of Biotechnology and Industrial Pharmacy, MIREA — Russian Technological University (Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies), Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0002-1603-143X. e-library SPIN-Code: 5369-3083

P. aeruginosa

Цефтазидим- и карбапенеморезистентные штаммы, AmpC- продуцирующие штаммы

Карбапенеморезистентные *Enterobacterales*
KPC and OXA-48

БЛРС-продуцирующие *Enterobacterales*

БЛРС- и AmpC-продуцирующие штаммы

РЕШИТЕЛЬНЫЙ УДАР ПО СЛОЖНЫМ ЦЕЛЯМ!

ЗАВИЦЕФТА 
цефтазидим/авибактам

Препарат выбора для лечения тяжелых грамотрицательных инфекций, когда выбор терапии может быть критичным^{1,2}



У взрослых и детей старше 3 месяцев:²

- осложненные интраабдоминальные инфекции
- осложненные инфекции мочевых путей, включая пиелонефрит
- нозокомиальная пневмония (включая НП_{ИВЛ})
- инфекции, вызванные аэробными грамотрицательными микроорганизмами, у пациентов с ограниченным выбором антибактериальной терапии

У взрослых:

- бактериемия, которая возникает или предположительно связана с:
 - осложненной интраабдоминальной инфекцией
 - осложненной инфекцией мочевыводящих путей, включая пиелонефрит
 - с госпитальной пневмонией (включая НП_{ИВЛ})

1. Общая характеристика лекарственного препарата Завицефта® ЛП-№(004632)-(PF-RU)
2. Программа SKAT / Под ред. С. В. Яковлева, и др. М.: Издательство «Поро», 2018. 156 с.

Сокращения:

НП_{ИВЛ} – нозокомиальная пневмония, связанная с искусственной вентиляцией легких, БЛРС – β-лактамазы расширенного спектра



ООО «Пфайзер Инновации»:
123112, Москва, Пресненская наб., д. 10,
БЦ «Башня на Набережной» (блок С)
тел.: + 7 (495) 287-50-00,
факс: + 7 (495) 287-53-00



Служба медицинской информации
MedInfo.Russia@Pfizer.com
Доступ к информации о рецептурных препаратах Pfizer
на интернет-сайте www.pfizermedinfo.ru
PP-ZVA-RUS-0439 23.01.2025



Общая характеристика
лекарственного препарата
Завицефта®
ЛП-№(004632)-(PF-RU)