

ISSN 0235-2990

АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

Том 64



7-8'2019

Научно-практический журнал

Жизнь продолжается! Цитофлавин

Комплекс для восстановления
метаболизма нейронов

- показан при симптомах неврастении (снижении умственной и физической работоспособности) ¹
- положительно влияет на когнитивно-мнестические функции ²
- снижает симптомы постинфекционной астении ³



Включен в
ЖНВЛП

www.polysan.ru

РЕКЛАМА. Регистрационный номер ЛС-001767 от 13.09.2011

Литература:

1. Инструкция по медицинскому применению препарата Цитофлавин.

2. Суслина Э.А. и соавт. «Коррекция астеноневротического синдрома (по материалам многоцентрового рандомизированного исследования)» // Журнал «Фармация. Главный врач», 2007, №2.

3. Шабанов П. Д. и соавт. «Синтетические индукторы интерферона в лечении и профилактике острых воспалительных заболеваний дыхательных путей» // Журнал «Поликлиника», 2015, №3.

Учредители:

Министерство здравоохранения
Российской Федерации

Государственный научный
центр по антибиотикам

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

«Antibiotics and Chemotherapy»

Issued 12 times a year
Since 1956

АДРЕС РЕДАКЦИИ:

117105 Москва, Нагатинская ул., д. За.
ГНЦА
Тел.: 8-499-611-20-77
Факс: 8-499-611-42-38
E-mail: journalgnca@yandex.ru
Зав. редакцией А. Б. Смирнова
Сайт: www.antibiotics-chemotherapy.ru

ОТДЕЛ РЕКЛАМЫ:

Тел.: 8-499-611-20-77
Факс: 8-499-611-42-38
E-mail: gncajournal@yandex.ru
А. И. Гусак

ИЗДАТЕЛЬ:

Издательство «ОКИ»



Подписка по каталогу Роспечать:

- индекс **71404** — для индивидуальных подписчиков
- индекс **71405** — для предприятий и организаций

Подписка через объединённый каталог
«Пресса России»:

- индекс **10659** — для индивидуальных подписчиков
- индекс **10660** — для предприятий и организаций

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

Установочный тираж 5000 экз.

© ГНЦА 2019

Типография:

ООО «Литера»

Дата выхода: 2019

Свободная цена

АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

ANTIBIOTICS AND CHEMOTHERAPY

Том 64

7—8'2019

ЕЖЕМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ
MONTHLY JOURNAL

Главный редактор
профессор, д. м. н. Сидоренко С. В.

Зам. главного редактора
Чл.-корр. РАН, профессор, д. б. н. Фирсов А. А.

Зам. главного редактора
профессор, д. м. н. Яковлев С. В.

Отв. за выпуск — Белоусов Д. Ю.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Профессор, д. м. н. Белобородов В. А.
Академик РАН, профессор, д. б. н. Говорун В. М.
Профессор, д. б. н. Ильина Е. Н.
Профессор, д. м. н. Клишко Н. 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.
Д. х. н. Тевяшова А. Н.
Профессор, д. х. н. Тишков В. Н.
Чл.-корр. РАН, профессор, д. б. н. Тутельян А. В.
Профессор, д. м. н. Шляпников С. А.
Профессор РАН, д. х. н. Щекотихин А. Е.

Научные редакторы

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

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Беседнова Н. Н.	Зуева Л. П.
Бибикова М. В.	Клясова Г. А.
Васильев А. Н.	Ленёва И. А.
Волжанин В. М.	Митрохин С. Д.
Дмитриева Н. В.	Сычев Д. А.
Долгова Г. В.	Тец В. В.
Захарова Ю. А.	Ших Е. В.

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

Оригинальные статьи

- Королева Л. С., Яринич Л. А., Семенова О. В.,
Глотов А. Г., Глотова Т. И., Сильников В. Н.
Синтез и противовирусная активность
бисгистидилдиаминоalkanов в отношении *Feline calicivirus*
Павлович Н. В., Цимбалистова М. В.
Повышение антибактериальной активности
цефалоспоринов в отношении *Francisella tularensis*
Антосюк О. Н., Пайдиева К. Т.
Изменение токсических свойств метотрексата
при воздействии экстремальных температур
в период развития *Drosophila melanogaster*
Логинова С. Я., Шуккина В. Н., Борисевич С. В.,
Хамитов Р. А., Максимов В. А., Шустер А. М.
Изучение эффективности Арбидола®
при экспериментальной форме тяжёлого
острого респираторного синдрома

В помощь практикующему врачу

- Фоминых С. Г., Данилов А. И.,
Гонношенко В. Н., Кальченко Е. В.
Интервальный прогноз величины долей доминирующих
раневых патогенов в этиологической структуре
раневых инфекций и оценка потенциальной
эффективности антимикробных препаратов
Андреева И. В., Стецюк О. У., Довгань Е. В., Соловьева Л. М.
Непреднамеренная передозировка азитромицином
и длительная терапия амоксициллином/клавуланатом
без развития гепатотоксического действия у пациентки
с сахарным диабетом I типа: описание случая
Парфенов С. А., Тучин И. А.
Обоснование возможности применения антиоксидантных
препаратов с целью профилактики
внебольничной пневмонии у военнослужащих,
проходящих военную службу по призыву
Кочеровец В. И.
Актуальные вопросы теории и практики применения
топических препаратов метронидазола в дерматологии

Обзоры

- Андрюков Б. Г., Михайлов В. В., Беседнова Н. Н.
Антимикробная активность вторичных метаболитов
морских бактерий
Петров А. А., Лебедев В. Н., Сизикова Т. Е.,
Плеханова Т. М., Борисевич С. В.
Анализ применения антисмысловых олигонуклеотидов
для профилактики и лечения опасных
и особо опасных вирусных инфекционных заболеваний
Орлов Ю. П.
Митохондриальная дисфункция
как проблема критических состояний.
Роль сукцинатов. Миф или реальность завтрашнего дня?
Стуров Н. В., Попов С. В., Лесная О. А.
Этиотропная терапия острого цистита у беременных
Хрянин А. А., Решетников О. В.
Микоплазменная инфекция в патологии человека
и роль антибактериальных препаратов

Изменения в статье

- Брико Н. И., Фельдблюм И. В., Бикмиева А. В.,
Авдеев С. Н., Драпкина О. М., Игнатова Г. Л.,
Демко И. В., Жестков А. В.
Вакцинопрофилактика взрослого населения
против пневмококковой инфекции
2019; 64: 1–2: 37–43

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

Original Papers

- 3 Koroleva L. S., Yarinich L. A., Semenova O. V.,
Glotov A. G., Glotova T. I., Silnikov V. N.
Synthesis and Antiviral Activity of Bis-Histidyl Diaminoalkanes
in Relation to *Feline calicivirus*
8 Pavlovich N. V., Tsimbalistova M. V.
Increased Antibacterial Activity of Cephalosporins against
Francisella tularensis
13 Antosyuk O. N., Paydiyeva K. T.
Change of Toxic Properties of the Methotrexate
when Exposed to Extreme Temperatures
During Development of *Drosophila melanogaster*
19 Loginova S. Ya., Shchukina V. N., Borisevich S. V.,
Khamitov R. A., Maksimov V. A., Shuster A. M.
Analysis of Arbidol® Effectiveness
against an Experimental Form
of Severe Acute Respiratory Syndrome

Guidelines for Practitioners

- 24 Fominykh S. G., Danilov A. I.,
Gonnoshenko V. N., Kalchenko E. V.
Interval Prediction of the Proportion
of Dominant Wound Pathogens in the Etiological Structure
of Wound Infections and Evaluation of the Potential
Effectiveness of Antimicrobial Agents
31 Andreeva I. V., Stetsyuk O. U., Dovgan E. V., Solovieva L. M.
Unintentional Azithromycin Overdose
and Prolonged Therapy with Amoxicillin/Clavulanate
without the Development of Hepatotoxicity in a Patient
with Type I Diabetes: Case Description
34 Parfenov S. A., Tuchin I. A.
Substantiation of Antioxidant Drug Use
for the Prevention of Community-Acquired Pneumonia
in Military Personnel Serving
in Conscription
38 Kocherovets V. I.
Theory and Practice of the Use of Metronidazole Topical
Preparations in Dermatology

Reviews

- 44 Andryukov B. G., Mikhailov V. V., Besednova N. N.
Antimicrobial Activity of Secondary Metabolites
of Marine Bacteria
56 Petrov A. A., Lebedev V. N., Sizikova T. E.,
Plekhanova T. M., Borisevich S. V.
Analysis of Use of Antisense Oligonucleotides
for Prevention and Treatment of Hazardous
and Extremely Hazardous Viral Infectious Diseases
63 Orlov Yu. P.
Mitochondrial Dysfunction as a Problem
in Critically Ill Patients. The Role of Succinates:
Myth or Tomorrow's Reality?
69 Sturov N. V., Popov S. V., Lesnaya O. A.
Causal Treatment of Acute Cystitis in Pregnant Women
75 Khryanin A. A., Reshetnikov O. V.
Mycoplasma Infection in Human Pathology
and the Role of Antibacterial Drugs

Changes in the Article

- 84 Briko N. I., Feldblum I. V., Bikmиеva A. V.,
Avdeev S. N., Drapkina O. M., Ignatova G. L.,
Demko I. V., Gestkov A. V.
Vaccine Prophylaxis of the Adult Population
Against Pneumococcal Infection
2019; 64: 1–2: 37–43

* 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.

Синтез и противовирусная активность бисгистидилдиаминоalkanов в отношении *Feline calicivirus*

*Л. С. КОРОЛЕВА¹, Л. А. ЯРИНИЧ¹, О. В. СЕМЕНОВА²,
А. Г. ГЛОТОВ², Т. И. ГЛОТОВА², В. Н. СИЛЬНИКОВ¹

¹ ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

² ФГБУН Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук, Новосибирск

Synthesis and Antiviral Activity of Bis-Histidyl Diaminoalkanes in Relation to *Feline calicivirus*

*L. S. KOROLEVA¹, L. A. YARINICH¹, O. V. SEMENOVA²,
A. G. GLOTOV², T. I. GLOTOVA², V. N. SILNIKOV¹

¹ Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, SB of the RAS, Novosibirsk

² Siberian Federal Scientific Centre of Agro-BioTechnologies of the RAS, Novosibirsk

РНК-содержащий вирус рода *Vesivirus*, семейства *Caliciviridae* вызывает калицивироз у кошачьих — болезнь, распространённую во всем мире. В литературе описана системная форма инфекции, приводящая к гибели до 60% больных животных (FCV-VSD). В связи с отсутствием средств этиотропной терапии калицивирусной инфекции кошек (а также других млекопитающих и человека), важной задачей является поиск новых химических препаратов, способных эффективно ингибировать процесс репродукции вируса. В качестве противовирусных препаратов предложено использовать искусственные рибонуклеазы (иРНКазы) — низкомолекулярные соединения, способные эффективно расщеплять геномную РНК. В работе синтезированы 3 новых N,N'-бис-L-гистидилдиаминоalkanов, изучена токсичность и противовирусная активность соединений в отношении РНК-содержащего *Feline calicivirus* (FCV). Наибольший противовирусный эффект в отношении FCV показал N,N'-бис-N^α-L-гистидил-1,10-диаминодекан.

Ключевые слова: противовирусная активность, *Feline calicivirus*, искусственные рибонуклеазы.

An RNA-containing virus of the *Vesivirus* genus *Caliciviridae* family causes feline caliciviriosis, a disease widely spread worldwide. The literature describes a systemic form of infection leading to the death of up to 60% of sick animals (FCV-VSD). It is very important to find new chemicals that can effectively inhibit the process of reproduction of the virus due to the lack of means of etiotropic therapy for calicivirus infection in cats (as well as other mammals and humans). It is proposed to use artificial ribonuclease (mRNAse) - low molecular weight compounds capable of efficiently cleaving genomic RNA as antiviral drugs. Three new N,N'-bis-L-histidyl-diaminoalkanes were synthesized in the course of the work, the toxicity and antiviral activity of compounds against RNA-containing *Feline Calicivirus* (FCV) were studied. The greatest antiviral effect against FCV was shown by N,N'-bis-N^α-L-histidyl-1,10-diaminodecane.

Keywords: antiviral activity, *Feline Calicivirus*, artificial ribonuclease.

В последние годы, в связи с прогрессом в области молекулярного дизайна, появились принципиально новые возможности в конструировании противовирусных препаратов, направленных на конкретную молекулярную мишень, присутствующую у вируса и отсутствующую в клетках хозяина [1]. Однако, несмотря на очевидные преимущества такого подхода (высокая эффективность, низкая токсичность), у подобных препаратов есть один принципиальный недостаток. Будучи высокоспецифичными, при значительной вариабельности вирус-

ных белков, являющихся основной мишенью, даже при незначительном изменении структуры последних, препараты теряют свою активность. В конечном итоге для профилактики и лечения различных инфекционных заболеваний предпочтение отдаётся препаратам, обладающим возможно более широким спектром противовирусной активности.

Ранее нами в качестве противовирусных препаратов было предложено использовать искусственные рибонуклеазы (иРНКазы) — низкомолекулярные соединения, способные эффективно расщеплять геномную РНК различных вирусов [2–4]. Несмотря на сложность организации третичной структуры вирусных РНК, в таких молекулах присутствует достаточное количество

© Коллектив авторов, 2019

*Адрес для корреспонденции: 630090, Новосибирск, проспект Лаврентьева 8. Институт химической биологии и фундаментальной медицины

структурных элементов в виде одноцепочечных петель, фосфодиэфирные связи в которых легко расщепляются под действием иРНКаз [5, 6]. Одноцепочечные разрывы в РНК вызывают необратимую инактивацию вируса, при этом отсутствуют механизмы адаптации к таким повреждениям.

В настоящей работе нами сделана оценка противовирусной активности трёх иРНКаз (I–III) в отношении РНК-содержащего вируса рода *Vesivirus*, семейства *Caliciviridae*. Данный вирус вызывает калицивироз у кошачьих — болезнь, распространённую во всем мире, в том числе и в России, протекающую в форме острой и хронической инфекции с преимущественным поражением слизистой ротовой полости и верхних дыхательных путей, характеризующихся ринитом, конъюнктивитом, стоматитом и изъязвлением эпителия верхних дыхательных путей и ротовой полости. Реже встречаются язвенный дерматит, хромота, аборт, желтуха, тяжёлая форма пневмонии и внезапный летальный исход. В литературе описана системная форма инфекции, приводящая к гибели до 60% больных животных (FCV-VSD) [7–9]. Семейство *Caliciviridae* включает четыре рода: *Norovirus*, *Sapporovirus*, *Lagovirus* и *Vesivirus*, представители которого — мелкие безоболочечные РНК-содержащие вирусы, вызывающие заболевания у различных видов млекопитающих животных и человека. Известно, что эти вирусы наиболее подвержены мутационной изменчивости, позволяющей им легко уклоняться от иммунного ответа. По данным ряда исследователей, применение вакцин против калицивирусной инфекции кошек не всегда эффективно, поскольку для FCV характерна высокая скорость эволюционных изменений [10]. В связи с отсутствием средств этиотропной терапии калицивирусной инфекции кошек (а также других млекопитающих и человека), важной задачей является поиск новых химических препаратов, способных эффективно ингибировать процесс репродукции вируса [11].

Материал и методы

Экспериментальная химическая часть. В работе были использованы: L-гистидин моногидрат, (FisherBiotech, США), N,N дициклогексилкарбодиимид, (CD3)2SO (Aldrich, США), N-гидроксисукцинимид, N,N этилдиизопропиламин (Sigma-Aldrich, США). Остальные химические реактивы и растворители — отечественного производства квалификации «х. ч.» и «ос. ч.», очищенные, в случае необходимости, по стандартным методикам [12].

Спектры ЯМР записаны на спектрометрах «BrukerAV-300» и «BrukerAM-400» (Германия). Для ¹H ЯМР-спектров использовали тетраметилсилан или сигналы остаточных протонов растворителей в качестве внутреннего стандарта. Химические сдвиги приведены в шкале δ, м. д., константы спин-спинового взаимодействия J в Гц.

Для колоночной хроматографии использовали силикагель AcrosOrganics 60, 35 70 мкм (США). Разделение реакционных смесей с помощью хроматографии на силикагеле про-

водили в системах растворителей: градиент этанола 0–10% в хлористом метиле (градиент А). ESI масс-спектры записывали на масс-спектрометре LC/MSDTrapXCTAgilent 1100 series (Agilent, Германия), в качестве растворителя использовали метанол.

Органический синтез. Введение трет-бутилоксикарбонильной защиты по аминокетонам аминокислот и синтез N-гидроксисукцинимидных эфиров аминокислот проводили согласно стандартным методикам [13].

Общая методика синтеза соединений I–III. К раствору соответствующего диамина (2,4 ммоль) и этилдиизопропиламина (5 ммоль) в 10 мл этилацетата добавляли при перемешивании раствор N-гидроксисукцинимидного эфира N^α,N^m-ди-трет-бутилоксикарбонил-гистидина (5 ммоль) в 5 мл этилацетата. Реакционную смесь перемешивали 24 ч при 22°C. Затем в реакционную смесь добавляли N,N-диметилэтилендиамин (1 ммоль) и перемешивали 30 мин. Реакционную смесь промывали последовательно 2% раствором лимонной кислоты (20 мл), водой (20 мл), насыщенным раствором NaHCO₃ (20 мл) и водой (20 мл). Органический слой сушили безводным Na₂SO₄. Растворитель удаляли в вакууме. Полученную пену сушили в вакууме. Очистку продукта проводили с помощью хроматографии на силикагеле (система А). Фракции, содержащие целевое вещество, упаривали, сушили в вакууме. Остаток после упаривания растворяли в смеси TFA:CH₂Cl₂=1:1 (5 мл) и выдерживали реакционную смесь 2 ч при комнатной температуре. Растворитель и TFA удаляли в вакууме, остаток упаривали с этанолом (3×10 мл).

N,N'-бис-N^α-L-гистидил-1,8-диаминооктан (I). Выход: 52%. ¹H-ЯМР (D₂O, δ): 1,09 (м, 12 H, -NH-CH₂-(CH₂)₆-CH₂-NH-); 3,08 (м, 4H, 2CH₂H^{is}); 3,28 (м, 4H, -NH-CH₂-(CH₂)₆-CH₂-NH-); 4,11 (т, 2H, 2CHNH^{is}, J 7,52); 7,34 (с, 2H, 2H(5)); 8,63 (с, 2H, 2H(2)). ¹³C-ЯМР (D₂O, δ): 25,63 (-NH-(CH₂)₈-NH-); 27,89 (-NH-(CH₂)₈-NH-); 39,37 (-NH-(CH₂)₈-NH-); 52,17 (CHNH^{is}); 65,54 (CH₂H^{is}); 117,87 (CH^{Im}); 125,97 (C^{Im}); 167,01 (CONH). MALDI-MS, m/z 419,15 [M+H]⁺, C₂₀H₃₄N₈O₂, 418,28.

N,N'-бис-N^α-L-гистидил-1,9-диаминононан (II). Выход: 55%. ¹H-ЯМР (D₂O, δ): 1,24 (м, 14 H, -NH-CH₂-(CH₂)₇-CH₂-NH-); 3,12 (м, 2H, -NH-CH₂-(CH₂)₇-CH₂-NH-); 3,23 (м, 2H, -NH-CH₂-(CH₂)₇-CH₂-NH-); 3,36 (м, 4H, 2CH₂H^{is}); 4,19 (т, 2H, 2CHNH^{is}, J 7,12); 7,43 (с, 2H, 2H(5)); 8,72 (с, 2H, 2H(2)). ¹³C-ЯМР (D₂O, δ): 25,63 (-NH-(CH₂)₉-NH-); 28,08 (-NH-(CH₂)₉-NH-); 39,37 (-NH-(CH₂)₉-NH-); 51,80 (CHNH^{is}); 65,73 (CH₂H^{is}); 117,87 (CH^{Im}); 125,97 (C^{Im}); 167,01 (CONH). MALDI-MS, m/z 433,20 [M+H]⁺, C₂₁H₃₆N₈O₂, 432,30.

N,N'-бис-N^α-L-гистидил-1,10-диаминодекан (III). Выход: 60%. ¹H-ЯМР (D₂O, δ): 1,26 (м, 16 H, -NH-CH₂-(CH₂)₈-CH₂-NH-); 3,11 (м, 2H, -NH-CH₂-(CH₂)₈-CH₂-NH-); 3,23 (м, 2H, -NH-CH₂-(CH₂)₈-CH₂-NH-); 3,38 (м, 4H, 2CH₂H^{is}); 4,20 (т, 2H, 2CHNH^{is}, J 7,22); 7,44 (с, 2H, 2H(5)); 8,74 (с, 2H, 2H(2)). ¹³C-ЯМР (D₂O, δ): 28,14 (-NH-(CH₂)₁₀-NH-); 30,58 (-NH-(CH₂)₁₀-NH-); 41,88 (-NH-(CH₂)₁₀-NH-); 54,68 (CHNH^{is}); 65,73 (CH₂H^{is}); 120,57 (CH^{Im}); 128,29 (C^{Im}); 169,88 (CONH). MALDI-MS, m/z 447,23 [M+H]⁺, C₂₂H₃₈N₈O₂, 446,31.

Экспериментальная биологическая часть. В работе использовали однодневный монослой перевиваемой культуры клеток почки котёнка — FK-81, которую выращивали во флаконах для клеточных культур (Nunc, Дания) в среде Игла MEM (производство ФГУП «Предприятие по производству бактерийных и вирусных препаратов Института полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М. П. Чумакова РАМН») с добавлением 5±0,5% фетальной бычьей сыворотки (Fetal Bovine serum Standard Quality; PAA Laboratories GmbH, Austria; Cat №: A15-101; Lot № A10109-2946).

Вирус. Цитопатогенный штамм «Ларс-30-ДЕП» Feline Calicivirus, (Патент RU 2184567, МПК A61K39/125, C12N7/00, опубл. 10.07.2002 г.), полученный на территории России, депонированный в коллекции культур микроорганизмов ВГНКИ. Штамм размножен в культуре клеток FK-81. Инфекционный титр вируса составлял 5 lg ТЦД₅₀/мл.

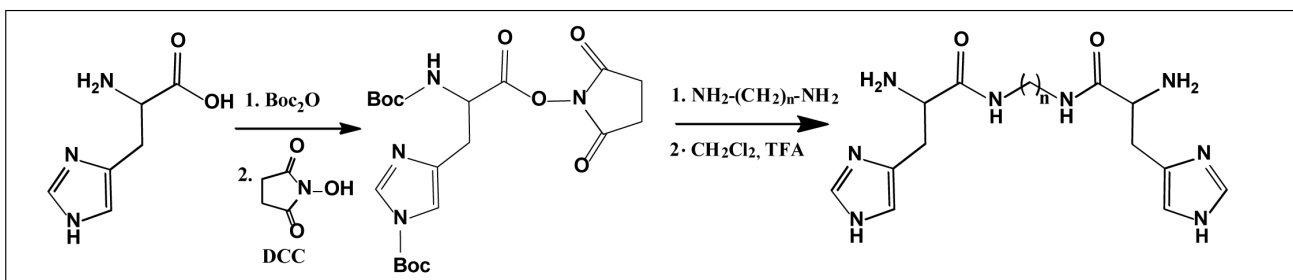


Рис. 1. Схема синтеза соединений I–III.

Таблица 1. Результаты определения цитотоксической концентрации соединений I–III

Соединение	ЦК ₅₀ соединения, мкг/мл	ПНК соединения, мкг/мл	МПК соединения, мкг/мл
I	655,5	437,0	163,9
II	667,5	445,0	166,9
III	678,8	452,5	169,7

Примечание. ЦК₅₀ — цитотоксическая концентрация соединения, вызывающая гибель 50% клеток монослоя; ПНК — предельная нетоксичная концентрация соединения; МПК — максимально переносимая концентрация.

Определение цитотоксического действия соединений. Соединения вносили в различных разведениях (от 905 мкг/мл до 0,0001 мкг/мл) в монослой незаражённой перевиваемой культуры клеток почки котёнка FK-81, выращенной в 96-луночных планшетах. Клетки инкубировали с соединением в течение 3–4 сут. при 37°C в атмосфере 5% CO₂, после чего оценивали состояние клеточного монослоя визуально под инвертированным микроскопом.

По окончании инкубации производили подсчёт жизнеспособных клеток, предварительно окрашенных трипановым синим, в камере Горяева. По концентрационно-зависимой кривой определяли цитотоксическую концентрацию соединений, вызывающую гибель 50% клеток — ЦК₅₀. Предельную нетоксичную концентрацию соединения (ПНК) определяли по максимальной концентрации соединения, не вызывающей деструктивных изменений в монослое культур клеток FK-81. Максимально переносимую концентрацию (МПК) соединения определяли по формуле: МПК = ЦК₅₀/4 [14].

Определение противовирусного действия соединений. Противовирусную активность определяли путём экспозиции соединений с вирусосодержащим материалом. Использовали цитотоксическую концентрацию соединений, вызывающую гибель 50% клеток, предельно нетоксичную и максимально переносимую концентрацию исследуемых соединений. Работу проводили с тремя заражающими дозами вируса — 100, 1000 и 10000 тканевых цитопатических доз (ТЦД_{50/мл} — единица дозы вируса в суспензии, вызывающая гибель 50% клеток). К 1 мл вирусной суспензии с определённой инфекционной активностью добавляли соединения в ЦК₅₀, ПНК и МПК, инкубировали 60 мин при температуре 37°C. В качестве контрольного образца использовали вирусосодержащую суспензию, не обработанную соединениями. Инфекционный титр вируса FCV в контрольных и опытных образцах определяли методом титрования в культуре клеток FK-81. Результаты учитывали через 72 ч. Противовирусный эффект у соединений оценивали по разнице инфекционной активности вируса в опытных и контрольных образцах. Инфекционный титр вируса учитывали по методу Рида–Менча и выражали в ТЦД_{50/мл}.

Соединением, обладающим выраженным противовирусным действием, считали соединение, подавляющее размножение тест-вируса в культуре клеток на 1,7–2,0 lg_{50/мл} [14].

Результаты исследования

В данной работе синтезированы соединения I–III, полученные путём конденсации активированного эфира гистидина с различными диамино-

алканами (1,8-диаминооктан, 1,9-диаминононан и 1,10-диаминодекан). Для защиты α-аминогруппы гистидина вводили трет-бутилоксикарбонильный остаток. Пептидоподобные соединения были синтезированы методом активированных эфиров, активацию проводили N-гидроксисукцинимидом в присутствии дициклогексилкарбодиимида (рис. 1).

При исследовании в культуре клеток FK-81 цитотоксического действия соединений I–III определены ЦК₅₀, ПНК и МПК для каждого из исследованных препаратов (табл. 1).

В дальнейших исследованиях использовали две концентрации (ПНК и МПК) соединений для определения их противовирусной активности по отношению к FCV.

ПНК соединений составили: 437 мкг/см³ — для вещества I, 452,5 мкг/см³ — III, 445,0 мкг/см³ — II. ЦК₅₀ находилась в пределах 655,5–678,8 мкг/см³, а МПК — 163,9–169,7 мкг/см³.

При определении противовирусной активности тестируемых соединений использовали три заражающих дозы вируса FCV штамма «Ларс-30-ДЕП»: 100, 1000 и 10000 ТЦД_{50/мл} на клетку.

Результаты определения противовирусной активности соединений I–III представлены в табл. 2 и на рис. 2. При заражающей дозе вируса 100 ТЦД_{50/мл} препараты III и I в ПНК и МПК снижали инфекционный титр FCV не менее чем на 1,7 lg ТЦД_{50/мл}, что свидетельствует о наличии у них выраженного противовирусного эффекта. МПК препарата II снижала титр вируса на 0,75 lg ТЦД_{50/мл}. Увеличение концентрации соединения до ПНК приводило к снижению инфекционной активности вируса на 1,25 lg ТЦД_{50/мл}.

Инфекционный титр тест-вируса в контрольных образцах при заражающей дозе 1000 ТЦД_{50/мл} ниже на 0,25 lg ТЦД_{50/мл}, чем в предыдущем опыте, и составил 4,75 lg ТЦД_{50/мл}. Применение ПНК соединений III и I приводило к снижению

Таблица 2. Противовирусная активность соединений I–III. Воздействие на репродукцию FCV в культуре клеток FK-81

Заражающая доза вируса (ТЦД _{50/мл})	Инфекционный титр вируса в контрольных образцах lg ТЦД _{50/мл}	I		II		III	
		МПК	ПНК	МПК	ПНК	МПК	ПНК
		163,8	437	166,9	445	169,7	452,5
		МКГ/МЛ	МКГ/МЛ	МКГ/МЛ	МКГ/МЛ	МКГ/МЛ	МКГ/МЛ
100	5,00±0,14	3,25±0,09	3,00±0,14	4,25±0,08	3,75±0,12	2,5±0,05	2,00±0,14
1000	4,75±0,12	3,00±0,14	2,50±0,05	4,25±0,08	3,50±0,05	2,25±0,08	1,75±0,12
10000	4,00±0,14	2,25±0,08	2,00±0,14	3,75±0,12	3,00±0,14	2,00±0,14	1,25±0,08

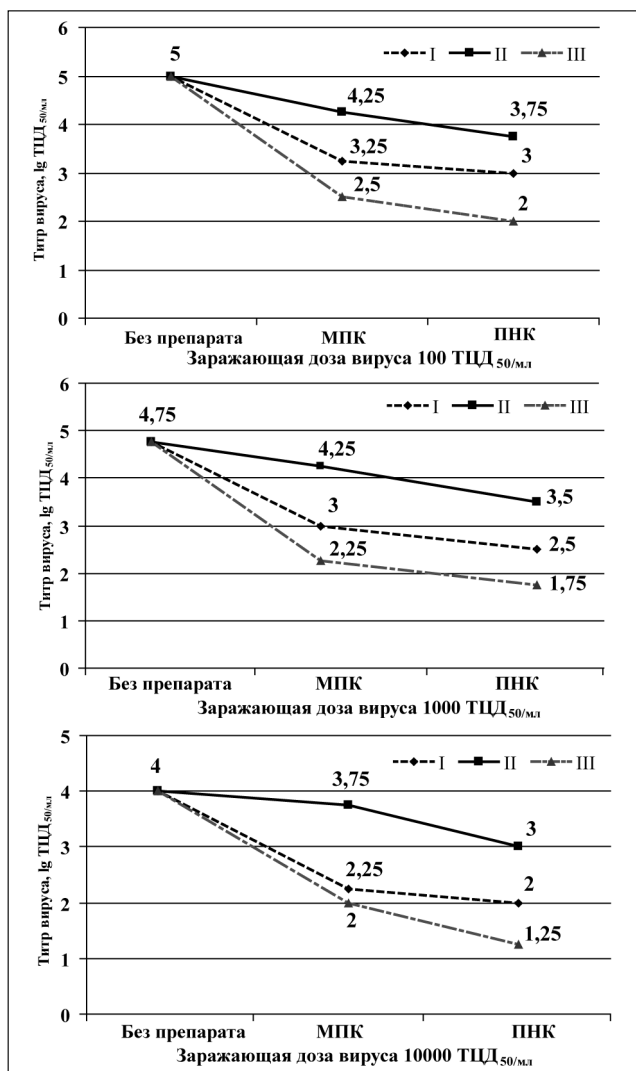


Рис. 2. Противовирусная активность соединений I–III. Воздействие на репродукцию FCV в культуре клеток FK-81

инфекционного титра FCV не менее чем на 2,25 lg ТЦД_{50/мл}, а МПК — не менее чем на 1,75 lg ТЦД_{50/мл}. Соединение II в ПНК снижал инфекционный титр тест-вируса на 1,25 lg ТЦД_{50/мл}, а МНК — на 0,50 lg ТЦД_{50/мл}.

В контрольных образцах инфекционный титр вируса составил 4,00 lg ТЦД_{50/мл}. Препараты III и I в ПНК снизили значение титра тест-вируса не менее чем на 2,00 lg ТЦД_{50/мл}, а в МПК — не менее чем на 1,75 lg ТЦД_{50/мл}. Препарат II в предельно нетоксичной концентрации приводил к незначительному подавлению репродукции тестируемого вируса.

Таким образом, максимальный противовирусный эффект (снижение инфекционной активности вируса в МПК на 2,5 lg ТЦД_{50/мл}, ПНК на 3,0 lg ТЦД_{50/мл} при заражающей дозе вируса 100 ТЦД_{50/мл}) в отношении FCV показало соединение III, которое в максимально переносимой концентрации снижало инфекционный титр тест-вируса не менее чем на 2,00 lg ТЦД_{50/мл} при заражающих дозах тест-вируса 100, 1000 и 10000 ТЦД_{50/мл}. Соединение I являлось также активным в отношении FCV, поскольку снижало его инфекционную активность в МПК не менее чем на 1,75 lg ТЦД_{50/мл} при всех испытанных заражающих дозах тест-вируса. Соединение II снижало инфекционную активность FCV не более чем на 1,25 lg ТЦД_{50/мл} в ПНК и на 0,75 lg ТЦД_{50/мл} в МПК. Этот факт свидетельствует об отсутствии у него выраженных противовирусных свойств. Наиболее оптимальной заражающей дозой тест-вируса является 100 ТЦД_{50/мл}, при которой наблюдается более активное размножение вирусных частиц в контрольных образцах, значение инфекционного титра вируса в контроле достигает 5,00 lg ТЦД_{50/мл}.

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке ПФНИ ГАН (VI.62.1.4, 0309-2016-0004) «Интеллектуальные материалы для биомедицины».

M.A. Inactivation of a non-enveloped RNA virus by artificial ribonucleases: Honey bees and Acute bee paralysis virus as a new experimental model for *in vivo* antiviral activity assessment. *Antiviral Res* 2011; 91: 267–277.

ЛИТЕРАТУРА

1. De Clercq E. The design of drugs for HIV and HCV. *Nat Rev Drug Discov* 2007; 6 (12): 1001–1018.
2. Королева Л.С., Свищева Н.С., Буракова Е.А., Грибкова Н.В., Шмелева Н.П., Рустамова Л.М., Сабынин В.М., Сильников В.Н. Синтез и противовирусная активность искусственных рибонуклеаз. *Химико-фармацевтический журнал*. — 2010. — Т. 44. — №12. — С. 33–37. / Koroleva L.S., Svishcheva N.S., Burakova E.A., Sil'nikov V.N., Gribova N.V., Schmeleva N.P., Rustamova L.M., Sabyinin V.M. Synthesis and anti-influenza activity of artificial ribonucleases. *Pharmaceutical Chemistry Journal* 2010; 44 (12): 679–682. [in Russian]
3. Fedorova A.A., Azzami K., Ryabchikova E.I., Spitsyna Y.E., Silnikov V.N., Ritter W., Gross H.J., Tautz J., Vlassov V.V., Beier H., Zenkova

4. Fedorova A.A., Goncharova E.P., Koroleva L.S., Burakova E.A., Ryabchikova E.I., Bichenkova E.V., Silnikov, V.N., Vlassov, V.V., Zenkova M.A. Artificial ribonucleases inactivate a wide range of viruses using their ribonuclease, membranolytic, and chaotropic-like activities. *Antiviral Res* 2016; 133: 73–84.

5. Власов В.В., Сильников В.Н., Зенкова М.А. Химические рибонуклеазы. *Молекулярная биология*. — 1998. — Т. 32. — № 1. — С. 50–57. / Vlasov V.V., Sil'nikov V.N., Zenkova M.A. Chemical ribonucleases. *Molecular Biology* 1998; 32 (1): 62–70. [in Russian]

6. Niittymäki T., Lonnberg H. Artificial ribonucleases. *Org Biomol Chem* 2006; 4: 15–25.
7. Geissler K., Schneider K., Platzer G., Truyen B., Kaaden O.R., Truyen U. Genetic and antigenic heterogeneity among feline calicivirus isolates from distinct disease manifestations. *Virus Res* 1997; 48: 192–206.
8. Radford A.D., Coyne K.P., Dawson S., Porter C.J., Gaskell R.M. Feline calicivirus. *Vet Res* 2007; 38: 319–335.
9. Taharaguchi S., Matsuiro T., Harima H., Sato A., Ohe K., Sakai S., Takahashi T., Hara M. Suppression of feline calicivirus replication using small interfering RNA targeted to its polymerase gene. *Biocontrol Science* 2012; 17 (2): 87–91.
10. Tumbarski J., Galabov A. Effect of some picornavirus inhibitors on the replication of feline calicivirus (FCV) in CrFK cells. *Trakia J of Sciences* 2008; 6: 127–132.
11. Hay A.J., Wolstenholme A.J., Skehel J.J., Smith M.H. The molecular basis of the specific anti-influenza action of amantadine. *EMBO J* 1985; 5: 3021–3024.
12. Гордон А., Форд Р. Спутник химика. Мир, М.: 1976 / Gordon A.J., Ford R.A. The chemist's companion. Mir, Moscow, 1976. [in Russian]
13. Гершкович А.А., Кибирев В.К. Синтез пептидов. Реагенты и методы. — 1987. — Наукова думка. Киев. / Gershkovich A.A., Kibirev V. K. Sintez peptidov. Reagenty i metody. 1987. Naukova Dumka: Kiev. [in Russian]
14. Мионов А.Н., Бунатян Н.Д. и др. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. Гриф и К. М.: 2012. / Mironov A.N., Bunatyan N. D. i dr. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Moscow, 2012. [in Russian]

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Королева Людмила Сергеевна — к. х. н., н. с. Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (ИХБФМ СО РАН); Новосибирск

Яринич Любовь Александровна — м. н. с., Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (ИХБФМ СО РАН), Новосибирск

Семенова Ольга Владимировна — к. б. н., с. н. с., Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук (СФНЦА РАН), Новосибирск

Глотов Александр Гаврилович — д. вет. н., профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук (СФНЦА РАН), Новосибирск

Глотова Татьяна Ивановна — д. б. н., профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук (СФНЦА РАН), Новосибирск

Сильников Владимир Николаевич — д. х. н., г. н. с., Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (ИХБФМ СО РАН), Новосибирск

Повышение антибактериальной активности цефалоспоринов в отношении *Francisella tularensis*

*Н. В. ПАВЛОВИЧ, М. В. ЦИМБАЛИСТОВА

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону

Increased Antibacterial Activity of Cephalosporins against *Francisella Tularensis*

*N. V. PAVLOVICH, M. V. TSIMBALISTOVA

FGHI Rostov-on-Don Antiplague Institute of Rospotrebnadzor, Rostov-on-Don

Цель. Изучение влияния поверхностно-активных веществ на уровень резистентности тулярийного микроба к бета-лактамам (пенициллины и цефалоспорины). **Материал и методы.** В работе использовали 26 штаммов *Francisella tularensis* трёх основных подвидов. Влияние ПАВ на устойчивость бактерий к бета-лактамам изучали методом серийных разведений в плотной питательной среде без и в присутствии субингибирующих концентраций детергентов. **Результаты.** Показано, что катионные и анионные детергенты не влияют на устойчивость *F. tularensis* к цефалоспорином III поколения. Впервые установлено, что неионогенные детергенты достоверно снижают уровень природной резистентности *F. tularensis* к цефалоспорином (в 10–20 раз). При этом все изученные ПАВ не приводили к снижению устойчивости возбудителя туляремии к ампициллину. Анализ полученных результатов по различному влиянию неионогенных детергентов на устойчивость возбудителя туляремии к пенициллинам и цефалоспорином свидетельствует в пользу того, что устойчивость *F. tularensis* к этим антибиотикам формируется с помощью различных механизмов. Использование цефтазидима в сочетании с неионогенными детергентами при экспериментальной туляремии белых мышей приводило к улучшению показателей эффективности этиотропной терапии инфекции. Принимая во внимание актуальность проблемы совершенствования схем этиотропной терапии инфекционных заболеваний, вызванных антибиотикорезистентными формами возбудителей, нам представляется перспективным дальнейшее продолжение исследования в данном направлении.

Ключевые слова: *Francisella tularensis*, поверхностно-активные вещества, резистентность, бета-лактамы, антибиотики.

The aim of the study is to determine the effect of surfactants on the level of resistance of tularemia microbe to β -lactam antibiotics (penicillins and cephalosporins). **Material and methods.** 26 strains of *F. tularensis* of the three main subspecies were used in the study. The effect of surfactants on the resistance of bacteria to β -lactam antibiotics was studied by serial dilutions in a dense nutrient medium with and without subinhibitory concentrations of detergents. **Results.** It was shown that cationic and anionic detergents do not affect the resistance of *F. tularensis* to third generation cephalosporins. It was found for the first time that nonionic detergents significantly reduce the level of natural resistance of *F. tularensis* to cephalosporins (10–20 times). Moreover, all studied surfactants did not lead to a decrease in the resistance of the tularemia pathogen to ampicillin. An analysis of the results on the different effects of nonionic detergents on the resistance of the tularemia pathogen to penicillins and cephalosporins suggests that *F. tularensis* resistance to these antibiotics is formed by various mechanisms. The use of ceftazidime in combination with nonionic detergents in experimental tularemia in white mice led to an improvement in the effectiveness of etiotropic treatment of infection. Taking into account the urgency of improving the schemes of etiotropic therapy of infectious diseases caused by antibiotic-resistant forms of pathogens, it seems promising to continue the study in this direction.

Keywords: *Francisella tularensis*, surfactants, resistance to β -lactam antibiotics.

Введение

Согласно данным Всемирной Организации Здравоохранения, проблема антибиотикорезистентности патогенных бактерий в последние годы приобретает глобальный масштаб [1, 2]. Это обусловлено постоянно возрастающим количеством возбудителей инфекционных заболеваний, про-

являющих устойчивость к широкому спектру антибактериальных препаратов. Для противодействия такому кризису разрабатываются рекомендации по рациональному использованию антибактериальных средств в медицине, агропромышленности и животноводческом производстве [1, 3, 4]. Однако, к сожалению, подобные меры способны в лучшем случае замедлить, но не остановить это явление. Таким образом, существует настоятельная необходимость в расширении существующих методов терапии бактериальных ин-

© Н. В. Павлович, М. В. Цимбалистова, 2019

*Адрес для корреспонденции: 344002, Ростов-на-Дону, ул. М. Горького, 117/40. Ростовский-на-Дону противочумный институт

фекций, включая как антибиотики, так и альтернативные подходы. В частности, во многих лабораториях ведутся интенсивные исследования по следующим направлениям:

— Изучение детальных механизмов формирования устойчивости бактерий к лекарственным препаратам с целью поиска путей её преодоления. Результатом явились разработка и внедрение в практику β -лактамазо-защищённых антибиотиков.

— Поиск терапевтических альтернатив и нетоксичных для человека веществ, в комбинации с которыми уже известные антибиотики повышают свою активность против патогенных бактерий. Например, усиление антибактериального действия гентамицина в сочетании с галлием в отношении туляремийного микроба продемонстрировано в работе Н. Lindgren, A. Sjöstedt [5].

— Целевая доставка антибиотика к очагу воспаления. Предложено использование наночастиц на основе диоксида кремния, которые предохраняют антибиотик от инактивации в очаге воспаления (кислый pH) и усиливают его антимикробное действие. По мнению авторов, данный подход уже к 2020 г. вытеснит другие методы введения лекарственных препаратов [6].

Francisella tularensis — возбудитель туляремии — характеризуется природной устойчивостью к бета-лактамам антибиотикам (пенициллины и цефалоспорины), макролидам, клиндамицину, полимиксину при сохранении чувствительности к аминогликозидам, рифампицину, тетрациклинам и фторхинолонам [7–9].

Ранее мы показали, что формирование природной устойчивости туляремийного микроба к пенициллинам и цефалоспорином имеет сложный механизм. Например установлено, что продукция активной β -лактамазы обеспечивает резистентность бактерий к пенициллинам [10]. У *F.tularensis* выявлены три *Bla*-гена, из которых лишь один является активным и отвечает за гидролиз пенициллинов, но не цефалоспоринов [11, 12]. Можно предположить, что резистентность к цефалоспорином у возбудителя туляремии обусловлена иным, неферментативным механизмом, в частности, недоступностью чувствительных мишеней бактериальной клетки для антибиотика.

Как известно, поверхностно-активные вещества (ПАВ), изменяя заряд наружных структур бактериальной клетки, могут повышать их проницаемость для различных соединений, включая некоторые антибактериальные препараты [13, 14]. В пользу этого могут свидетельствовать и полученные нами ранее данные о том, что обработка клеток туляремийного микроба твином 80 приводит к повышению выхода из периплазматического пространства кислой фосфатазы, связанного с повышением проницаемости клеточной стенки [15].

В этой связи целью настоящего исследования явилось изучение влияния поверхностно-активных веществ на уровень резистентности туляремийного микроба к бета-лактамам антибиотикам (пенициллины и цефалоспорины).

Материал и методы

В работе использовали 7 штаммов *F.tularensis* subsp. *tularensis*, 9 штаммов *F.tularensis* subsp. *mediasiatica*, 10 штаммов *F.tularensis* subsp. *holarctica* (включая 2 штамма японского биовара). Все штаммы были получены из музея живых культур ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, где они хранились в лиофилизированном состоянии.

Культуры выращивали на плотной питательной среде Т [16] или среде Мюллера–Хинтона (Himedia, Индия).

В исследование были включены анионные ПАВ (сульфанол, отечественного производства; додецилсульфат натрия (ДСН), производства Serva, Германия); катионные ПАВ (катапин Б-300 и полимиксин В отечественного производства); неионогенные ПАВ (третон Х-100, производства Serva, Германия; твин 80, производства Sigma, США).

Определение МПК поверхностно-активных веществ проводили методом серийных разведений детергентов в плотной питательной среде (агар Мюллера–Хинтона). МПК определяли по минимальной концентрации вещества, подавляющей рост микробов. За субингибирующую дозу принимали максимальную концентрацию ПАВ, не приводящую к подавлению роста бактерий. Посевы инкубировали при 37°C в течение 24–48 ч. Учёт результатов проводили при наличии роста культуры на контрольных чашках (без детергента).

Определение влияния ПАВ на устойчивость исследуемых штаммов к бета-лактамам антибиотикам изучали с помощью метода серийных разведений в плотной питательной среде без детергентов и в присутствии субингибирующих концентраций ПАВ (1/2–1/4 МПК) с последующей сравнительной оценкой МПК бета-лактамов при отсутствии и наличии детергента в среде.

Исследовали устойчивость *F.tularensis* к следующим β -лактамам: ампициллин (отечественного производства), цефалоспорины III поколения — цефотаксим (клафоран, Roussel, Франция), цефоперазон (цефобид, Pfizer, Бельгия), цефтазидим (фортум, Glaxo, Италия).

β -лактамазную активность бактериальных суспензий определяли количественным йодометрическим методом по работе [17].

Для оценки влияния неионогенных ПАВ (третон Х-100 и твин 80) на терапевтическую эффективность цефтазидима беспородных белых мышей (массой 18–20 г, 6 животных в каждой группе) заражали подкожно взвешиваемыми суточными агаровых культур штаммов *F.tularensis* AE-261 (subsp. *tularensis*) и 503 (subsp. *holarctica*) в дозе 103 м.к./мышь (1000 DCL). Лечение антибиотиком, разведённым в физиологическом растворе или в растворах детергентов (0,001% третон Х-100 и 1% твин 80), начинали через 24 ч после заражения, курс лечения — 7 дней. Использовали среднюю терапевтическую дозу цефтазидима (в перерасчёте на человека-дозу) — 12 мг/мышь. Эффективность лечения оценивали по количеству выживших в группе животных. Срок наблюдения за животными составлял не менее 20 дней после окончания лечения.

Контрольная группа животных включала белых мышей, заражённых той же дозой возбудителя туляремии, но не получивших антибактериальный препарат (контроль заражения).

Результаты

При определении активности анионных, катионных и неионогенных ПАВ в отношении возбудителя туляремии установлено, что все иссле-

Таблица 1. Минимальные подавляющие концентрации поверхностно-активных веществ в отношении штаммов *F.tularensis* трёх основных подвидов

Поверхностно-активные вещества (ПАВ)	МПК поверхностно-активных веществ, %		
	subsp. <i>tularensis</i> (7 штаммов)	штаммы <i>F.tularensis</i> subsp. <i>mediasiatica</i> (9 штаммов)	subsp. <i>holarctica</i> (10 штаммов)
Анионные			
Сульфанол	0,001–0,005	0,0005–0,001	0,001–0,005
Додецилсульфат натрия (ДСН)	0,0025–0,005	0,001–0,0025	0,001–0,0025
Катионные			
Катапин Б-300	0,001–0,005	0,0004–0,0008	0,001–0,0025
Полимиксин В	500–1000	750–1000	750–1000
Неионогенные			
Тритон Х-100	0,005	0,0025	0,0025–0,005
Твин 80	≥2	≥2	≥2

Примечание. Здесь и в табл. 2: все МПК ПАВ указаны в %; полимиксин – в мкг/мл.

Таблица 2. Влияние ПАВ на уровень резистентности *F.tularensis* к бета-лактамам

Штаммы	ПАВ	Субингибирующие концентрации ПАВ (%)	Чувствительность к бета-лактамам (МПК, мкг/мл)			
			ампициллин	цефотаксим	цефтазидим	цефоперазон
26 штаммов <i>F.tularensis</i>	Контроль	—	>500	250–500	250–500	250–500
трёх основных подвигов (без ПАВ)	Анионные:					
	Сульфанол	0,0005	>500	250–500	250–500	250–500
	ДСН	0,0005	>500	>500	>500	>500
	Катионные:					
	Катапин Б-300	0,0002	>500	100–250	250–500	100–250
	Полимиксин В	100*	100–250	250	250–500	250–500
	Неионогенные:					
	Твин 80	0,5	>500	25–50	25–50	100
	Тритон Х-100	0,0005	250–500	50–100	<50	50–100

дованные штаммы, вне зависимости от их подвиговой принадлежности, характеризовались высокой чувствительностью к детергентам (табл. 1). Исключение составили полимиксин В (МПК ≥ 1000 мкг/мл) и твин 80 (МПК ≥ 2%). Выявлено также, что концентрации ПАВ, составляющие 1/2–1/4 МПК, не ингибируют рост бактерий и могут быть использованы для реализации задач настоящей работы.

Следующий этап исследования включал оценку влияния ПАВ на антибиотикорезистентность туляремиального микроба *in vitro*. Было изучено действие анионных (сульфанол, ДСН), катионных (катапин Б-300, полимиксин В) и неионогенных (тритон Х-100, твин 80) детергентов на уровень резистентности бактерий к бета-лактамам антибиотикам — пенициллинам (ампициллин) и цефалоспорином (цефотаксим, цефтазидим, цефоперазон). Данные суммированы в табл. 2.

Как оказалось, воздействие анионных или катионных ПАВ на бактериальную клетку не приводит к существенному изменению устойчивости *F.tularensis* ко всем изученным антибиотикам. В противоположность этому, неионогенные детергенты (тритон Х-100, твин 80), не затрагивая устойчивость бактерий к ампициллину, обеспечивали достоверное повышение антибактериальной активности цефалоспоринов в отношении туляремиального микроба. При этом, согласно данным бактериологического контроля, используемые концентрации детергентов не вызывали сниже-

ние жизнеспособности *F.tularensis* (КОЕ/мл без и в присутствии ПАВ).

Обнаруженный нами эффект может быть обусловлен как повышением проницаемости клеточной стенки для антибиотиков, так и частичной инактивацией β-лактамазы туляремиального микроба. Для исключения последнего мы исследовали ферментативную активность бактериальных суспензий без детергента и в присутствии субингибирующих концентраций твина 80. Как выявлено, наличие в пробах неионогенного ПАВ не оказывало существенного влияния на способность клеток гидролизовать бензилпенициллин. Наиболее вероятным объяснением феномена снижения уровня природной устойчивости *F.tularensis* к цефалоспорином под действием детергента может служить увеличение доступности мишеней для антибактериального действия препарата.

Таким образом, впервые показано, что некоторые неионогенные детергенты (твин 80, тритон) достоверно снижают уровень природной устойчивости возбудителя туляремии к цефалоспорином. Учитывая известные данные об использовании твинов в составе различных препаратов (вакцины, парентеральные препараты гормонов, косметические средства), представляло интерес изучить возможность использования антибиотиков в сочетании с детергентами на модели экспериментальной туляремии у чувствительного хозяина.

В предварительных экспериментах установлено отсутствие токсического действия используе-

Таблица 3. Влияние неионогенных ПАВ на эффективность цефтазидима при лечении туляреимийной инфекции у белых мышей

Антибактериальные препараты	Штаммы <i>F.tularensis</i>					
	subsp. <i>tularensis</i> AE-261			subsp. <i>holarctica</i> 503		
	погибло/ заражено	% эффек- тивности	средняя продол- жительность жизни	погибло/ заражено	% эффек- тивности	средняя продол- жительность жизни
Контроль (без лечения)	12/12	0	4,0	12/12	—	5,0
Цефтазидим / физ. раствор	12/12	0	7,0	5/12	58±11	12,5
Цефтазидим / твин 80	12/12	0	8,0	0/12	100	—
Цефтазидим / тритон X-100	12/12	0	9,0	4/12	67±13	10,0

Примечание. Представлены средние значения 2-х независимых экспериментов.

мых концентраций твина 80 и тритона X-100 на животных. Так, белые мыши, получавшие в течение 7 дней парентерально раствор твина 80 (0,5–1–2%) или тритона X-100 (0,05–0,1–0,5%) выживали в течение 30 дней без видимых нарушений функций организма. Кроме того, белые мыши, инфицированные исследуемыми штаммами *F.tularensis* и получавшие в течение 7 дней только ПАВ, погибали от типичной туляреимийной инфекции в сроки, не отличавшиеся от контрольной группы (без препарата). Следовательно, доказано, что твин 80 или тритон X-100 в изученных дозах не обладают ни антибактериальной, ни токсичной активностью в отношении лабораторных животных.

При изучении влияния неионогенных детергентов (твин 80, тритон X-100) на эффективность цефтазидима при экспериментальной туляремии белых мышей, заражённых штаммами 2 основных подвидов (*F.tularensis* subsp. *tularensis* и *holarctica*), обнаружено, что эффективность терапии цефтазидимом в значительной степени зависит от штамма, вызвавшего заболевание (табл. 3).

Использование цефтазидима, разведённого в физиологическом растворе, обеспечивало выживание 60% мышей в случае их инфицирования голарктическим штаммом и было неэффективным в случае заражения высокопатогенным штаммом подвида *tularensis* (100% гибель животных). В то же время результаты экспериментов подтвердили, что неионогенные детергенты в сочетании с цефалоспорином улучшают показатели эффективности этиотропной терапии туляремии. Так, если цефтазидим (без ПАВ) обеспечивал выживание части животных, инфицированных эталонным штаммом *F.tularensis* subsp. *holarctica* 503, то комбинация антибиотика с твином 80 предотвращала гибель 100% мышей. При этой же комбинации в случае *F.tularensis* subsp. *tularensis* погибали все взятые в опыт животные, однако средняя продолжительность их жизни была на 4–5 суток больше по сравнению с контрольной группой (без лечения).

Обсуждение

Бета-лактамы антибиотики широко используются при лечении многих инфекционных заболеваний в связи с их малой токсичностью и хоро-

шими показателями биодоступности [18, 19]. Как известно, возбудитель туляремии, вне зависимости от подвиговой принадлежности, характеризуется природной устойчивостью к пенициллинам и цефалоспорином [8, 20]. Поэтому перспективным направлением исследований, на наш взгляд, является выяснение механизмов формирования природной резистентности *F.tularensis* к бета-лактамам с целью поиска путей её преодоления.

Согласно результатам наших предыдущих исследований β -лактамаза *F.tularensis* не играет ведущей роли в феномене антибиотикоустойчивости возбудителя [10]. Вместе с тем, полногеномный сиквенс туляреимийного микроба выявил наличие нескольких *bla*-генов [11, 12]. При этом обнаружена только одна функционально активная β -лактамаза, гидролизующая пенициллины и цефалоспорины I–II поколения, но не цефалоспорины III–IV поколения. Следовательно, резистентность возбудителя туляремии к цефалоспорином III–IV поколения допускает наличие иного механизма резистентности. Мы предположили, что данный феномен может быть обусловлен недоступностью мишеней микробной клетки для действия антибиотиков. В настоящем исследовании с целью повышения проницаемости наружных структур бактерий мы исследовали влияние анионных, катионных и неионогенных ПАВ на уровень их резистентности к пенициллинам и цефалоспорином. Установлено, что все изученные ПАВ не влияли на устойчивость *F.tularensis* к пенициллинам (ампициллин). Кроме того, анионные и катионные детергенты не оказывали также существенного влияния на устойчивость штаммов трёх основных подвидов к цефалоспорином III поколения. В то же время нам впервые удалось выявить снижение резистентности бактерий к антибиотикам (в 10–20 раз) под действием неионогенных детергентов (твин 80, тритон X-100).

Учитывая обнаруженный нами ранее факт повышения проницаемости наружной мембраны туляреимийного микроба под действием твина 80 [21], полученные данные могут свидетельствовать в пользу того, что неионогенные детергенты, по-видимому, облегчают доступ антибиотика к пептидогликану клеточной стенки туляре-

мийного микроба и увеличивают антибактериальную активность цефалоспоринов против возбудителя туляремии.

Анализ полученных результатов по различному влиянию неионогенных детергентов на устойчивость возбудителя туляремии к пенициллинам и цефалоспорином свидетельствует в пользу того, что устойчивость *F.tularensis* к этим антибиотикам формируется, по-видимому, с помощью различных механизмов. Например, в резистентности к пенициллинам принимает участие β -лактамаза, а резистентность к цефалоспорином определяется непроницаемостью клеточной стенки для препаратов и недоступностью чувствительных мишеней для антибиотиков.

Принимая во внимание актуальность проблемы совершенствования схем этиотропной терапии инфекционных заболеваний, вызванных ан-

тибиотикорезистентными формами возбудителей, мы исследовали эффективность применения цефалоспоринов в комбинации с нетоксичными дозами неионогенных ПАВ при лечении экспериментальной туляремии. Как установлено, сочетание использования цефтазида с твином 80 улучшает показатели эффективности лечения туляремийной инфекции у чувствительных лабораторных животных. В случае инфицирования мышей голарктическим штаммом это выражалось в достоверном увеличении числа выживших мышей, а в случае высокопатогенного штамма *F.tularensis* subsp. *tularensis* — в достоверном увеличении средней продолжительности жизни животных. В соответствии с тем, что твин 80 внесён в перечень фармакопейных препаратов, полученные нами результаты перспективны для дальнейшей разработки этого направления исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. World Health Organization. Antimicrobial resistance: global report on surveillance. WHO 2014, Geneva, Switzerland.
2. Holmes A.H., Moore L.S., Sundsfjord A., Steinbakk M., Regmi S., Karkey A. et al. Understanding the mechanisms and drivers of antimicrobial resistance. Lancet 2016; 387: 176–187.
3. Roberts R.R., Hota B., Ahmad I., Scott R.D. 2nd, Foster S.D., Abbasi F. et al. Hospital and societal costs of antimicrobial-resistant infections in a Chicago teaching hospital: implications for antibiotic stewardship. Clin Infect Dis 2009; 49: 1175–1184.
4. Friedman N.D. Antimicrobial stewardship: the need to cover all bases. Antibiotics 2013; 2: 400–418.
5. Lindgren H., Sjöstedt A. Gallium potentiates the antibacterial effect of gentamicin against *Francisella tularensis*. Antimicrob Agents Chemother 2015; 60 (1): 288–295.
6. Lee B.Y., Li Z., Clemens D.L., Dillon B.J., Hwang A.A., Zink J.I. et al. Redox triggered release of moxifloxacin from mesoporous silica nanoparticles functionalized with disulfide snap-tops enhances efficacy against pneumonic tularemia in mice. Small 2016; 12 (27): 3690–3702.
7. Олсуфьев Н.Г. Таксономия, микробиология и лабораторная диагностика возбудителя туляремии. М.: Медицина; 1975. / Olsufev N.G. Taksonomiya, mikrobiologiya i laboratornaya diagnostika возбуdivatelya tulyaremii. M.: Meditsina; 1975. [in Russian]
8. Павлович Н.В. Биологические свойства и факторы патогенности *Francisella tularensis* [дис. ... д-ра. мед. наук]. Саратов; 1993. / Pavlovich N.V. Biologicheskie svoystva i faktory patogennosti *Francisella tularensis* [dis. ... d-ra. med. nauk]. Saratov; 1993. [in Russian]
9. Suter V., Caspar Y., Boisset S., Maurin M. A new dye uptake assay to test the activity of antibiotics against intracellular *Francisella tularensis*. Front. Cell Infect Microbiol 2014; 4 (36): 1–7.
10. Цимбалистова М.В., Павлович Н.В. Особенности формирования устойчивости *Francisella tularensis* subsp. *mediasiatica* к β -лактамам антибиотикам. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. — 2014. — № 1. — С. 3–8. / Tsimbalistova M.V., Pavlovich N.V. Osobennosti formirovaniya ustojchivosti *Francisella tularensis* subsp. *mediasiatica* k β -laktamnym antibiotikam. Zhurn mikrobiol epidemiol i immunobiol 2014; 1: 3–8. [in Russian]
11. Bina X.R., Wang C., Miller M.A., Bina J.E. The bla-2 β -lactamase from the live-vaccine strain of *Francisella tularensis* encodes a functional protein that is only active against penicillin-class β -lactam antibiotics. J Arch Microbiol 2006; 186: 219–228.
12. Antunes N.T., Frase H., Toth M., Vakulenko S.B. The class A β -lactamase FTU-1 is native to *Francisella tularensis*. Antimicrob Agents and Chemother 2012; 56 (2): 666–671.
13. Пирюзян Л.А., редактор. Действие физиологически активных соединений на биологические мембраны. М.: 1974. / Piruzyan L.A., redaktor. Dejstvie fiziologicheski aktivnykh soedinenij na biologicheskie membrany. M.: 1974. [in Russian]
14. Езепчук Ю.В. Биомолекулярные основы патогенных бактерий. М.: 1977. / Ezechuk Ju.V. Biomolekulyarnye osnovy patogennykh bakterij. M.: 1977. [in Russian]
15. Цимбалистова М.В. Фосфатазная активность у представителей рода *Francisella* [дис. ... канд. мед. наук]. Ростов-на-Дону; 1998. / Tsimbalistova M.V. Fosfataznaya aktivnost' u predstavitelej roda *Francisella* [dis. ... kand. med. nauk]. Rostov-na-Donu; 1998. [in Russian]
16. Павлович Н.В., Мишанькин Б.Н. Прозрачная питательная среда для культивирования *Francisella tularensis*. Антибиотики и мед биотехнол 1987; 32 (2): 133–137. / Pavlovich N.V., Mishan'kin B.N. Prozrachnaya pitatel'naya sreda dlya kultivirovaniya *Francisella tularensis*. Antibiotiki i med. biotekhnol. — 1987. — № 32 (2). — S. 133–137. [in Russian]
17. Чайковская С.М., Венкина Г.Г. Модифицированный йодометрический метод определения пенициллиназной активности. Антибиотики. — 1962. — Т. 7. — № 5. — С. 453–455. / Chajkovskaya S.M., Venkina G.G. Modifitsirovannyj jodometricheskij metod opredeleniya penitsillinaznoj aktivnosti. Antibiotiki 1962; 7: 5: 453–455. [in Russian]
18. Сидоренко С.В., Яковлев С.В. Бета-лактамы антибиотиков. Русский мед. журнал. — 1997. — № 5 (21). — С. 1367–1381. / Sidorenko S.V., Yakovlev S.V. Beta-laktamnye antibiotiki. Russkij med zhurnal 1997; 5 (21): 1367–1381. [in Russian]
19. Стречунский Л.С., Козлов С.Н. Современная антимикробная химиотерапия: Руководство для врачей. М.: 2002. / Strachunskij L.S., Kozlov S.N. Sovremennaya antimikrobnaya khimioterapiya: Rukovodstvo dlya vrachej. M.: 2002. [in Russian]
20. LoVullo E.D., Sherrill L.A., Perez L.L., Pavelka M.S. Jr. Genetic tools for highly pathogenic *Francisella tularensis* subsp. *tularensis*. J Microbiol 2006; 152: 3425–3435.
21. Цимбалистова М.В., Павлович Н.В. Фосфатазная активность у представителей рода *Francisella*. Журн микробиол эпидемиол и иммунобиол 1998; 1: 10–13. / Tsimbalistova M.V., Pavlovich N.V. Fosfataznaya aktivnost' u predstavitelej roda *Francisella*. Zhurn. mikrobiol., epidemiol. i immunobiol 1998; 1: 10–13. [in Russian]

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Павлович Н. В. — д. м. н., заведующая лабораторией туляремии ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону

Цимбалистова М. В. — к. м. н., старший научный сотрудник лаборатории туляремии ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону

Изменение токсических свойств метотрексата при воздействии экстремальных температур в период развития *Drosophila melanogaster*

*О. Н. АНТОСЮК, К. Т. ПАЙДИЕВА

Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б. Н. Ельцина, Екатеринбург

Change of Toxic Properties of the Methotrexate when Exposed to Extreme Temperatures During Development of *Drosophila melanogaster*

*O. N. ANTOSYUK, K. T. PAYDIYEVA

Ural Federal University named after the first President of Russia B. N. Yeltsin, Yekaterinburg

Результаты экспериментов демонстрируют, что метотрексат при добавлении в питательную среду имеет влияние, как на генеративные, так и на соматические клетки дрозофил, в зависимости от концентрации данного вещества в питательной среде. Более того, при увеличении температуры в период развития дрозофил токсические свойства метотрексата усиливаются, что наблюдали исходя из анализа плодовитости дрозофил, развивающихся в среде с добавлением метотрексата, в отношении же летальности потомства отрицательного кумулятивного эффекта цитостатика и повышенной температуры не обнаружили. Отрицательного эффекта также не зарегистрировали и при совместном воздействии цитостатика и пониженной температуры на показатели жизнеспособности.

Ключевые слова: метотрексат, морфометрия, кумулятивный эффект, онтогенез, эмбриональные летали.

The results of the experiments show that a nutrient medium with the methotrexate has influence both on generative and on somatic cells of drosophila, depending on the concentration of this drug in a medium. Moreover, the higher temperature during development of drosophila can increase toxic properties of a methotrexate, which was observed based on an analysis of fertility of the flies developing in the environment with addition of a methotrexate, but no negative cumulative effect of cytostatic and elevated temperature were found in relation to lethality rate of the offspring. A negative effect on viability indicators was also not registered with the combined effects of the cytostatic and low temperature.

Keywords: methotrexate, morphometry, cumulative effect, ontogenesis, embryonic lethals.

Введение

Применяемые в медицинской практике лекарственные препараты могут обладать различного рода побочными эффектами, в том числе и общего токсического действия, если рассматривать препараты, используемые для химиотерапии. При определённых дополнительных воздействиях данный токсический эффект может изменяться [1]. Актуальным является выявление кумулятивных изменений основного эффекта лекарственных препаратов. В настоящей работе были изучены изменения токсического эффекта метотрексата при воздействии экстремальных температур в период развития линии дикого типа Oregon-R *Drosophila melanogaster*. *D. melanogaster* представляет собой классический тест-объект для проведения различных генетических и генотоксикологических исследований.

© Коллектив авторов, 2019

*Адрес для корреспонденции: 620002, г. Екатеринбург, ул. Мира, 19. Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б. Н. Ельцина

В последнее время внимание исследователей, занимающихся экологической генетикой и фармакогенетикой привлекает биологический эффект метотрексата как с точки зрения собственно биологического эффекта, так и на предмет использования его оптимально эффективно и с наименьшим отрицательным воздействием [2]. Метотрексат — известный тератоген, проверенный на многих высших животных, но совсем мало информации об эффекте данного препарата при совместном воздействии других факторов, в частности об изменении токсических свойств данного вещества при изменении температурных условий, являющихся оптимальными для онтогенеза.

Для всесторонней экологической оценки состояния окружающей среды в качестве биотеста, в зависимости от поставленной задачи, используются различные модельные объекты. Среди модельных объектов особая роль принадлежит именно *Drosophila melanogaster*. Молекулярно-генетические исследования последних лет, в том числе и расшифровка генома дрозофилы, позво-

лили обнаружить не только высокий уровень сходства в строении ряда генов с млекопитающими, но и сходства функций в ходе реализации наследственной информации [3].

Ряд общеизвестных особенностей дрозофилы имеет значение при постановке эксперимента: во-первых, это сравнительно короткий цикл развития от откладки яиц до вылета имаго, который при оптимальной температуре (24°C) составляет около 10 дней, во-вторых, важным является также и высокая плодовитость (50–100 яиц в сутки) в течение сравнительно длительного периода жизни, а в-третьих, это возможность культивирования на различных по своему составу питательных средах в лабораторных условиях.

Известно, что использование температурного режима $31 \pm 1^\circ\text{C}$ для содержания дрозофил приводит к приостановке их развития и вызывает достаточно быструю гибель как имаго, так и личинок в первые трое суток. Особи мутантных линий при таких температурах даже не откладывают яйца [4]. Также неприемлемой является и низкая температура, которая полностью тормозит развитие и размножение *Drosophila melanogaster* [4]. При использовании температуры $24 \pm 1^\circ\text{C}$, наибольшее значение для развития плодовой мушки приобретает используемый пищевой субстрат. Установлено, что на стандартной среде наблюдается некоторая задержка в развитии личиночных и куколочных фаз мутантов в сравнении с диким типом на 1–3 суток, в том числе и из-за изменённой экспрессии генов онтогенеза дрозофилы [5]. В современных условиях природные популяции разных видов организмов адаптируются к возрастающему загрязнению экосистем различными продуктами антропогенного воздействия. Нередко подобные адаптационные процессы сопровождаются резко выраженными популяционными волнами, причинами которых в большинстве случаев являются именно антропогенные факторы. Для изучения механизмов адаптации биосистем, испытывающих негативные воздействия, часто используются лабораторные линии дрозофилы, которые являются классическими для генетических и экотоксикологических экспериментов [6–7].

Материал и методы

Условия ведения эксперимента, состав питательных сред. Для проведения опытов в работе использовали линию дикого типа Oregon-R *D. melanogaster*. Для изучения жизнеспособности была использована методика подсчёта общей, средней индивидуальной плодовитости, которую осуществляли в пластиковых пробирках в течение нескольких дней (10–15). Для этого взрослые имаго помещались в пробирки с полыми крышками, в которые заливалась агаровая среда, смазанная дрожжами. Откладываемые мухами яйца ежедневно собирали и помещали на чёрные агаровые пластинки в чашках Петри, для дальнейшего развития особей. На стадии личинки их пересаживали в банки со средой Альдерстона для учёта постэмбриональных леталей (личиночные и куколочные). Неразвив-

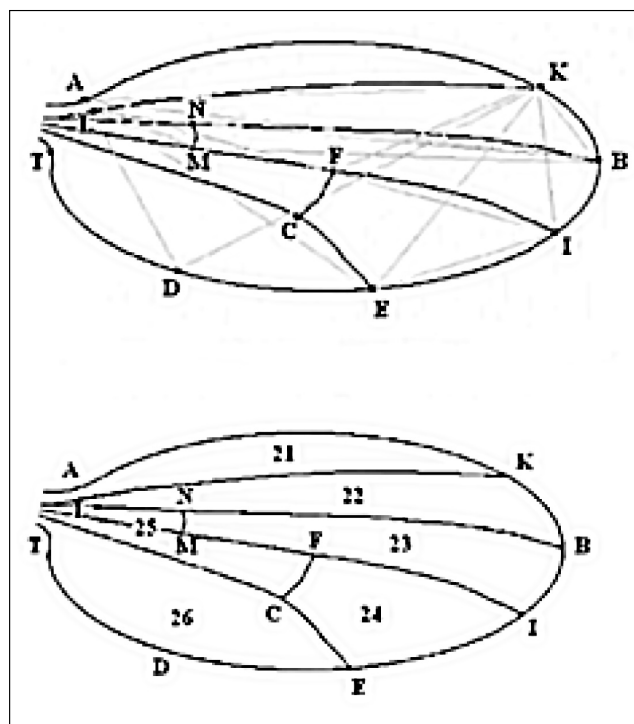


Рис. 1. Линейные (вверху) и двумерные (внизу) морфометрические показатели крыла *D. melanogaster*.

шиеся яйца, классифицировали как РЭЛ или ПЭЛ по цвету (бурые яйца — поздние эмбриональные летали, белые — ранние эмбриональные летали и неоплодотворенные яйца). Состав среды Альдерстона:

- а) Агар-агар — 2 г;
- б) Сухие дрожжи — 25 г;
- в) Глюкоза — 25 г;
- д) Вода — 250 мл.

Для изучения токсического эффекта метотрексата в питательную среду его добавляли в концентрациях 400, 800, 8000 мкг/кг питательной среды. Концентрацию 400 мкг/кг питательной среды выбрали для получения большего количества жизнеспособных особей, необходимых в дальнейшем для морфометрического анализа крыла, а так же выявления линейных различий и различий в токсичности препарата, а также на основании данных по ЛД.

Личинки помещались в банки со средой (200 мл) в нескольких вариантах в трёх повторностях: контроли, эксперименты с метотрексатом (концентрация 400 мкг/кг). В дальнейшем банки со средой распределялись по термостатам с разными температурными режимами: 20°C (пониженная температура для развития), 24°C (стандартная температура для развития), 28°C (повышенная температура для развития). После вылета имаго подсчитывали количество выживших мух.

Морфометрический анализ крыла. Для анализа эффекта метотрексата на соматические клетки использовали сравнительный анализ морфологических показателей крыла вылетевших мух. С этой целью имаго одного возраста определяли по полу и заспиртовывали. После чего крылья фотографировали с помощью цифровой камеры Nikon Coolpix 3000, далее полученные изображения крыльев обрабатывали при помощи компьютерной программы Universal Desktop Ruler. В работе использовали морфометрический анализ крыла по 18 линейным параметрам и 6 двумерным (рис. 1).

Все полученные данные обрабатывались статистически с использованием *t*-критерия, дискриминантного анализа и канонического анализа в программе Statistica 6.0.

Определение зависимости токсического эффекта метотрексата от его концентрации в питательной среде дрозидил

Исходное количество особей	Повторности	Контроль	MTX, 400 мкг/кг	MTX, 800 мкг/кг	MTX, 8000 мкг/кг
200	I	184	156	47	14
200	II	190	112	52	27
200	III	195	127	38	12
	Среднее	189,67	131,67	45,67	17,67

Результаты и обсуждение

Определение зависимости токсического эффекта метотрексата от его концентрации в питательной среде дрозидил. Согласно таблице, наблюдали дозозависимость выживаемости особей от концентрации метотрексата в питательной среде. С увеличением концентрации цитостатика ЛД увеличивалась: в контроле выжившие особи составили 94,83%, при концентрации метотрексата 400 мкг/кг питательной среды — 65,83%, при увеличении дозы в два раза (800 мкг/кг) — 22,83%, а при очень высокой концентрации 8000 мкг/кг —

выжившие мухи составили всего 8,83%. Таким образом, концентрация 400 мкг/кг среды превысила величину 50ЛД и была выбрана нами в отличие от других, используемых в работе концентраций для дальнейшей работы с экстремальными температурами.

Сравнение результатов анализа плодовитости особей Oregon-R, выращенных при различных условиях. При сравнении плодовитости изученных линий особое внимание уделялось таким показателям жизнеспособности, как плодовитость (общая и средняя) и частота летальности потомства

на эмбриональном этапе развития. Рис. 2 демонстрирует отсутствие кумулятивного эффекта при понижении температуры онтогенеза и наличие выраженного отрицательного кумулятивного эффекта, усиливающего токсическое действие метотрексата в отношении плодовитости особей при повышении температурного режима в период развития дрозидил.

В отношении показателя частоты эмбриональных леталей потомства F_1 ни в одной из экспериментальных групп не обнаружили повышения частоты ранних эмбриональных леталей (РЭЛ) в сравнении с частотой контрольной выборки. Соответственно, можно предположить отсутствие отрицательного воздействия экстремального температурного режима самого по себе, а также на фоне совместного использования с цитостатиком. На рис. 3 показана несколько повышенная частота поздних эмбриональных леталей (ПЭЛ) по сравнению с остальными экспериментальными группами, но данное значение остается в пределах нормы, в связи с чем можно отметить также, что как и в отношении РЭЛ, частота ПЭЛ не характе-

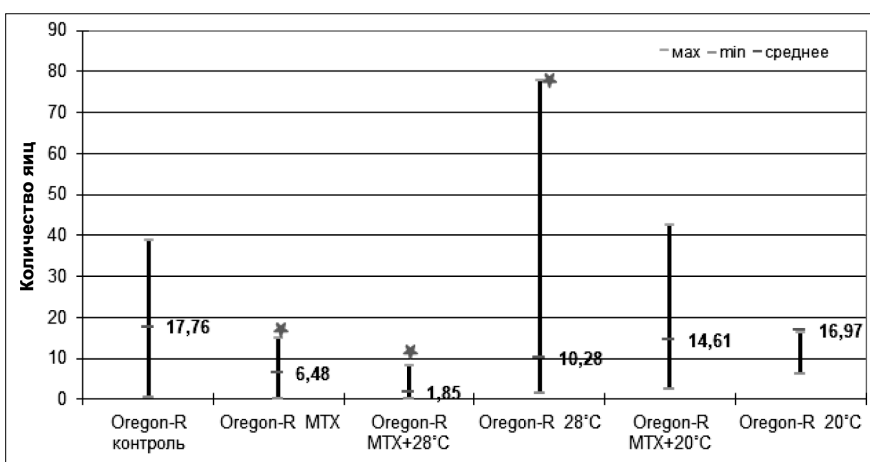


Рис. 2. Средняя индивидуальная плодовитость (СИП) особей, выращенных в присутствии метотрексата, различных температурных режимах, а также при совместном воздействии метотрексата и экстремальных температур. **Примечание.** * — Статистически значимые отличия от контрольной группы.

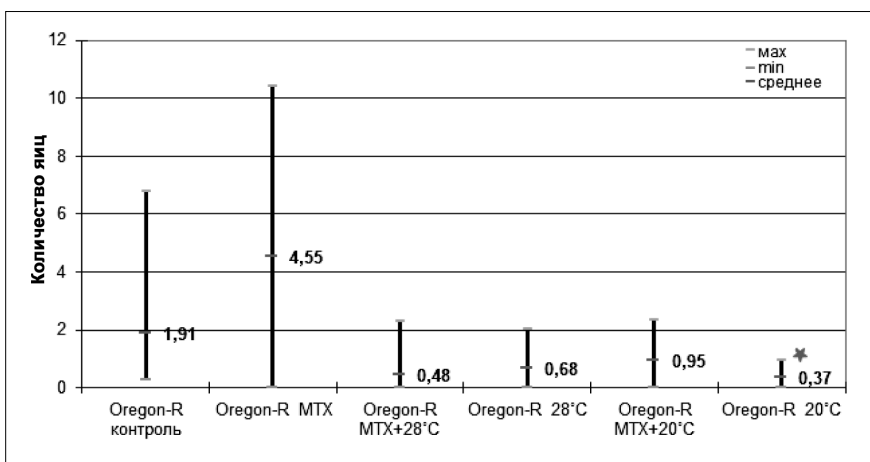


Рис. 3. Частота поздних эмбриональных леталей потомства F_1 у особей, выращенных в присутствии метотрексата, различных температурных режимах, а также при совместном воздействии метотрексата и экстремальных температур.

ризуется значимым изменением, за исключением группы особей, выращенных при пониженной температуре, для которых характерен положительный эффект изменения частоты ПЭЛ по сравнению с контрольной группой.

Исходя из полученных результатов, можно предположить, что влияние метотрексата, а также экстремальной температуры как самой по себе, так и совместно с цитостатиком на жизнеспособность дрозофил носит кратковременный характер, в связи с чем максимально выраженный эффект зарегистрировали именно в отношении фертильности особей, тогда как в отношении жизнеспособности потомства пролонгированного тождественного действия не наблюдали.

Морфометрический анализ крыла особей, выращенных при различных условиях. Влияние экстремальных температур выращивания дрозофил рассматривалось также и относительно проявления биологического эффекта на уровне соматических клеток. Эффект физических факторов стресса, а в данном случае — пониженной и повышенной температур (20°C и 28°C), даже в отсутствии внешних повреждений (в зависимости от уровня апоптоза в крыловом имгинальном диске), можно определить, используя морфометрический анализ крыловой пластинки. Несмотря на наличие визуальных повреждений, провели морфометрический анализ крыла. На уровне развития крыловой пластинки, как более чувствительной к каким-либо воздействиям структуры, даже эффект экстремальных температур самих по себе зарегистрировали как в отношении линейных, так и в отношении двумерных (площади ячеек крыла) параметров. На рис. 4 видно, что выборки, выращенные при различных температурных режимах, характеризуются различными параметрами крыловой пластинки, среди которых дискриминируют параметры длины крыла и параметры апикальной части крыловой пластинки. Предположительно, изменение параметров может происходить, благодаря изменению размеров клеток крылового имгинального диска [8], а также их миграции.

Стоит также отметить, что при изменении температур выращивания дрозофил в условиях химического стресса, а именно при добавлении метотрексата в питательную среду дрозофил, наблюдается и изменение токсического эффекта, проявляющееся в отношении изменения формы крыла. Соответственно, экстремальные температуры влияют на изменение эффекта метотрексата на соматические клетки, выступающего в роли фактора химического стресса (рис. 5, 6). При повышении температуры (28°C) форма крыла меняется очень интенсивно, дискриминируют 10 из 18 линейных параметров в разных локациях крыловой пластинки (AI, AE, AD, AT, LM, LB, KB, KE,

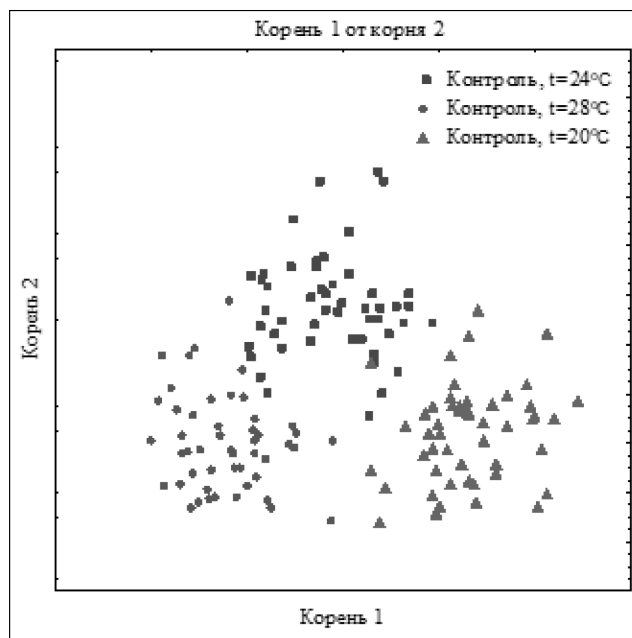


Рис. 4. Графическое представление анализа линейных морфометрических показателей крыла линии Oregon-R *D.melanogaster*

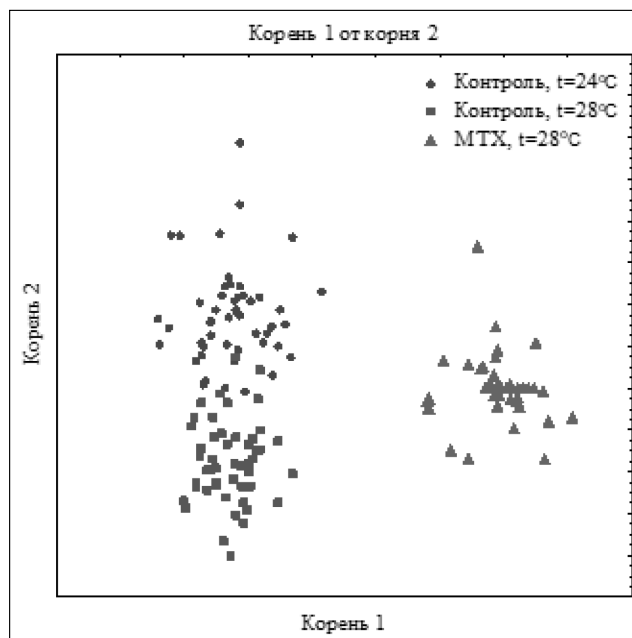


Рис. 5. Графическое представление анализа линейных морфометрических показателей крыла линии Oregon-R *D.melanogaster*

KE, KD, KF). Тогда как при понижении температуры (20°C) форма крыла меняется не так основательно, хотя дискриминируют также 10 линейных параметров из 18 (AK, AE, AM, LM, MB, KB, KE, KF, IE, MN).

Таким образом, в экспериментах с добавлением MTX в питательную среду в большей степени изменяются показатели ширины крыла.

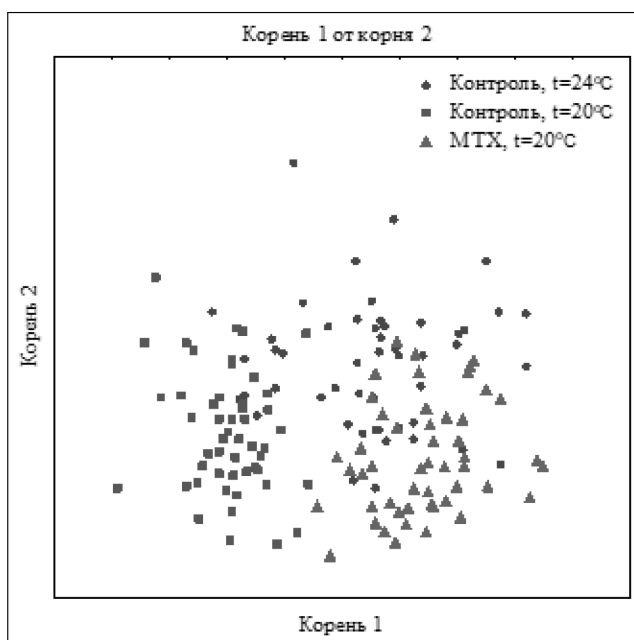


Рис. 6. Графическое представление анализа двумерных морфометрических показателей крыла самок линии Oregon-R *D.melanogaster*

При проведении канонического анализа, включающего площади ячеек крыла, экспериментальные выборки во всех вариантах сравнения (экстремальных температур самих по себе, при повышении температуры, при понижении температуры) разделяются, хоть и менее выражено, а дискриминируют 21, 24, 25 и 26 ячейки (рис. 6). А в случае с понижением температуры дискриминируют все ячейки, за исключением только 22.

Причиной отсутствия различий по ячейкам 22 и 23 можно считать высокую нестабильность дистальной части крыла при воздействии метотрексата и повышенной температуры при развитии и сопутствующую высокую стабильность центральной части крыла.

Исходя из результатов всех вышеупомянутых экспериментов, можно сделать вывод о том, что метотрексат, как фактор химического стресса, выступает в качестве отрицательного воздействия на плодовитость дрозофилы. Токсический эффект метотрексата наблюдали при высоких концентрациях данного цитостатика в питательной среде, что сказывается на уровне изменения соматических клеток и дискриминации параметров крыла дрозофил. Более того,

при повышенной температуре развития дрозофилы наблюдали изменение токсических свойств метотрексата.

Однако стоит отметить, что при пониженной температуре (20°C) развития дрозофил различия между морфометрическими показателями крыла контрольной выборки и экспериментом с метотрексатом менее выражены в отношении линейных параметров и более выражены в отношении двумерных параметров, исходя из чего можно предположить, что меняется интенсивнее площадь крыловой пластинки в общем.

Также было обнаружено, что выращивание дрозофил при низкой температуре существенно замедляет их развитие на 3–4 сут.

Заключение

На основании проделанной работы можно сделать следующее заключение о кумулятивном эффекте экстремальных температур и метотрексата. Наиболее выраженный эффект от совместного применения наблюдали из всех показателей жизнеспособностей, используемых в работе, в отношении плодовитости особей. В отношении летальности потомства эффект от совместного применения экстремального температурного режима и цитостатика не только не усиливался, а даже имел положительную в отношении жизнеспособности особей тенденцию.

Изменение формы либо площади крыла у экспериментальных выборок дрозофилы позволяет сделать предположение о том, что изменению подвергаются латеральные части крыловой пластинки как при воздействии экстремальных температур без цитостатика, так и в присутствии цитостатика. Таким образом, можно сделать вывод о том, что различные в своей направленности температурные режимы хоть и в сходной тенденции изменяют крыловые параметры как в отдельности, так и на фоне воздействия метотрексатом, но данные изменения имеют свои особенности, выявление которых, поможет более глубоко и детально понять причины изменения токсических свойств не только метотрексата, но и других лекарственных препаратов в том числе.

Работа выполнена при финансовой поддержке постановления № 211 Правительства Российской Федерации, контракт № 02.A03.21.0006.

ЛИТЕРАТУРА

1. Жукова О.В., Круглова Л.С., Шаранова Е.Н. Сочетанная ультрафиолетовая терапия и метотрексат в лечении больных тяжёлыми формами псориаза. Клиническая дерматология и венерология. — 2015. — Т. 14. № 2. — С. 66–73. / Zhukova O.V., Kruglova L.S., Sharanova E.N. Sochetannaya ul'trafiolotovaya terapiya i metotreksat v lechenii bol'nykh tyazhelyimi formami psoriaza. Klinicheskaya dermatologiya i venerologiya 2015; 14: 2: 66–73. [in Russian]
2. Шитов Л.Н. Показатели микрофлоры толстой кишки у белых мышей, получавших метотрексат: дозозависимость эффекта и влияние путей

введения. Современные наукоемкие технологии. — 2008. — № 5. — С. 54–55. / Shitov L.N. Pokazateli mikroflory tolstoy kishki u belykh myshej, poluchavshikh metotreksat: dozozavisimost' efekta i vliyaniye putej vvedeniya. Sovremennye naukoemkie tekhnologii 2008; 5: 54–55. [in Russian]

3. Zwarts L., Vulsteke V., Buij E. et al. Sig A, encoded by the homolog of the human schizophrenia-associated gene PRODH, acts in clock neurons to regulate *Drosophila* aggression. Dis Model Mech 2017; 1: 10: 705–716.
4. Струнов А.А., Илинский Ю.Ю., Захаров И.К. и др. Влияние повышенной температуры на выживаемость *Drosophila melanogaster*, инфицированных патогенным штаммом бактерий *Wolbachia*. Вави-

ловский журнал генетики и селекции — 2013. — Т. 17. — № 2. — С. 265–276. / *Strunov A.A., Ilinskij Yu.Yu., Zakharov I.K. i dr.* Vliyanie povyshennoj temperatury na vyzhivaemost' *Drosophila melanogaster*, infitsirovannykh patogennym shtammom bakterij *Wolbachia*. Vavilovskij zhurnal genetiki i seleksii 2013; 17: 2: 265–276. [in Russian]

5. *Chadov B.F., Chadova E.V., Caryl S.A. et al.* Genes controlling ontogenesis: morphosis, phenocopies, dimorphs, and other visible expressions of mutant genes. Genetika 2004; 40: 3: 353–365.
6. *Гончарова Р. И., Левина А. Б., Кузир Т. Д.* Изучение чувствительности отдельных особей дрозофилы к мутагенному действию этилмета-сульфоната. Генетика. — 1988. — Т. 24. — № 12. — С. 2141–2148. / *Goncharova R. I., Levina A. B., Kuzhir T. D.* Izuchenie chuvstvitel'nos-

ti ot del'nykh osobej drozofily k mutagennomu dejstviyu etilmeta-sul'fonata. Genetika 1988; 24: 12: 2141–2148. [in Russian]

7. *Савинов А. Б., Курицына И. И.* Об оценке загрязненности почв по данным биоиндикации (с использованием *Drosophila melanogaster*) и спектрального анализа. Физико-химические методы анализа. — 1993. — С. 60–65. / *Savinov A. B., Kuritsyna I. I.* Ob otsenke zagryaznennosti pochv po dannym bioindikatsii (s ispol'zovaniem *Drosophila melanogaster*) i spektral'nogo analiza. Fiziko-khimicheskie metody analiza 1993; 60–65. [in Russian]
8. *Fausto-Sterling A., Hsieh L.* The behavior during the initial phase of in vitro aggregation of dissociated imaginal disc cells from *Drosophila melanogaster*. Dev Biol 1983; 100: 2: 339–349.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Антосюк Ольга Николаевна — к. б. н., доцент, Институт естественных наук и математики ФГАОУ ВО Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б. Н. Ельцина, Екатеринбург

Пайдиева Кристина Тимуровна — магистр, Институт естественных наук и математики ФГАОУ ВО Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б. Н. Ельцина, Екатеринбург

Изучение эффективности Арбидола® при экспериментальной форме тяжелого острого респираторного синдрома

С. Я. ЛОГИНОВА¹, В. Н. ЩУКИНА¹, *С. В. БОРИСЕВИЧ¹, Р. А. ХАМИТОВ², В. А. МАКСИМОВ¹, А. М. ШУСТЕР^{2,3}

¹ 48 Центральный научно-исследовательский институт Министерства обороны Российской Федерации, Сергиев Посад

² ООО «Международный биотехнологический центр «Генериум», Москва

³ ОАО «Фармстандарт», Москва

Analysis of Arbidol® Efficiency against an Experimental form of Severe Acute Respiratory Syndrome

S. YA. LOGINOVA¹, V. N. SCHUKINA¹, *S. V. BORISEVICH¹, R. A. KHAMITOV², V. A. MAKSIMOV¹, A. M. SHUSTER^{2,3}

¹ 48th Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Sergiev Posad

² ООО International Biotechnology Center «Generium», Moscow

ОАО «Pharmstandard», Moscow

Проведены исследования по изучению эффективности Арбидола® в отношении экспериментальной формы тяжёлого острого респираторного синдрома у сирийских хомяков. Показано, что Арбидол® наиболее эффективен при применении его по лечебно-профилактическим схемам. Коэффициент лечебного действия по вирусологическим, гематологическим и биохимическим показателям составил 57,5 и 65,0%, соответственно ($p < 0,05$ и $p < 0,01$).

Ключевые слова: Арбидол®, тяжёлый острый респираторный синдром, профилактика, коэффициент лечебного действия.

Studies have been conducted to assess the effectiveness of Arbidol® in relation to the experimental form of severe acute respiratory syndrome in Syrian Golden hamster. It is shown that Arbidol® is most effective when used in therapeutic and prophylactic schemes. The coefficient of therapeutic action for virological, hematological and biochemical parameters was 57.5 and 65.0%, respectively ($P < 0.05$ and $P < 0.01$).

Keywords: Arbidol®, severe acute respiratory syndrome, prevention, coefficient of therapeutic action.

Введение

Несмотря на значительные успехи в области разработки и испытания различных лекарственных средств, тенденция последних лет к возрастанию удельного веса вирусных заболеваний продолжает сохраняться, меняется лишь спектр вирусной патологии: появляются новые и выходят из-под контроля хорошо и давно изученные заболевания.

Вспышка тяжёлого острого респираторного синдрома (ТОРС) коснулась всего мира. Это инфекционное заболевание впервые возникло в ноябре 2002 г. в Южном Китае [1–5] и в течение короткого промежутка времени распространилось на территории 30 государств [6]. 2003 год продемонстрировал мировой общественности в какой степени интеграция общественной и деловой жизни в сочетании с продолжающимся ростом населения земного шара могут способствовать распространению эпидемий инфекционных заболеваний.

В результате проведённых исследований обнаружен очень узкий круг эффективных лекарствен-

ных препаратов в отношении ТОРС, при оценке их эффективности *in vitro* [7–13]. Актуальность поиска эффективных средств защиты в отношении этого заболевания несомненна. Тем более, что в последние годы выявили новый коронавирус — возбудитель заболевания ближневосточного респираторного синдрома (MERS) [14–17].

Цель настоящей работы — оценка противовирусной эффективности Арбидола® в отношении возбудителя тяжёлого острого респираторного синдрома.

Материал и методы

Вирусы. В работе использовали вирус тяжёлого острого респираторного синдрома, штамм СоД, выделенный специалистами ВЦ НИИМ (в настоящее время — ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации) из носоглоточного смыва больного ТОРС из Благовещенска [18]. Хранился при температуре минус $70,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$ в лиофилизированном виде.

Культура клеток. Использована перевиваемая культура клеток почек зелёных мартишек — Vero E6. В качестве среды поддержания использовали полусинтетическую среду (ПС-4) на растворе Хенкса, содержащую 2% сыворотки крупного рогатого скота.

Исследуемый препарат. Арбидол® — низкомолекулярный индуктор интерферона (ИИФ) (эфир-1-метил-2-фенилтиометил-4-диметиламинометил-5-окси-6-броминдол-3-

© Коллектив авторов, 2019

Адрес для корреспонденции: 141306, Московская область, г. Сергиев Посад-6, ул. Октябрьская, д. 11. ФГБУ «48 ЦНИИ» МО РФ

Таблица 1. Влияние Арбидола® на динамику изменения активности креатинфосфокиназы и лактатдегидрогеназы в сыворотке крови сирийских хомяков, перорально инфицированных вирусом ТОРС, штамм СоД

Схема применения препарата Арбидол®	Динамика показателей после инфицирования, сут.			
	2-е	4-е	6-е	10-е
	КФК ($\bar{x} \pm \sigma_x$), мккат/л			
-24 ч, -1 ч	0,62±0,01	1,15±0,02	0,50±0,01	0,49±0,01
-24 ч, -1 ч, +24 ч	0,66±0,02	0,87±0,03	0,39±0,01	0,45±0,02
-24 ч, -1 ч, +24 ч, +48 ч	0,44±0,01	0,69±0,03	0,39±0,02	0,43±0,06
Контроль инфицированных животных (без препарата)	1,27±0,04	2,12±0,03	1,16±0,05	1,22±0,02
Контроль интактных животных	0,44±0,03	0,39±0,02	0,48±0,01	0,50±0,04
	ЛДГ ($\bar{x} \pm \sigma_x$), МЕ/л			
-24 ч, -1 ч	162±12	1001±21	644±16	637±21
-24 ч, -1 ч, +24 ч	283±9	1341±37	515±25	501±11
-24 ч, -1 ч, +24 ч, +48 ч	243±27	1184±22	650±13	450±15
Контроль инфицированных животных (без препарата)	1915±56	1447±54	1805±55	1803±15
Контроль интактных животных	405±32	402±15	409±13	399±18

карбоновой кислоты гидрохлорид моногидрат) производства ф. ERREGIERRE, Италия, поставщик ЗАО «Мастер-лек», серия 0203001. Перед применением препарат растворяли в физиологическом растворе. Арбидол® вводили животным перорально в дозе 60 мг/кг по схеме профилактики (за 1 и 24 ч до инфицирования) и лечебно-профилактической схеме (за 1 и 24 ч до и 24 ч после инфицирования; за 1 и 24 ч до и 24, 48 ч после инфицирования).

Лабораторные животные. Использованы сирийские хомяки массой 40–60 г. Животных заражали перорально в дозе 5,0 lg БОЕ, сразу после инфицирования животным всех групп вводили линкомицин в дозе 10³ ед. внутримышечно. Наблюдение за инфицированными животными проводили в течение 21 суток, контролировали клинические признаки заболевания, гибель животных. На 2-, 4-, 6- и 10-е сутки у инфицированных животных тотально отбирали кровь для проведения гематологических и биохимических исследований.

Оценка противовирусной эффективности Арбидола® осуществлена в соответствии с рекомендациями ФГБУ «НЦЭСМП» [19].

Основными критериями оценки эффективности Арбидола® являлись показатели снижения уровня накопления вируса в лёгких (Δ , lg) и уровня лейкоцитоза, нормализация биохимических показателей крови (АлАТ, АсАТ, КФК, ЛДГ, мочевины и креатинина) и лейкограммы [20].

Результаты и обсуждение

Эффективность Арбидола® в отношении экспериментальной формы ТОРС у сирийских хомяков оценивали по подавлению накопления вируса в органе-мишени (лёгком), по патологоанатомическим изменениям внутренних органов, по биохимическим показателям крови, по влиянию на динамику изменения суммарного пула лейкоцитов и лейкоцитарной формулы.

Результаты оценки противовирусной эффективности Арбидола® в отношении экспериментальной формы ТОРС у сирийских хомяков показывают, что при профилактическом применении препарата не выявлено значимого подавления репродукции вируса ТОРС в лёгких инфицированных животных. Снижение уровня накопления вируса составило: 0,8 lg БОЕ; 1,2 lg БОЕ; 0,9 lg БОЕ на 2-, 4- и 6-е сутки после заражения, соответственно. Лечебно-профилактическое пероральное применение Арбидола® на пике инфекции (4-е сутки) снижает уровень накопления ви-

руса на 96–98% (1,6 lg БОЕ), к 10-м суткам наблюдения репродукция вируса практически полностью подавлялась препаратом.

Патологоанатомическое обследование инфицированных и леченных сирийских хомяков показало, что на 2-е сутки после инфицирования все внутренние органы остаются без видимых изменений. На 4-е сутки у контрольных инфицированных животных отмечены поражения в лёгких и кишечнике. При использовании Арбидола® в качестве лечебно-профилактического средства на пике инфекции наблюдали улучшение состояния легочной ткани у 50% инфицированных животных. На 6–10-е сутки — у всех животных, принимавших препарат, отёки в лёгких отсутствовали, реже отмечали точечные воспалительные поражения.

Исследования по изучению влияния лекарственных препарата на биохимические показатели крови инфицированных сирийских хомяков показали, что наибольшую активность в процессе нормализации показателей КФК и ЛДГ выявил Арбидол®, вводимый перорально в дозе 60 мг/кг по удлиненной лечебно-профилактической схеме (табл. 1). Высокий уровень КФК, по-видимому, связан с повреждением ткани лёгких. Арбидол® по лечебно-профилактической схеме значительно снижал воспалительные и некротические повреждения в лёгких и, соответственно, снижался уровень КФК. Начиная с 6 суток после инфицирования, был отмечен процесс нормализации показателей ЛДГ и КФК у всех животных, получавших Арбидол®.

На протяжении всего срока наблюдения у инфицированных сирийских хомяков отмечено повышение в 2–4 раза активности обеих аминотрансфераз (табл. 2) по сравнению с интактными животными (коэффициент де Ритиса составил 1,07). Применение Арбидола® по профилактической схеме в 1,2–1,6 раз снижает активность аминотрансфераз по сравнению с контрольной группой животных. Коэффициент де Ритиса колебался от 0,64 до 0,78, что, по-видимому, свидетельствует о нарушении функции печени. Наиболее эф-

Таблица 2. Влияние Арбидола® на динамику изменения активности аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы в сыворотке крови сирийских хомяков, перорально инфицированных вирусом ТОРС, штамм СоД

Схема применения препарата Арбидол®	Динамика показателей после инфицирования, сут.			
	2-е	4-е	6-е	10-е
	АлАТ ($\bar{x} \pm \sigma_x$), мМ/(ч • л)			
-24 ч, -1 ч	1,2±0,08	1,54±0,03	2,30±0,06	2,25±0,05
-24 ч, -1 ч, +24 ч	0,52±0,03	0,88±0,06	0,81±0,07	0,71±0,06
-24 ч, -1 ч, +24 ч, +48 ч	0,61±0,02	0,79±0,03	1,14±0,06	0,86±0,05
Контроль инфицированных животных (без препарата)	1,44±0,18	2,53±0,05	2,01±0,03	2,32±0,04
Контроль интактных животных	0,65±0,08	0,66±0,08	0,69±0,05	0,70±0,02
	АсАТ ($\bar{x} \pm \sigma_x$), мМ/(ч • л)			
-24 ч, -1 ч	0,93±0,03	0,99±0,03	1,74±0,09	1,52±0,06
-24 ч, -1 ч, +24 ч	0,97±0,01	0,96±0,06	0,68±0,03	0,75±0,05
-24 ч, -1 ч, +24 ч, +48 ч	0,65±0,01	0,97±0,04	0,75±0,05	0,73±0,06
Контроль инфицированных животных (без препарата)	2,14±0,09	2,62±0,04	1,85±0,06	2,23±0,07
Контроль интактных животных	0,71±0,09	0,73±0,09	0,71±0,06	0,74±0,02

Таблица 3. Влияние Арбидола® на динамику изменения креатинина и мочевины в сыворотке крови сирийских хомяков, перорально инфицированных вирусом ТОРС, штамм СоД

Схема применения препарата Арбидол®	Концентрация после инфицирования, сут.			
	2-е	4-е	6-е	10-е
	Креатинин ($\bar{x} \pm \sigma_x$), мМ/л			
-24 ч, -1 ч	180,3±0,6	192,7±0,3	182,6±0,4	180,7±0,7
-24 ч, -1 ч, +24 ч	191,1±0,3	183,7±0,5	144,8±0,7	181,2±0,2
-24 ч, -1 ч, +24 ч, +48 ч	189,2±0,4	184,5±0,2	198,2±0,2	189,7±0,8
Контроль инфицированных животных (без препарата)	210,0±1,0	255,7±1,0	247,9±0,3	213,5±0,5
Контроль интактных животных	181,2±0,8	184,5±0,4	180,2±0,2	180,5±0,5
	Мочевина ($\bar{x} \pm \sigma_x$), мМ/л			
-24 ч, -1 ч	2,3±0,3	9,7±0,4	8,0±0,1	7,8±0,2
-24 ч, -1 ч, +24 ч	2,9±0,3	9,5±0,3	7,4±0,1	6,4±0,2
-24 ч, -1 ч, +24 ч, +48 ч	4,9±0,3	8,5±0,5	7,1±0,1	5,9±0,2
	Мочевина ($\bar{x} \pm \sigma_x$), мМ/л			
Контроль инфицированных животных (без препарата)	8,5±0,2	9,1±0,6	10,8±0,3	11,8±0,4
Контроль интактных животных	5,9±0,1	5,4±0,3	5,6±0,1	5,7±0,1

фективно Арбидол® нормализовал уровень аминотрансфераз в крови животных при применении его по лечебно-профилактической схеме (коэффициент де Ритиса соответствовал показателю для интактных животных).

Нормализация уровня мочевины и креатинина была отмечена в том случае, когда Арбидол® применяли по лечебно-профилактической схеме (табл. 3).

Изучение влияния лекарственных препаратов на динамику изменения суммарного пула лейкоцитов и лейкоцитарной формулы показало, что применение Арбидола® по профилактической схеме сопровождается в начальный период наблюдения лейкопенией ($4,4 \times 10^9/\text{л}$) с последующей нормализацией к 10-м суткам ($5,1 \times 10^9/\text{л}$). Использование Арбидола® по другим схемам сопровождалось выраженным лейкоцитозом ($8,2 \times 10^9/\text{л}$, $4,8 \times 10^9/\text{л}$, $9,8 \times 10^9/\text{л}$ и $9,5 \times 10^9/\text{л}$, соответственно, на 2-, 4-, 6- и 10-е сутки после инфицирования). Для интактных животных этот показатель составил $(6,0-6,5) \times 10^9/\text{л}$, инфицированных, не принимавших препарат — $12,8 \times 10^9/\text{л}$.

Анализ лейкоцитарной формулы показал, что применение Арбидола® по профилактической

схеме сопровождается выраженной относительной нейтропенией, сопряжённой с лимфоцитозом на фоне слабо выраженной абсолютной лейкопении. Такая картина характерна при развитии ряда постинфекционных осложнений. Лечебно-профилактическое введение Арбидола® сопровождалось нейтрофилезом на ранней стадии заболевания. На более поздних стадиях заболевания отмечен лимфоцитоз, увеличение количества моноцитов, что свидетельствует о наступлении фазы выздоровления и благоприятном исходе заболевания.

Для анализа влияния исследуемого препарата на тяжесть течения заболевания ТОРС у экспериментальных животных провели рейтинговую оценку степени выраженности следующих показателей: уровень накопления вируса в лёгких; степень патологоанатомических изменений внутренних органов; количество лейкоцитов; изменения в лейкоцитарной формуле крови; изменение ферментативной активности КФК, ЛДГ, АсАТ, АлАТ; изменение концентрации мочевины и креатинина. Максимальная выраженность каждого из указанных признаков на пике инфекции (4–6 сутки) оценивалась в 4 балла.

Таблица 4. Влияние Арбидола® на тяжесть течения инфекционного процесса у сирийских хомяков, перорально инфицированных вирусом ТОРС, штамм СоД

Препарат	Схема применения препарата	Анализ тяжести течения инфекционного процесса				
		на пике инфекции			в течение всего срока наблюдения	
		сумма баллов	индекс тяжести заболевания	коэффициент лечебного действия, %	значение критерия знаков	уровень значимости лечебной эффективности препарата, <i>p</i>
Арбидол®	-24 ч, -1ч	22	0,550	45,0	6/10	Доо
	-24 ч, -1 ч, +24 ч	17	0,425	57,5	9/10	0,05
	-24 ч, -1ч, +24 ч, +48 ч	14	0,350	65,0	10/10	0,01
Контроль инфицированных животных (без препарата)	—	40	1,000	—	0/10	—

Примечание. Доо — достоверные отличия отсутствуют.

По указанным признакам рассчитывали значения критерия знаков и соответствующие уровни значимости влияния исследуемых препаратов на течение инфекционного процесса в течение всего срока наблюдения (табл. 4).

Из всех изученных схем, доз и способов применения Арбидол® эффективно снижает тяжесть заболевания у сирийских хомяков, перорально инфицированных вирусом ТОРС в дозе 5,0 lg БОЕ, при введении его по лечебно-профилактическим схемам. Коэффициент лечебного действия составил 57,5–65%. При этом был отмечен статистичес-

ки высокий уровень достоверных отличий тяжести течения заболевания у леченных и контрольных животных ($p \leq 0,01$ и $p \leq 0,05$). Препарат может быть рекомендован для лечебно-профилактического применения в отношении тяжёлого респираторного синдрома.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Онищенко Г.Г., Васильев Н.Т., Максимов В.А. и др. Выделение и идентификация возбудителя тяжёлого острого респираторного заболевания от больного атипичной пневмонией. — ЖМЭИ. — 2003. — № 5. — С. 109–112. / Onishchenko G.G., Vasil'ev N.T., Maksimov V.A. i dr. Vydelenie i identifikatsiya vozбудitelya tyazhelogo ostrogo respiratornogo zabolovaniya ot bol'nogo atipichnoj pnevmoniej. ZhMEI 2003; 5: 109–112. [in Russian]
- Синопальников А.И., Воробьев А.В., Белоцерковская Ю.Г., Андреева И.В. Тяжёлый острый респираторный синдром (ТОРС, SARS). Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. — 2003. — Т. 5. — № 3. — С. 225–242. / Sinopal'nikov A.I., Vorob'ev A.V., Belotserkovskaya Ju.G., Andreeva I.V. Tyazhelyj ostryj respiratornyj sindrom (TORS, SARS). Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya 2003; 5: 3: 225–242. [in Russian]
- Ksiazek T.G., Erdman D., Goldsmith C.S. et al. A novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. New Engl J Med 2003; 348 (20): 1947–1958.
- Lee N., Hui D., Wu A., Chan P. et al. A major outbreak of severe acute respiratory syndrome on Hong Kong. New Engl J Med 2003; 348 (20): 1986–1994.
- Peiris J.S., Lai S.T., Poon L.L. et al. Coronavirus as a possible cause of severe acute respiratory syndrome. Lancet 2003; 361: 1319–1325.
- World Health Organization: <http://www.who.int/csr/sars/en/index.html>.
- Hensley L., Fritz E., Jahrling P. et al. Interferon- β 1a and SARS coronavirus replication. Emerg Infect Dis 2004; 10 (2).
- Koren G., King S., Knowles S., Phillips E. Ribavirin in treatment of SARS: A new Trick for an old drug? Can Med Ass J 2003; 168 (10): 1231.
- Liu Z.Y., Li T.S., Wang Z. et al. Clinical features and therapy of 106 cases of severe acute respiratory syndrome. Zhonghua Nei Ke Za Zhi 2003; 42: 373–377.
- Pak C., Lam C., Li A. et al. Inflammatory cytokine profile in children with severe acute respiratory syndrome. Pediatrics 2004; 113 (1): 7–14.
- Tan E.L.C., Ooi E.E., Tan H.C. et al. Inhibition of SARS Coronavirus infection in vitro with clinical approved antiviral drugs. Emerg Infect Dis [serial online] 2004 Apr [cited 2004 February 24]. Available from: URL: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol10no4/03-0458.htm>
- Zhao Z., Zhang F., Xu M. et al. Description and clinical treatment of an early outbreak of severe acute respiratory syndrome (SARS) in Guangzhou, PR Chine. J Med Microbiol 2003; 52: 715–720.
- Zhaori G. Antiviral treatment of SARS: Can we draw any conclusions? CMAJ 2003; 169 (11).
- Жуматов К.Х., Кыдырманов А.И. Ближневосточный респираторный синдром (MERS-Middle East Respiratory Syndrome): новая коронавирусная инфекция человека и животных. Биотехнология. Теория и практика. — 2015. — № 3. — С. 4–10. / Zhumatov K.Kh., Kydyrmanov A.I. Blizhnvestochnyj respiratornyj sindrom (MERS-Middle East Respiratory Syndrome): novaya koronavirusnaya infektsiya cheloveka i zhivotnykh. Biotekhnologiya. Teoriya i praktika 2015; 3: 4–10. [in Russian]
- Assiri A., Al-Tawfiq J.A., Al-Rabeeh A.A., Al-Rabiah F.A., Al-Hajjar S., Al-Barrak A. Epidemiological, demographic, and clinical characteristics of 47 cases of Middle East respiratory syndrome coronavirus disease from Saudi Arabia: a descriptive study. Lancet Infect Dis 2013; 13: 752–761.
- Ng D.L., Al Hosani F., Keating M.K. et al. Clinicopathologic, immunohistochemical, and ultrastructural findings of a fatal case of middle east respiratory syndrome coronavirus infection in the United Arab Emirates. Am J Pathol 2016. 186 (3): 652–658.
- Otter J.A., Donskey C., Yezli S. et al. Transmission of SARS and MERS coronaviruses and influenza virus in healthcare settings: the possible role of dry surface contamination. J Hosp Infect 2016; 92 (3): 235–250.
- Сыромятникова С.И., Марков В.И., Максимов В.А., Степанов Н.Н., Борисевич С.В., Меркулов В.А., Васильев Н.Т., Онищенко Г.Г., Писцов М.Н. Штамм СоД вируса тяжёлого острого респираторного синдрома рода Coronavirus, предназначенный для разработки средств и методов биологической защиты. Патент РФ № 2263144, 27.10.2005. / Syromyatnikova S.I., Markov V.I., Maksimov V.A., Stepanov N.N., Borisevich S.V., Merkulov V.A., Vasil'ev N.T., Onishchenko G.G., Pistsov M.N. Shtamm SoD virusa tyazhelogo ostrogo respiratornogo sindroma roda Coronavirus, prednaznachennyj dlya razrabotki sredstv i metodov biologicheskoy zashchity. Patent RF № 2263144, 27.10.2005. [in Russian]
- Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 2. — М., Минздрав РФ, 2013. / Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovanij lekarstvennykh sredstv. Chast' 2. — М., Minzdrav RF, 2013. [in Russian]
- Борисевич С.В., Логинова С.Я., Хамитов Р.А., Максимов В.А., Фалдина В.Н., Сыромятникова С.И. Способ моделирования тяжёлого острого респираторного синдрома у экспериментальных животных. Патент РФ №2280288, 20.07.2006. / Borisevich S.V., Loginova S.Ya., Khamitov R.A., Maksimov V.A., Faldina V.N., Syromyatnikova S.I. Sposob modelirovaniya tyazhelogo ostrogo respiratornogo sindroma u eksperimental'nykh zhivotnykh. Patent RF №2280288, 20.07.2006. [in Russian]

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Логинова Светлана Яковлевна — д. б. н., ведущий научный сотрудник, Федеральное государственное бюджетное учреждение «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации, Сергиев Посад

Шукина Вероника Николаевна — к. б. н., научный сотрудник, Федеральное государственное бюджетное учреждение «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации, Сергиев Посад

Борисевич Сергей Владимирович — д. б. н., профессор, член-корр. РАН РФ, начальник института, Федеральное

государственное бюджетное учреждение «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации, Сергиев Посад

Хамитов Равиль Авгатович — д. м. н., профессор, генеральный директор ООО «МБЦ «Генериум», Москва

Максимов Владимир Алексеевич — д. м. н., профессор, ведущий научный сотрудник, Федеральное государственное бюджетное учреждение «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации, Сергиев Посад

Шустер Александр Михайлович — д. м. н., академик РАЕН, член совета директоров ОАО «Фармстандарт»; председатель совета директоров ООО «Генериум», Москва

Интервальный прогноз величины долей доминирующих раневых патогенов в этиологической структуре раневых инфекций и оценка потенциальной эффективности антимикробных препаратов

С. Г. ФОМИНЫХ^{1,2}, *А. И. ДАНИЛОВ³, В. Н. ГОННОШЕНКО¹, Е. В. КАЛЬЧЕНКО¹

¹ Омский государственный медицинский университет Минздрава России, Омск

² Городская клиническая больница скорой медицинской помощи № 1, Омск

³ Смоленский государственный медицинский университет Минздрава России, Смоленск

Interval Prediction of the Proportion of Dominant Wound Pathogens in the Etiological Structure of Wound Infections and Evaluation of the Potential Effectiveness of Antimicrobial Agents

S. G. FOMINYKH^{1,2}, *A. I. DANILOV³, V. N. GONNOSHENKO¹, E. V. KALCHENKO¹

¹ Omsk State Medical University, Omsk

² City Clinical Hospital of Emergency Medical Care No. 1, Omsk

³ Smolensk State Medical University, Smolensk

Мониторинг количественных и качественных свойств микроорганизмов, возбудителей раневых инфекций в многопрофильном стационаре, осуществляемый диско-диффузионным методом на постоянной основе в течение периода с 2004 по 2018 гг. позволил осуществить построение краткосрочного интервального прогноза для выявления доминирующих патогенов. Наибольшее значение для определения реестра потенциально эффективных противомикробных средств в структуре раневых патогенов получили *S.aureus*, *K.pneumoniae*, *P.aeruginosa*, *S.pyogenes* и *E.faecalis*. Продемонстрирована принадлежность раневого *S.aureus* к PRSA с широким арсеналом возможно эффективных средств при раневых инфекциях, вызываемых данным возбудителем и прогрессирующее снижение потенциала цефоперазона/сульбактама и карбапенемов в отношении раневых инфекций, вызванных *K.pneumoniae* и *P.aeruginosa*. Обоснована целесообразность лабораторного тестирования потенциала возможной эффективности цефепима/сульбактама, цефтазида/авибактама, пиперациллина/тазобактама, тикарциллина/клавуланата, нетилмицина, тигециклина и дорипенема. Определена потребность в ванкомицине и линезолиде для лечения больных с раневыми инфекциями, вызванными MRSA и *E.faecalis*.

Ключевые слова: раневые инфекции, микроорганизмы, резистентность, антимикробные препараты.

Monitoring of quantitative and qualitative properties of microorganisms — pathogens of wound infections — in a multidisciplinary hospital, carried out by the disco-diffusion method on a regular basis during the period from 2004 to 2018 allowed to build a short-term interval prognosis to identify the dominant pathogens. *S.aureus*, *K.pneumoniae*, *P.aeruginosa*, *S.pyogenes*, and *E.faecalis* were the most important for determining the registry of potentially effective antimicrobial agents in the structure of wound pathogens. The affiliation of wound *S.aureus* to PRSA with a wide arsenal of possible effective agents for wound infections caused by this pathogen and a progressive decrease in the potential of cefoperazone/sulbactam and carbapenems against wound infections caused by *K.pneumoniae* and *P.aeruginosa* have been demonstrated. The feasibility of laboratory testing of the potential efficacy of ceftazidime/sulbactam, ceftazidime/avibactam, piperacillin/tazobactam, ticarcillin/clavulanate, netilmicin, tigecycline, and doripenem is justified. The need for vancomycin and linezolid for the treatment of patients with wound infections caused by MRSA and *E.faecalis* was determined.

Keywords: wound infections, microorganisms, resistance, antimicrobial agents.

Одной из задач службы клинической фармакологии в практическом здравоохранении является обеспечение максимально эффективной и безопасной фармакотерапии, вообще, и противомикробной химиотерапии, в частности [1, 2]. Для реализации принципа назначения стартового ан-

тимикробного препарата как можно быстро требуется постоянно совершенствовать технологию обеспечения многопрофильного стационара потенциально эффективными антимикробными препаратами [3, 4].

Цель исследования — построить интервальный поисковый прогноз представительства доминирующих возбудителей раневых инфекций и оценить годовую динамику потенциала антимикробных препаратов.

© Коллектив авторов, 2019

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

Таблица 1. Структура микроорганизмов, составляющих «микробный пейзаж» содержимого ран (БУЗОО «ГК БСМП № 1»)

Вид возбудителя	Год наблюдения														
	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
<i>S.aureus</i>	35,60	27,84	32,93	33,86	31,67	29,81	29,98	27,41	26,41	28,47	28,40	33,13	35,88	29,51	25,58
<i>K.pneumoniae</i>	11,75	16,06	14,52	17,27	16,15	20,33	12,70	17,51	20,22	15,31	19,69	16,10	14,77	17,02	16,68
<i>E.coli</i>	11,26	12,20	12,24	13,78	12,92	16,06	16,52	14,74	16,10	13,80	16,03	17,44	17,26	22,11	21,73
<i>S.epidermidis</i>	9,11	8,76	10,35	11,10	6,32	6,71	9,78	11,46	12,93	12,29	13,59	12,07	5,47	9,34	8,21
<i>P.aeruginosa</i>	9,60	12,46	10,35	8,84	11,80	12,20	9,23	8,12	8,64	7,77	7,93	7,84	11,22	8,51	7,53
<i>S.pyogenes</i>	8,61	3,81	2,46	3,91	4,49	2,91	3,75	3,40	4,52	5,95	3,31	2,48	2,97	3,15	2,05
<i>P.mirabilis</i>	5,63	1,98	3,66	2,54	4,42	2,37	4,86	6,80	3,89	3,17	2,48	1,55	2,01	1,85	2,31
<i>E.faecalis</i>	1,82	9,33	4,46	2,67	4,28	3,39	2,29	4,67	2,14	2,62	1,63	1,24	2,68	1,21	4,36
<i>P.vulgaris</i>	1,82	2,87	2,74	2,47	3,16	1,29	2,01	1,84	1,74	2,62	3,50	1,2	1,25	0,93	1,71
Микрококки	1,32	1,93	2,46	2,33	1,12	0,47	5,55	0	0	4,52	0	4,54	2,59	2,59	2,82
<i>C.albicans</i>	0,66	0,73	1,49	0,82	0,56	0,81	0,35	0,52	1,51	0,79	1,20	0,62	0	0,56	1,54
<i>E.cloacae</i>	0,83	0,26	0,40	0,73	0,98	0,68	0,97	0	0	0,24	0,40	0,21	0,38	0,28	0
<i>A.calcoaceticus</i>	0,50	0,63	0,34	0,34	0,21	0,88	0,49	0	0,79	0,63	0,40	0,41	2,21	1,02	2,91
<i>Citrobacter</i> spp.	0,33	0,42	0,17	0,55	0,21	0,41	0,69	0,58	0,48	0,40	0,40	0,52	0,29	1,11	0,60
<i>E.aerogenes</i>	0,83	0,36	0,40	0,50	0,56	0,14	0,35	0,63	0	0	0,40	0,41	0	0	0,77
<i>K.oxytoca</i>	0	0	0,46	0,14	0,49	0,47	0	0	0,63	0,40	0,40	0,10	0,86	0,28	0,34
<i>M.morgani</i>	0,33	0,21	0,11	0,27	0,21	0,61	0,14	0	0	0,79	0	0,10	0,01	0	0,09
<i>S.marcescens</i>	0	0,10	0	0,07	0	0,14	2	0	0	0	0,24	0	0,10	0,09	0,09
<i>P.rettgeri</i>	0	0	0,11	0,07	0	0,07	1	0	0	1	0	0	0	0	0,09
<i>S.agalactiae</i>	0	0	0,34	0,27	0,14	0,27	0,14	0	0	0	0	0	0	0,09	0,09
Анаэробы	0	0	0	0	0,14	0,20	0	0	0	0	0	0	0	0,09	0
<i>S.haemolyticus</i>	0	0,05	0	0	0,14	0	0	0	0	0,08	0	0	0	0,28	0,51
<i>Aspergilla</i> spp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,08	0	0	0	0	0
Всего	602	1918	1749	1496	1424	1476	1377	1736	1261	1261	1116	979	1326	1091	1798

Таблица 2. Величины средних долей доминирующих раневых патогенов и стандартная ошибка среднего значения по данным БУЗОО ГК БСМП №1 за период 2004–2018 гг.

Вид возбудителя	Среднее значение доли, % ($M \pm m$)	Вид возбудителя	Среднее значение доли, % ($M \pm m$)
<i>S.aureus</i>	30,43±3,25	<i>P.aeruginosa</i>	9,47±0,44
<i>K.pneumoniae</i>	16,61±0,75	<i>S.pyogenes</i>	3,85±0,42
<i>E.coli</i>	15,61±0,83	<i>E.faecalis</i>	3,25±0,53

Примечание. ОТС – безрецептурный отпуск лекарственных препаратов.

Задачи исследования:

1. Изучить этиологическую структуру раневых госпитальных инфекций;
2. Построить интервальный прогноз величины долей доминирующих раневых патогенов на ближайшие три года;
3. Оценить потенциал антимикробных препаратов и его изменение в течение одного года.

Материал и методы

Объектом исследования являлась больница скорой медицинской помощи, рассчитанная на 660 коек, оказывающая неотложную медицинскую (на 80% хирургическую) помощь жителям крупного промышленного города с населением больше миллиона человек. Содержимое ран на идентификацию возбудителей исследовали стандартным диско-диффузионным методом [5]. Эпидемиологический контроль над раневыми патогенами осуществлялся пассивным способом на среднем уровне, предполагающим забор всех возбудителей госпитальных инфекций определённой локализации (раневой), независимо от конкретной нозологической формы. Для оценки качественных свойств микроорганизмов использовали метод построения гистограмм (с использованием прикладного пакета компьютерных программ «Statistica 8») [6]. Для удобства сравнения результатов акцент делали на среднем значении (d) диаметра зоны торможения роста тестируемых колоний микроорганизма под воздействием исследуемого препарата, а также медиане (M), верхнем (V_{25}) и нижнем квартилях (V_{75}), свидетельствующих о 50% частоте встречаемости

признака, 25% и 75%, соответственно. Статистическим методом строили интервальный прогноз представительства раневых патогенов на основании непрерывного наблюдения за этиологией раневых внутрибольничных инфекций в течение пятнадцати лет.

Результаты и обсуждение

На протяжении всего времени наблюдения анализу подверглись 20 610 результатов микробиологического исследования содержимого ран пациентов с внутрибольничными раневыми инфекциями, в среднем за один год наблюдения рассматривали $1374 \pm 90,02$ результата (табл. 1). Ежегодно идентифицировали в этиологической структуре госпитальных раневых инфекций больше двадцати видов тех или иных бактерий и микромицетов (там же). В 2018 г. на семейство грамотрицательных аэробных бактерий пришлось 54,83%, грамположительных — 43,63% и грибов — 1,54%.

Доминирующим возбудителем раневых инфекций выявили *Staphylococcus aureus*, чья максимальная доля, равная 35,88%, определена в 2016 г., а минимальная — 25,58% в 2018 г. (см. табл. 1), среднее значение величины доли *S.aureus* составило $30,43 \pm 3,25\%$ (табл. 2). Существенные различия величины долевого участия *S.aureus* в этиологической структуре раневых инфекций всего лишь на

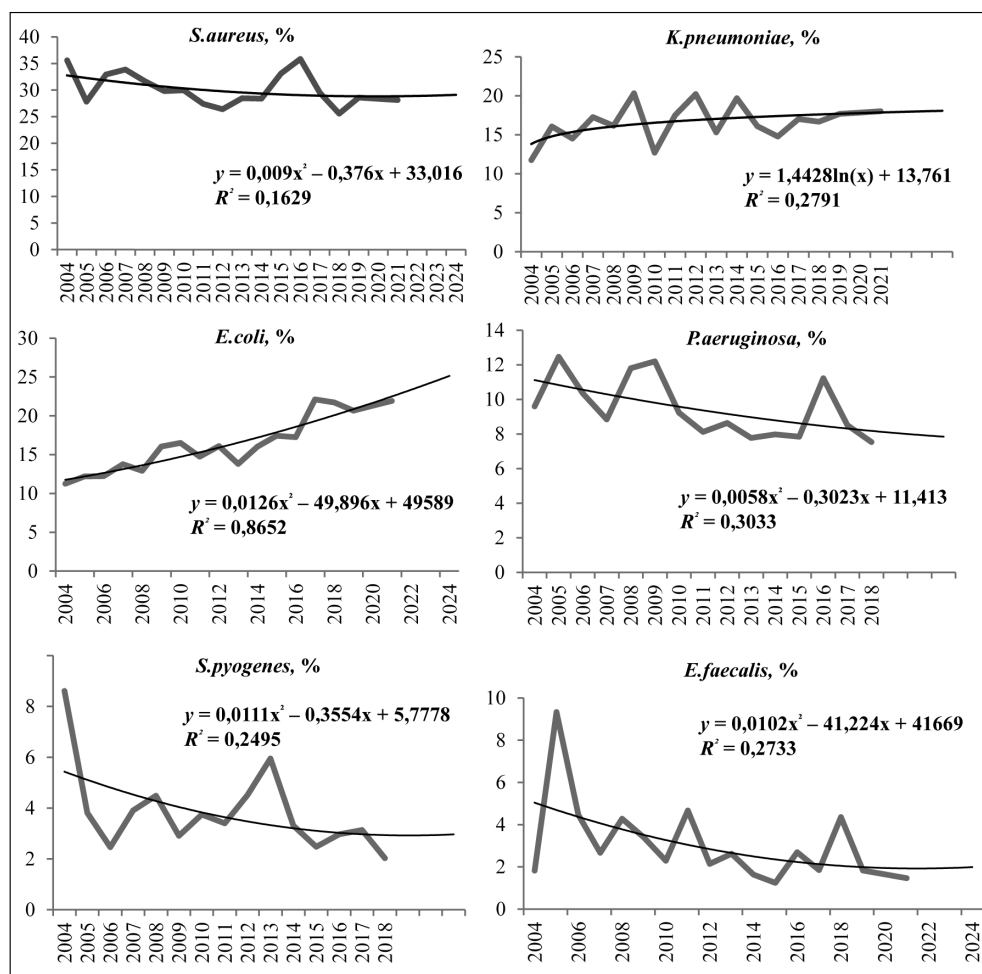


Рис. 1. Прогноз представительства доминирующих раневых патогенов на 2019–2021 гг.

отрезке трехлётнего наблюдения предопределяет особенный интерес к результату интервального прогнозирования его представительства на ближайшие три года. Построение статистического прогноза с использованием линии и уравнения полиномиального тренда позволяет утверждать, что доля *S.aureus* в период 2019–2021 гг. будет составлять 28,59; 28,36 и 28,13%, соответственно,

полусинтетическому пенициллину, что исключает его принадлежность к MRSA и подтверждается признаками гистограмм чувствительности к другим бета-лактамам: цефазолину, имипенему/циластатину и меропенему (см. табл. 3). Интересно, что в течение последнего года произошло изменение качественных свойств раневого *S.aureus* в отношении оксациллина: так, *m*

ошибка прогноза при этом составляет 5,04% (рис. 1).

Исследование качественных свойств *S.aureus*, полученного из ран, позволило выявить, что 100% стафилококковых колоний, содержащих возбудителя, продуцирующего пенициллиназу, поскольку среднее значение диаметра торможения зоны роста (*m*) составило всего 12,25 мм, медиана признака (*M*) и значение нижнего квартиля (*V*₂₅) были равны 0, и даже верхний квартиль (*V*₇₅) продемонстрировал значение, равное 26 мм, что ниже контрольного значения (*K*), составляющего 29 мм (табл. 3). Оценка чувствительности *S.aureus* к оксациллину демонстрирует, что не менее 50% популяции чувствительны к этому

Таблица 3. Показатели гистограммы признаков чувствительности к противомикробным препаратам колоний *S.aureus*, полученных из содержимого ран, в 2018 г.

Препарат	<i>n</i>	<i>m</i>	<i>M</i>	<i>V</i> ₂₅	<i>V</i> ₇₅	<i>K</i>
Бензилпенициллин	244	12,35	0	0	26	29
Оксациллин	276	16,13	24	0	26	13
Цефазолин	298	17,44	24	0	26	18
Рифампицин	299	22,27	25	22	29	20
Ванкомицин	199	19,88	20	18	21	15
Линезолид	121	27,05	26	24	30	21
Ципрофлоксацин	94	17,27	22	0	25	21
Левифлоксацин	158	20,35	24	20	27	17
Моксифлоксацин	77	20,05	24	16	26	18
Имипенем/циластатин	46	15,07	21	0	25	16
Меропенем	109	17,48	24	0	25	16

Примечание. *n* – количество исследований; *m* – среднее значение диаметра торможения зоны роста колоний исследуемого микроорганизма тестируемым препаратом (мм); *M* – медиана (мм); *V*₂₅ – нижний квартиль (мм); *V*₇₅ – верхний квартиль (мм); *K* – контрольное значение (мм).

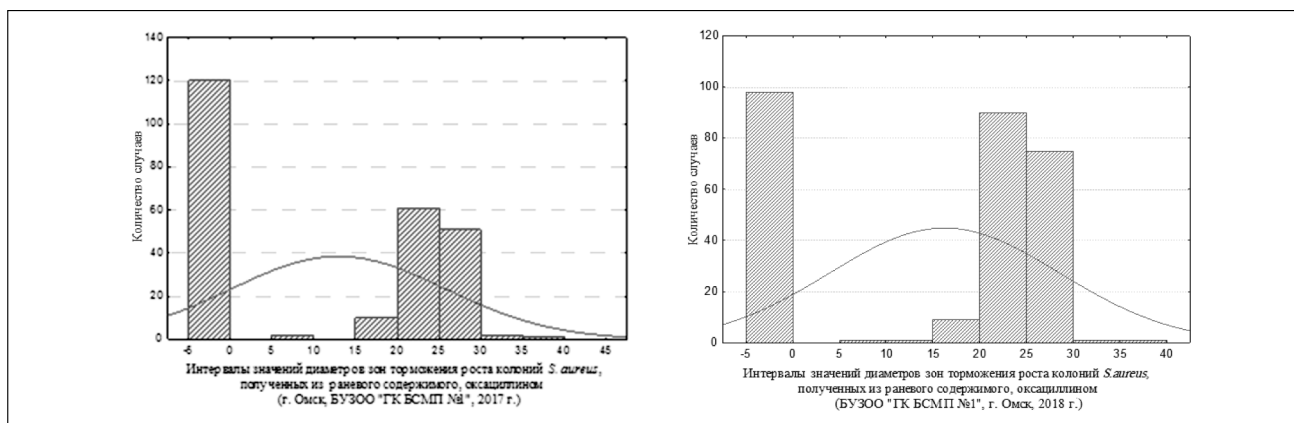


Рис. 2. Сравнение гистограмм чувствительности колоний «раневого» *S.aureus* к оксациллину в динамике 2017–2018 гг.

Таблица 4. Показатели гистограммы признаков чувствительности к противомикробным препаратам колоний *K.pneumoniae*, полученных из содержимого ран, в 2018 г.

Препарат	<i>n</i>	<i>m</i>	<i>M</i>	<i>V</i> ₂₅	<i>V</i> ₇₅	<i>K</i>
Цефтриаксон	194	3,38	0	0	0	21
Цефепим	145	3,83	0	0	0	18
Цефоперазон/сульбактам	80	16,08	23	10	25,5	16
Амикацин	192	8,77	0	0	20	17
Ципрофлоксацин	171	5,66	0	0	0	21
Левифлоксацин	100	5,98	0	0	10	17
Моксифлоксацин	48	6,27	0	0	11,5	18
Имипенем/циластатин	38	12,89	17	0	25	16
Меропенем	84	8,61	0	0	20	16

диаметра зоны торможения роста колоний *S.aureus* в 2017 г. составляло всего 12,85 мм, а значение *M*=19 мм (рис. 2).

Из семейства грамотрицательных бактерий в структуре раневых патогенов лидером явилась *Klebsiella pneumoniae*, минимальное представительство которой 11,75% обнаружено в 2004 г., а максимальное, равное 20,33% — в 2009 г. (см. табл. 1), среднее значение этого показателя составило 16,61±0,75 (см. табл. 2). Построение краткосрочного прогноза клебсиеллёзного представительства с помощью логарифмического тренда позволило определить прогнозные значения на 2019–2021 гг. как 17,64, 17,85 и 18,01%, соответственно, при этом ошибка прогноза составила 2,22% (см. рис. 1), что существенно больше среднего значения, что определяет важность своевременного включения в реестр закупаемых противомикробных препаратов антибиотиков, обладающих потенциально высокой эффективностью в отношении раневых инфекций, вызванных *K.pneumoniae*.

Оценка качественных свойств *K.pneumoniae* (табл. 4) показала, что перечень потенциально эффективных средств при раневых инфекциях клебсиеллёзной этиологии достаточно мал. Так, эффективным в диапазоне 75–100% можно считать только цефоперазон/сульбактам, показатели гистограммы значений диаметров зон торможения роста колоний *K.pneumoniae* к которому со-

ставляли: *m*=16,08 мм, *M*=23 мм, *V*₂₅=0 мм и *V*₇₅=25,5 мм при *K*=16 мм (см. табл. 4). В течение последнего года показатели, характеризующие чувствительность колоний *K.pneumoniae* к цефоперазону/сульбактаму уменьшились. Так, рассматриваемые параметры гистограммы в 2017 г. составляли: *m*=16,78 мм, *M*=24 мм, *V*₂₅=10 мм и *V*₇₅=26 мм (рис. 3). Сохранилась тенденция к прогрессирующему снижению чувствительности *K.pneumoniae* к карбапенемам. Так, показатели гистограммы значений диаметров зон торможения роста к меропенему составили: *m*=12,89 мм, *M*=17 мм, *V*₂₅=0 мм и *V*₇₅=25 мм при *K*=16 мм (см. табл. 4), что определяет потенциальный уровень эффективности в диапазоне лишь 25–50%.

Следующим по величине доли в структуре раневых патогенов выявили *Escherichia coli*, с наименьшим значением, равным 11,26% в 2004 г. и наибольшим, составившим 22,11% — в 2017 г. (см. табл. 1), среднее значение величины доли *E.coli* составило 15,61±0,83% (см. табл. 2). Построение интервального прогноза с применением линии и уравнения полиномиального тренда показывает, что на 2019–2021 гг. на долю *E.coli* может приходиться 20,67, 21,30 и 21,93%, соответственно, при ошибке прогноза, равной ±1,41 (см. рис. 1).

Качественные свойства *E.coli* показали, что реестр возможных для использования лечения раневых инфекций, вызванных этим патогеном, противомикробных средств достаточно широк и

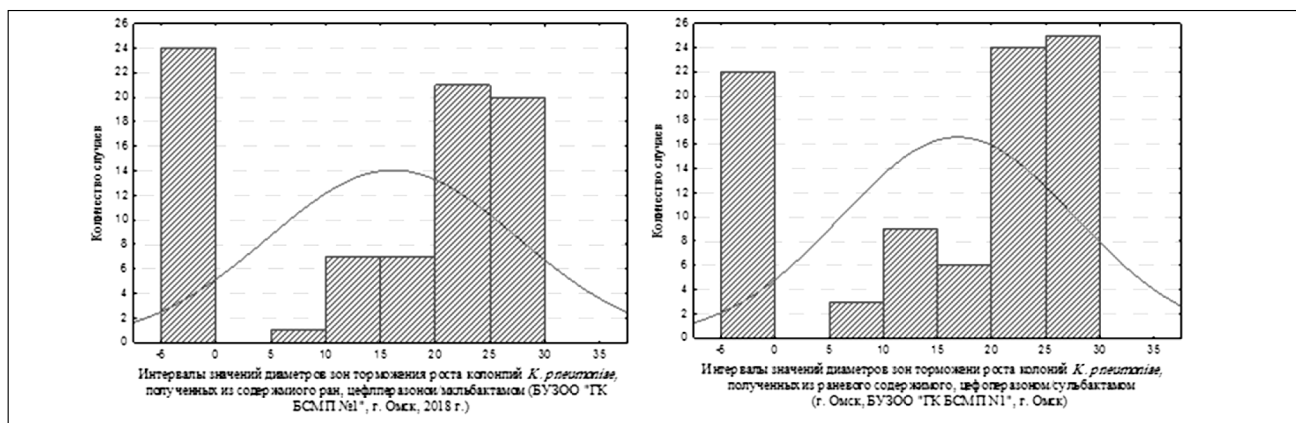


Рис. 3. Сравнение гистограмм чувствительности колоний «раневой» *K. pneumoniae* к цефоперазону/сульбактаму в динамике 2017–2018 гг.

Таблица 5. Показатели гистограммы признаков чувствительности к противомикробным препаратам колоний *E. coli*, полученных из содержимого ран, в 2018 г.

Препарат	<i>n</i>	<i>m</i>	<i>M</i>	<i>V</i> ₂₅	<i>V</i> ₇₅	<i>K</i>
Ампициллин	157	9,38	0	0	20	17
Цефтриаксон	247	16,06	22	10	24	21
Цефепим	198	17,95	23	14	25	18
Цефоперазон/сульбактам	96	21,61	25	22	26	16
Амикацин	248	17,56	20	17	22	17
Ципрофлоксацин	73	17,18	23	0	25	21
Левифлоксацин	138	18,14	21	1	25	17
Моксифлоксацин	65	17,38	24	0	25	18
Имипенем/циластатин	38	21,68	24	20	26	16
Меропенем	95	8,42	22	18	25	16

может быть представлен цефоперазоном/сульбактамом, амикацином и имипенемом/циластатином в диапазоне вероятности 75–100%, и цефтриаксоном, цефепимом, ципрофлоксацином, левофлоксацином, моксифлоксацином и меропенемом в диапазоне 50–75% (табл. 5). Однако оценка годовой динамики чувствительности «раневой» *E. coli* к ампициллину показала её очевидное снижение, в частности, в 2018 г. — $m=9,38$ мм, M и $V_{25}=0$ мм и $V_{75}=20$ мм при $K=17$ мм, в то время как указанные параметры в 2017 г. составили $m=11,52$ мм, $M=12,5$ мм, $V_{25}=0$ мм, а $V_{75}=24$ мм (рис. 4). Такая же тенденция касается и чувствительности «раневой» *E. coli* к цефтриаксону ($m=16,06$ мм в 2018 г. и 17,73 мм годом ранее, $M=22$ и 23,5 мм, $V_{25}=0$ и 10 мм, V_{75} по 24 мм в каждом из лет наблюдения при $K=17$ мм), цефоперазону/сульбактаму ($m=21,61$ мм в 2018 г. и 23,36 мм в 2017 г., $M=22$ и 24 мм, $V_{25}=22$ и 23 мм, $V_{75}=23$ и 26 мм, соответственно, при $K=16$ мм), к меропенему ($m=19,8$ мм в 2018 г. и 21,42 мм в 2017 г., $M=22$ и 24 мм, $V_{25}=18$ и 20 мм, $V_{75}=25$ и 26 мм, соответственно, при $K=16$ мм) и к ципрофлоксацину ($m=17,19$ мм в 2018 г. и 17,68 мм в 2017 г., $M=23$ мм в оба периода, $V_{25}=0$ мм и 14 мм, а $V_{75}=23$ и 24 мм при $K=16$ мм). Однако при оценке результатов оценки качественных свойств «раневой» *E. coli* к амикацину обнаружена противоположная тенденция (рис. 4), подтверждаемая следующими

показателями гистограммы ($m=17,56$ мм в 2018 г. и 15,73 мм в 2017 г., $M=20$ и 19 мм, $V_{25}=17$ и 15 мм, а $V_{75}=22$ и 20 мм, соответственно при $K=17$ мм), что необходимо учитывать при выборе потенциально эффективных препаратов второго выбора при хирургических раневых инфекциях, вызванных *E. coli*.

Как известно, маркером тяжёлых, поздних хирургических внутрибольничных инфекций является *Pseudomonas aeruginosa* [7–9]. На долю этого возбудителя приходилось в начале периода наблюдения, в 2005 г. 12,46% (максимальное значение), а в конце периода наблюдения, в 2018 г. — 7,53% (минимальное значение), среднее значение величины доли *P. aeruginosa* в структуре раневых инфекций составило $9,47 \pm 0,44\%$ (табл. 2). Несмотря на то, что построение интервального краткосрочного прогноза демонстрирует сохранение стабильного значения величины доли *P. aeruginosa* в пределах 7,79, 7,58, 7,37% в период с 2019 по 2021 гг. (ошибка прогноза 1,34%), её качественные свойства показали возможность успешного применения цефоперазона/сульбактама, амикацина, ципрофлоксацина, имипенема/циластатина и меропенема лишь в одном из четырех случаев, так как только величина верхнего квартиля превышала контрольное значение (табл. 6). При этом показатели чувствительности *P. aeruginosa* к цефепиму выявили все значения гистограммы по

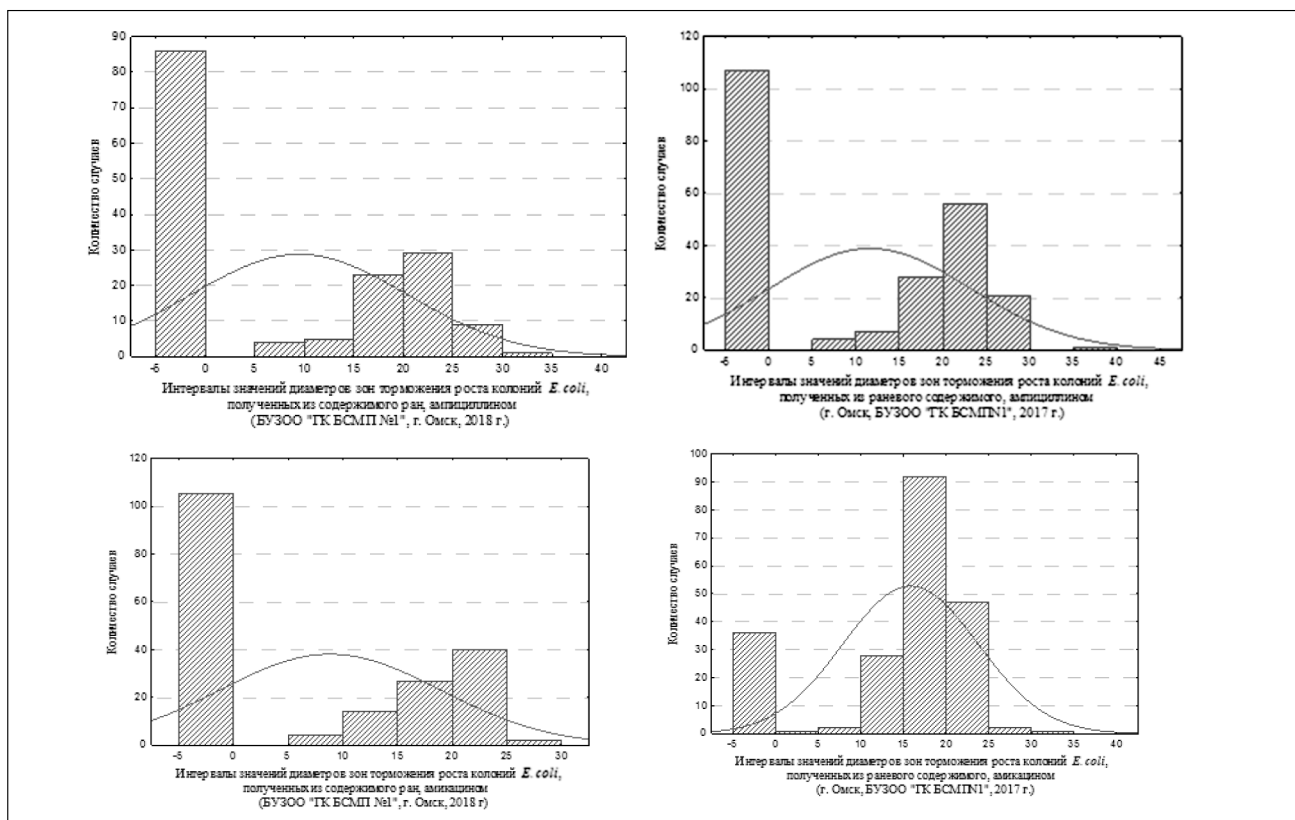


Рис. 4. Сравнение гистограмм чувствительности колоний «раневой» *E.coli* к ампициллину и амикацину в динамике 2017–2018 гг.

Таблица 6. Показатели гистограммы признаков чувствительности к противомикробным препаратам колоний *P.aeruginosa*, полученных из содержимого ран, в 2018 г.

Препарат	<i>n</i>	<i>m</i>	<i>M</i>	<i>V</i> ₂₅	<i>V</i> ₇₅	<i>K</i>
Цефепим	59	5,66	0	0	14	18
Цефоперазон/сульбактам	33	13,27	0	0	21	16
Амикацин	88	8,33	0	0	20	17
Ципрофлоксацин	57	8,51	0	0	24	21
Имипенем/циластатин	18	6,50	0	0	20	16
Меропенем	26	7,92	0	0	21	16

признаку значения диаметра зоны торможения роста колоний в диапазоне менее контрольного значения, равного 18 мм (см. табл. 6).

Величина доли *Streptococcus pyogenes* максимальной была в 2004 г. и составляла 8,61%, минимальной — в 2018 г. и составила 2,05% (см. табл. 1), среднее значение определено как $3,85 \pm 2,05\%$ (см. табл. 2). Краткосрочный прогноз представительства *S.pyogenes* показал, что на период с 2019 по 2021 гг. доля этого возбудителя может быть 2,42, 2,24 и 2,07% (ошибка прогноза 1,49%, см. рис. 1). Чувствительность *S.pyogenes* находится на высоком уровне и во все годы наблюдения сохранился высокий потенциал всех противомикробных средств, с заявленным наличием этого возбудителя в спектре активности, включая бензилпенициллин, цефотаксим и цефтриаксон.

Доля *Enterococcus faecalis* была минимальной в 2017 г. со значением, равным 1,21%, и максимальной в 2005 г., составив 9,33% (см. табл. 1), в среднем ока-

завшись равной $3,25 \pm 0,53$ (см. табл. 2). Прогноз показал, что с 2019 по 2021 гг. доля *E.faecalis* может равняться 1,83, 1,65 и 1,46% (ошибка прогноза 0,88, см. рис. 1). Качественные свойства, зафиксированные в 2018 г., оказались неизменными за все время наблюдения, и продемонстрировали сохраняющуюся высокую потенциальную эффективность ванкомицина и линезолида при полном отсутствии потенциала у других протестированных противомикробных средств (табл. 7). Так, для ванкомицина показатели гистограммы составили $m=19,06$ мм в 2018 г., а $M=20$ мм, $V_{25}=17$ мм и $V_{75}=21$ мм при $K=15$ мм, а показатели к линезолиду — $m=26,47$ мм, а $M=24$ мм, $V_{25}=24$ мм и $V_{75}=29$ мм при $K=21$ мм (см. табл. 7).

Выводы

1. Изучение этиологической структуры раневых внутрибольничных инфекций выявило по совокупности количественных и качественных характеристик доминирующими патогенами

Таблица 7. Показатели гистограммы признаков чувствительности к противомикробным препаратам колоний *E.faecalis*, полученных из содержимого ран, в 2018 г.

Препарат	n	m	M	V ₂₅	V ₇₅	K
Бензилпенициллин	43	6,3	0	0	0	29
Оксациллин	49	1,10	0	0	0	13
Цефазолин	52	2,54	0	0	0	18
Рифампицин	57	12,13	0	0	0	20
Ванкомицин	47	19,06	20	17	17	15
Линезолид	30	26,47	24	24	24	21

S.aureus, *K.pneumoniae*, *E.coli*, *P.aeruginosa*, *S.pyogenes* и *E.faecalis*.

2. Построение интервального прогноза позволяет предполагать сохранение их в качестве наиболее частых причин раневых инфекций, с возможным увеличением доли *S.aureus*, *K.pneumoniae*, *E.coli* и уменьшением доли *P.aeruginosa*, *S.pyogenes* и *E.faecalis*.

3. Оценка годовой динамики качественных свойств доминирующих раневых патогенов показала, что в отношении *K.pneumoniae* ожидаемо эффективным может быть только цефоперазон/сульбактам, чей потенциал при этом снижается, а в отношении *P.aeruginosa* требуется расширение спектра тестируемых на наличие эффективности антимикробных препаратов, в том числе инновационных — цефепима/сульбактама, цефтазидима/авибактама, и применяемых срав-

нительно давно — пиперациллина/тазобактама, тикарциллина/клавуланата, нетилмицина, тигециклина и дорипенема.

Заключение

Многолетний мониторинг количественных и качественных свойств возбудителей внутрибольничных инфекций, полученных из содержимого ран, позволяет построить интервальный краткосрочный прогноз представительства доминирующих раневых патогенов и оценить изменения потенциала эффективности антимикробных препаратов, что совершенствует технологию определения приоритетных позиций при обосновании потребности многопрофильного стационара в тех или иных препаратах с точки зрения ассортиментного перечня и количественного наполнения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Федоренко А.С., Бурбелло А.Т., Сычев Д.А., Покладова М.В. Врач-клинический фармаколог: основные трудовые функции и их необходимость в медицинской организации. Менеджер здравоохранения. — 2019. — № 4. — С. 60–68. / Fedorenko A.S., Burbello A.T., Sychev D.A., Pokladova M.V. The doctor-clinical pharmacologist: basic job function and their need for medical organization. Menedzher zdravohranenija 2019; 4: 60–68. [in Russian]
2. Данилов А.И., Жаркова Л.П. Антибиотикорезистентность: аргументы и факты. Клиническая фармакология и терапия. — 2017. — 26 (9). — С. 6–9. / Danilov A.I., Zharkova L.P. Antibiotic resistance: arguments and facts. Klinicheskaya farmakologiya i terapiya 2017; 26 (9): 6–9. [in Russian]
3. Щетинин В.Е., Батурич В.А., Дейнеко А.О., Песоцкая Л.П., Курьсь М.А. Стандартизация антибактериальной терапии в многопрофильном стационаре. Проблемы стандартизации в здравоохранении. — 2004. — № 11. — С. 32–34. / Shhetinin V.E., Baturin V.A., Dejneko A.O., Pesockaja L.P., Kury's M.A. Standardization of antibacterial therapy in a multidisciplinary hospital. Problems of standardization in health care. Problemy standartizacii v zdravohranenii 2004; 11: 32–34. [in Russian]
4. Солодовников В.В., Гайпуллина Ю.И., Елисеева Е.В., Кривелевич В.Я. Современное состояние проблемы и значение службы клинической фармакологии в оптимизации использования антибактериальных лекарственных средств. Проблемы стандартизации в здравоохранении. — 2008. — № 9. — С. 3–7. / Solodovnikov V.V., Gajpullina Ju.I., Eliseeva E.V., Krivelevich V.Ja. The current state of the problem and the importance of clinical pharmacology services in optimizing the use of antibacterial drugs. Problemy standartizacii v zdravohranenii 2008; 9: 3–7. [in Russian]
5. Семина Н.А. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: методические рекомендации. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. — 2004. — № 6 (4). — С. 306–359. / Semina N.A. Determination of the sensitivity of microorganisms to antibacterial drugs: methodical recommendations. Klinicheskaja mikrobiologija i antimikrobnaja himioterapija 2004; 6 (4): 306–359. [in Russian]
6. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica. 3-е изд. М.: Медиасфера, 2006. — С. 312. / Rebrova O.Ju. Statistical analysis of medical data. Use the Statistica application package. 3rd ed.. Moskva: Mediasfera, 2006; 312. [in Russian]
7. Скленова Е.Ю., Азизов И.С., Шек Е.А., Эдельштейн М.В., Козлов Р.С., Дехнич А.В. *Pseudomonas aeruginosa* в РФ: история одного из наиболее успешных нозокомиальных патогенов. Клиническая микробиология и химиотерапия. — 2018. — № 20 (3). — С. 164–171. / Skleenova E.Ju., Azizov I.S., Shek E.A., Jejdel'shtejn M.V., Kozlov R.S., Dehnich A.V. *Pseudomonas aeruginosa* in Russia: history of one of the most successful nosocomial pathogens. Klinicheskaja mikrobiologija i himioterapija 2018; 20 (3): 164–171. [in Russian]
8. Burke J.P. Infection control — a problem for patient safety. New Engl J Med 2003; 348: 651–656.
9. Evans H.L. Cost of Gram-negative resistance. Crit Care Med 2007; 35: 89–95.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Фоминых Стелла Геннадьевна — д. м. н., профессор кафедры фармакологии, клинической фармакологии ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России; БУЗОО «ГК БСМП №1», Омск

Данилов Андрей Игоревич — к. м. н., ассистент кафедры клинической фармакологии ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Смоленск

Гонношенко Василий Николаевич — клинический ординатор кафедры фармакологии, клинической фармакологии ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, Омск

Кальченко Елена Вячеславовна — клинический ординатор кафедры фармакологии, клинической фармакологии ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, Омск

Непреднамеренная передозировка азитромицина и длительная терапия амоксициллином/клавуланатом без развития гепатотоксического действия у пациентки с сахарным диабетом I типа: описание случая

*И. В. АНДРЕЕВА¹, О. У. СТЕЦЮК¹, Е. В. ДОВГАНЬ², Л. М. СОЛОВЬЕВА²

¹ НИИ антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения России, Смоленск

² ОГБУЗ «Смоленская областная клиническая больница», Смоленск

Unintentional Azithromycin Overdose and Prolonged Therapy with Amoxicillin/Clavulanate without the Development of Hepatotoxicity in a Patient with Type I Diabetes: Case Description

* I. V. ANDREEVA¹, O. U. STETSYUK¹, E. V. DOVGAN², L. M. SOLOVIEVA²

¹ Smolensk state medical university of the Ministry of Health of the Russian Federation, Smolensk

² Smolensk Regional Clinical Hospital, Smolensk

Введение. Применение антибактериальных препаратов нередко связывают с развитием лекарственных поражений печени (ЛПП). Известно, что амоксициллин/клавуланат и макролиды могут вызывать ЛПП. **Описание случая.** Пациентка 48 лет с тяжёлым сахарным диабетом I типа получала амбулаторно по поводу карбункула волосистой части головы азитромицин в дозе 1,0 г × 2 раза в сутки в течение 4,5 дней (общая курсовая доза азитромицина — 9 г; данное назначение следует рассматривать как случай непреднамеренной передозировки азитромицина) и затем в стационаре амоксициллин/клавуланат в дозе 875/125 мг × 2 раза в сутки в течение 32 дней. При проведении биохимических исследований крови в динамике на протяжении более 2 мес. с начала приёма азитромицина признаков поражения печени обнаружено не было. **Вывод.** Несмотря на ожидаемое развитие гепатотоксичности из-за значимой передозировки азитромицином и длительного применения амоксициллина/клавуланата в стандартной дозе, ЛПП не возникло. Данный случай продемонстрировал, что для развития ЛПП, помимо установленных факторов риска (например, доза и/или длительность применения препарата), необходимо наличие генетической предрасположенности.

Ключевые слова: азитромицин, непреднамеренная передозировка, амоксициллин/клавуланат, лекарственные поражения печени.

Background. The use of antibiotics is often associated with the development of drug-induced liver injury (DILI). It is known that amoxicillin/clavulanate (AMC) and macrolides can cause DILI. **Case presentation.** A 48-year-old female with severe type I diabetes mellitus and carbuncle of scalp was treated in outpatient department with azithromycin 1.0 g b.i.d. for 4.5 days (total course dose — 9.0 g; this case should be considered as inadvertent azithromycin overdose) and then with a standard dose of AMC (875/125 mg b.i.d.) for 32 days in the hospital. Clinical chemistry monitoring for more than two months did not reveal any signs of DILI. **Conclusion.** Despite the anticipated hepatic injury as consequence of significant azithromycin overdose and long-term (>30 days) standard dose AMC treatment no DILI developed. This case demonstrates that a genetic predisposition is necessary for the development of DILI in addition to the well-known risk factors such as dose and/or duration of treatment.

Keywords: azithromycin, inadvertent azithromycin overdose, amoxicillin/clavulanate, drug induced liver damage.

Введение

Антибактериальные препараты (АБП) — группа лекарственных средств, применение которых нередко связывают с развитием гепатотоксических реакций [1]. Для большинства АБП относительный риск гепатотоксичности является невысоким, а

число репортируемых случаев связано с достаточно частым назначением этих препаратов в клинической практике [1]. Среди бета-лактамов антибиотиков наибольший риск возникновения лекарственных поражений печени (ЛПП) приписывают амоксициллину/клавуланату (АМК) (за счёт клавулановой кислоты) [1]. В последние годы также отмечается интерес к случаям возникновения гепатотоксичности на фоне использования макролидов, в частности, азитромицина [2–4].

© Коллектив авторов, 2019

*Адрес для корреспонденции: 214019 Смоленск, ул. Крупской, д. 28

Результаты биохимических исследований в динамике

День с момента начала приёма азитромицина	Биохимические маркеры (норма)					
	Общий белок	Общий билирубин	АЛТ	АСТ	ГГТ	ЩФ
	(65–85), г/л	(6,8–20,5), мкмоль/л	(10–40), ЕД/л	(8–40) ЕД/л	(5–55), ЕД/л	(32–120), ЕД/л
6-е сутки	68	13	14	18	16	91
16-е сутки	70	11	19	23	Нет данных	78
30-е сутки	65	10,8	26	31	18	57
71-е сутки (амбулаторно)	76	10	16	22	17	61

Описание случая

Пациентка 48 лет, масса тела 59 кг, поступила в стационар с жалобами на наличие карбункула в области волосистой части головы справа, горечь во рту, тяжесть в правом подреберье. Страдает тяжёлым сахарным диабетом I типа в течение 16 лет, получает инсулин деглудек/инсулин аспарт (Райзодег) 30 ЕД × 2 раза в день и инсулин аспарт (НовоРапид) 10 ЕД днём. За 5 дней до госпитализации пациентке амбулаторно хирургом поликлиники был вскрыт карбункул в области волосистой части головы, после чего назначен азитромицин, который она принимала в дозе 1 г × 2 раза в сутки в течение 4,5 дней (до поступления в стационар). Общая курсовая доза азитромицина составила 9 г. Пациентка не смогла объяснить, был ли азитромицин в такой дозе назначен хирургом, или она неправильно поняла рекомендованный режим приёма. В любом случае данное назначение следует рассматривать как случай непреднамеренной передозировки азитромицина. На основании жалоб на горечь во рту, тяжесть в правом подреберье и анамнестических данных было заподозрено гепатотоксическое действие азитромицина.

При проведении биохимических исследований крови в динамике на протяжении более 2 мес. с начала приёма азитромицина признаков поражения печени обнаружено не было (таблица). Жалобы на горечь во рту, тяжесть в правом подреберье беспокоили только в первые сутки госпитализации (5-й день с момента начала терапии азитромицином).

ЭКГ (на 7-е сутки от приёма азитромицина) — ритм синусовый, ЧСС — 83 уд/мин., QT — 0,34 мс, без отклонений.

При бактериологическом исследовании отделяемого из карбункула был выявлен рост *Staphylococcus aureus* (IV ст.), устойчивого к азитромицину и клиндамицину, чувствительного к оксациллину, ципрофлоксацину, ко-тримоксазолу. Пациентке была выполнена вторичная хирургическая обработка п/о раны теменной области с ревизией на затёки, назначена АБ терапия цефазолином 2 г 3 раза в сутки в/в в течение 4 дней, затем амоксициллином/клавуланатом внутрь (875/125 мг 2 раза в сутки на протяжении 32 дней, АМК назначался с 10-го дня с момента начала приёма азитромицина). После второго этапа операции (ВХО с наложением вторичных швов) пациентка была выписана из стационара в удовлетворительном состоянии (общая продолжительность нахождения в стационаре — 37 дней).

Обсуждение

В описанном нами случае непреднамеренной передозировки азитромицина (2 г/сутки, что соответствует ~34 мг/кг/сутки, 9 г — курсовая доза) и последующего длительного (в течение 32 дней) применения АМК в стандартной дозе (875/125 мг 2 раза в сутки внутрь) можно было ожидать развития гепатотоксического эффекта.

На текущий момент (август 2019 г.) в базе данных Национальной медицинской библиотеки США MEDLINE имеется единственная публикация, которая описывает случай непреднамеренной передозировки азитромицина (препарат на-

значался в дозе 50 мг/кг однократно) у 9-месячного ребенка с последующим развитием жизнеугрожающей брадиаритмии с удлинением интервала QT и полной блокадой сердца [5]. Других клинических случаев передозировки азитромицина в доступных источниках найти не удалось.

Что касается гепатотоксичности, то макролиды относят к числу относительно безопасных лекарственных средств в плане развития ЛПП, так как их гепатотоксический потенциал расценивается в пределах 3,5 случая на 100 тыс. пациентов, при этом риск гепатотоксичности при лечении азитромицином существенно ниже, чем при применении 14-членных макролидов [6]. Тем не менее, собственная гепатотоксичность, как и для подавляющего большинства ЛС других групп, в той или иной степени свойственна всем макролидам, в связи с чем их применение в высоких дозах и/или длительное использование может быть сопряжено с риском развития нарушений функции печени [7].

Как правило, развитие ЛПП можно ожидать в течение 1–3 нед. от начала применения азитромицина. ЛПП протекают в виде гепатоцеллюлярной формы (повышение АЛТ более чем в 3 раза выше верхней границы нормы — ВГН), реже может развиваться холестатический вариант (ЩФ более чем в 2 раз выше ВГН, АЛТ / ЩФ <2) [4, 8, 9, 10].

Регистрируемые случаи ЛПП на фоне приёма АМП могут быть обусловлены амоксициллином/клавуланатом [11, 12]. В когорте пациентов с ЛПП 12,8–14% случаев вызваны амоксициллином/клавуланатом [13]. По расчётным данным D. Larrey с соавт., частота развития клинически выраженного гепатита при терапии АМК составляет <1 случая на 100 тыс. принимавших его больных [14]. По данным же испанских авторов, частота развития ЛПП выше и варьирует от 1 до 17 случаев на 100 тыс. применений препарата [13]. В исследовании, выполненном в Великобритании, желтуха была выявлена в 9,91 случаях на 100 тыс. пациентов, получавших АМК [15].

Наиболее часто гепатотоксичность АМК проявляется в виде холестатической реакции, развивающейся через 1–4 нед. после прекращения терапии [14, 16]. Описано также более позднее возникновение симптомов (через 8 нед. после прекращения терапии), а также длительное сохранение холестаза с развитием дуктопе-

нии [14, 17]. В патогенезе гепатотоксичности АМК также имеет значение иммунологическая идиосинкразия, связанная с наличием определённых антигенов HLA класс II [18, 19].

В описанном выше случае, несмотря на ожидаемое развитие гепатотоксичности, которое могло быть обусловлено, с одной стороны, значимой передозировкой азитромицина, и, с другой стороны, длительным (>30 дней) применением

амоксциллина/клавуланата в стандартной дозе, ЛПП не возникло. Данный случай продемонстрировал, что для развития ЛПП, помимо установленных факторов риска (пожилой возраст, сопутствующая патология печени, доза и/или длительность применения препарата), видимо, необходимо наличие генетической предрасположенности к возникновению такого рода нежелательной лекарственной реакции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Robles M., Toscano E., Cotta J. et al. Antibiotic-induced liver toxicity: mechanisms, clinical features and causality assessment. *Curr Drug Saf* 2010; 5 (3): 212–222.
2. Suriawinata A., Min A.D. A 33-year-old woman with jaundice after azithromycin use. *Semin Liver Dis* 2002; 22 (2): 207–210.
3. Lockwood A.M., Cole S., Rabinovich M. Azithromycin-induced liver injury. *Am J Hlth Syst Pharm* 2010; 67: 810–814.
4. Martinez M.A., Vuppalaanchi R., Fontana R.J. et al. Clinical and histologic features of azithromycin-induced liver injury. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2015; 13 (2): 369–376.
5. Tilelli J.A., Smith K.M., Pettignano R. Life-threatening bradyarrhythmia after massive azithromycin overdose. *Pharmacotherapy* 2006; 26 (1): 147–150.
6. Leitner J.M., Graninger W., Thalhammer F. Hepatotoxicity of antibacterials: Pathomechanisms and clinical. *Infection* 2010; 38 (1): 3–11.
7. Periti P., Mazzei T., Mini E. et al. Adverse effects of macrolide antibiotics. *Drug Saf* 1993; 9: 346–364.
8. Chang C.Y., Schiano T.D. Review article: drug hepatotoxicity. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 25 (10): 1135–1151.
9. Björnsson E. Review article: drug-induced liver injury in clinical practice. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 32 (1): 3–13.
10. Sarges P., Steinberg J.M., Lewis J.H. Drug-Induced Liver Injury: Highlights from a Review of the 2015 Literature. *Drug Saf* 2016 May 3.
11. Sgro C., Clinard F., Ouazir K. et al. Incidence of drug-induced hepatic injuries: a French population-based study. *Hepatology* 2002; 36: 451–455.
12. Andrade R.J., Lucena M.I., Fernandez M.C. et al. Drug-induced liver injury: an analysis of 461 incidences submitted to the Spanish registry over a 10-year period. *Gastroenterology* 2005; 129: 512–521.
13. Robles M., Andrade R.J. Hepatotoxicity by antibiotics: update in 2008. *Rev Esp Quimioter* 2008; 21 (4): 224–233.
14. Larrey D., Vial T., Micaleff A. et al. Hepatitis associated with amoxycillin/clavulanic acid combination report of 15 cases. *Gut* 1992; 33: 368–371.
15. Hussaini S.H., O'Brien C.S., Despot E.J. et al. Antibiotic therapy: a major cause of drug-induced jaundice in southwest England. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2007; 19: 15–20.
16. Lucena M.I., Andrade R.J., Fernandez M.C. et al. Determinants of the clinical expression of amoxicillin-clavulanate hepatotoxicity: a prospective series from Spain. *Hepatology* 2006; 44: 850–856.
17. Richardet J.P., Mallat A., Zafrani E.S. et al. Prolonged cholestasis with ductopenia after administration of amoxicillin/clavulanic acid. *Dig Dis Sci* 1999; 44: 1997–2000.
18. Hautekeete M.L., Horsmans Y., Van Waeyenbergh C. et al. HLA association of amoxicillin-clavulanate-induced hepatitis. *Gastroenterology* 1999; 117: 1181–1186.
19. Grant L.M., Rockey D.C. Drug-induced liver injury. *Curr Opin Gastroenterol* 2012; 28 (3): 198–202.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Андреева Ирина Вениаминовна — к. м. н., ст. н. с., доцент НИИ антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения России, Смоленск

Стецюк Ольга Ульяновна — к. м. н., ст. н. с., НИИ антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения России, Смоленск

Довгань Евгений Валерьевич — к. м. н., зав. отделением клинической фармакокинетики ОГБУЗ «Смоленская областная клиническая больница», Смоленск

Соловьева Людмила Михайловна — зав. отделением эндокринологии ОГБУЗ «Смоленская областная клиническая больница», Смоленск

Обоснование возможности применения антиоксидантных препаратов с целью профилактики внебольничной пневмонии у военнослужащих, проходящих военную службу по призыву

С. А. ПАРФЕНОВ, И. А. ТУЧИН

Северо-Западный институт управления Российской академии народного хозяйства и государственной службы при Президенте Российской Федерации, Санкт-Петербург

Substantiation of Antioxidant Drug Use for the Prevention of Community-Acquired Pneumonia in Military Personnel Serving in Conscription

S. A. PARFENOV, I. A. TUCHIN

North-West Institute of Management of the Presidential Academy of National Economy and Public Administration, Saint-Petersburg

Одной из причин снижения резистентности организма военнослужащих молодого пополнения является стресс. По результатам комплексных исследований структурных нарушений лёгочной ткани под действием стрессогенных факторов, была установлена значительная роль активации процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ). ПОЛ представляет собой свободнорадикальное окисление полиненасыщенных жирных кислот в биологических системах, являющееся одним из основных процессов повреждения биологических мембран и других компонентов клетки. Патологическое действие активных форм кислорода, гидроксильных, алкоксильных и прочих свободных радикалов приводит к уменьшению количества сурфактанта, отёку лёгочной ткани, нарушению микроциркуляции, снижению рецепторных механизмов клеток трахеобронхиального дерева, что в конечном итоге приводит к нарушению структуры респираторных отделов лёгких и системы местной резистентности. Защитной системой организма от процессов ПОЛ являются антиоксиданты, которые представляют собой группу эндо- и экзогенных биологически активных веществ, способных блокировать действие активных форм кислорода. Проведённые исследования показывают, что превентивное введение антиоксидантов снижает патологическое действие активных форм кислорода. Так, например, введение комплекса веществ, таких как α -токоферол, аскорбиновая кислота, а также комплексного препарата Цитофлавин, способствует сохранению количества сурфактанта на должном уровне, снижению отёка лёгочной ткани, профилактирует нарушения микроциркуляции. Таким образом, превентивное использование антиоксидантных препаратов способствует развитию пульмонопротекторного действия, сохранению активности системы местного иммунитета, что в свою очередь приводит к профилактике развития внебольничной пневмонии у военнослужащих, проходящих период адаптации к военной службе.

Ключевые слова: внебольничная пневмония, антиоксиданты, военнослужащие срочной службы, цитофлавин, профилактика.

Stress is one of the reasons for the decrease in body resistance of young recruits in military personnel. A significant role of activation of lipid peroxidation (LPO) processes was established according to the results of complex studies of structural disorders of the lung tissue under the influence of stress factors. LPO is a free radical oxidation of polyunsaturated fatty acids in biological systems, which is one of the main processes of causing damage to biological membranes and other components of the cell. The pathological effect of reactive oxygen species, hydroxyl, alkoxy, and other free radicals leads to a decrease in the amount of surfactant, pulmonary tissue edema, impaired microcirculation, reduction in the receptor mechanisms of the tracheobronchial tree cells, which ultimately leads to the disruption of the respiratory structure of the lungs and local resistance system. Antioxidants serve as the protective system of the body against LPO processes. They are a group of endogenous and exogenous biologically active substances that can block the action of reactive oxygen species. Studies have shown that the preventive introduction of antioxidants reduces the pathological effect of reactive oxygen species. For example, the introduction of a complex of substances such as α -tocopherol, ascorbic acid, as well as the complex preparation Cytoflavin®, helps to maintain the proper amount of surfactant, reduce pulmonary edema, and prevent microcirculation disorders. Thus, the preventive use of antioxidant drugs contributes to the development of pulmonoprotective action, preserving the activity of the local immunity system, which, in turn, leads to the prevention of the development of community-acquired pneumonia in military personnel undergoing a period of adaptation to military service.

Keywords: community-acquired pneumonia, antioxidants, conscripts, cytoflavin, prophylaxis.

Внебольничная пневмония (ВП) — это острое заболевание, возникшее во внебольничных условиях, то есть вне стационара или позднее 4 нед.

© С. А. Парфенов, И. А. Тучин, 2019

Адрес для корреспонденции: 199178, г. Санкт-Петербург, Средний пр. В.О., д. 57/43. СЗИУ РАНХиГС

после выписки из него, или диагностированное в первые 48 ч от момента госпитализации, или развившееся у пациента, не находившегося в домах сестринского ухода или отделениях длительного медицинского наблюдения более 14 сут., сопровождающееся симптомами инфекции нижних отделов дыхательных путей (лихорадка, кашель,

выделение мокроты, возможно гнойной, боль в грудной клетке, одышка) и рентгенологическими признаками «свежих» очагово-инфильтративных изменений в лёгких при отсутствии очевидной диагностической альтернативы [1].

К развитию внебольничной пневмонии приводит снижение местной резистентности тканей трахеобронхиального дерева совместно с массивным поступлением микроорганизмов (либо единичное поступление высоковирулентных штаммов). В настоящее время выделяют 4 основных патогенетических механизма, встречающихся с различной частотой:

- а) аспирация секрета ротоглотки;
- б) вдыхание аэрозоля, содержащего микроорганизмы;
- в) гематогенное распространение микроорганизмов из внелёгочного очага инфекции (эндокардит трикуспидального клапана, септический тромбофлебит вен таза);
- г) контактное распространение инфекции из соседних пораженных органов (например, абсцесс печени) или в результате инфицирования при проникающих ранениях грудной клетки.

Ведущим механизмом развития ВП является аспирация секрета ротоглотки, содержащего микроорганизмы, в сочетании с нарушением нормальной функции системы местного иммунитета [1, 2].

Местную резистентность трахеобронхиального дерева [3–5] обеспечивают мукоцилиарный аппарат, кашлевой рефлекс, кондиционирующая функция лёгких, секреторный иммуноглобулин, бронхо-ассоциированная лимфатическая ткань, иммунная система альвеолярной и бронхиальной стенки, система альвеолярных макрофагов, белки сурфактанта, кислотный характер трахеобронхиального секрета, а также антиоксидантная система альвеолярной стенки [6, 7].

Мукоцилиарный аппарат (МЦА) представляет собой комплекс, состоящий из реснитчатых эпителиальных клеток, образующих реснитчатый аппарат бронхов, трахеи, полости носа, собственно ресничек со слизистым слоем, который обеспечивается функцией секреторных желёз бокаловидных клеток, клеток Клара, а также серозных желёз. Основная функция МЦА — это мукоцилиарный транспорт, который обеспечивает непрерывное выведение секрета, содержащего инородные частицы, в том числе микроорганизмы и обеспечивает неспецифическую защиту лёгочной ткани [8, 9].

Альвеолярные макрофаги (АМ), по данным некоторых авторов (К. С. Голохваст, В. В. Чайка) [7], являются основными иммунными клетками лёгочной ткани. АМ представляют собой многофункциональные клетки, обеспечивающие иммуномодуляцию, иммунопротекцию, а также обладающие секреторной активностью. Помимо этого они обеспечивают защиту от вдыхаемой пыли,

токсинов за счёт изоляции и элиминации, а также осуществляют фагоцитоз микроорганизмов.

Таким образом, система местного иммунитета лёгочной ткани и трахеобронхиального дерева представляет собой сложный многокомпонентный комплекс взаимосвязанных механизмов, структур и клеток.

Действие этиологических факторов наиболее полно реализуется в организованных коллективах, к которым, в частности, относятся воинские.

Согласно Федеральному закону № 53-ФЗ от 28.03.1998 года «О воинской обязанности и военной службе», прохождение военной службы осуществляется гражданами РФ по призыву [10, 11]. Призыву на военную службу в мирное время подлежат граждане мужского пола в возрасте от 18 до 27 лет, не имеющие права на освобождение от призыва. Прибытие призывных команд в воинские части осуществляется из любых регионов Российской Федерации с различной эпидемиологической обстановкой [2, 12].

Стоит отметить, что военная служба связана с беспрекословным и точным выполнением приказов, несением боевых дежурств, обращением с боевым оружием, а также, зачастую, экстремальными условиями деятельности, в которых необходимо оперативно и грамотно принять решение [13, 14]. Всё это требует от военнослужащих высокого физического, морального и психоэмоционального напряжения, что приводит к развитию такого состояния, как стресс [2, 15–17].

В 1936 г. канадский учёный Ганс Селье определил стресс как неспецифический ответ всего организма на любое воздействие. Однако в настоящее время установлено, что при чрезмерном или длительном воздействии стрессора и недостаточности адаптационных механизмов возникают нарушения на уровне функций органов, что может трансформироваться в ведущее звено патогенеза психических и соматических заболеваний [9, 16].

На современном этапе развития науки проведено множество исследований по изучению молекулярно-генетических и биохимических процессов при стрессовой реакции организма [3, 5, 6]. Кратковременное действие стрессогенного фактора приводит к усилению функции клеток с мобилизацией всех ресурсов. Пролонгированное воздействие неблагоприятных факторов приводит к истощению ресурсов и активации необратимых процессов в клетке, которые ведут к её гибели [18–20]. К таким процессам относят: накопление внутриклеточного Ca^{2+} , угнетение метаболической и белоксинтетической функции, а также активация ПОЛ (Cernak et al., 2000; А. П. Салей, М. И. Рецкий, 2003).

Морфологические исследования изменений в лёгочной ткани, возникающие при действии на организм стресса, свидетельствуют о нарушении

функционирования системы местного иммунитета, которое проявляется снижением количества сурфактанта во всех отделах лёгкого в среднем в 2,3—2,9 раз. Так же морфологами отмечено изменение состояния альвеол. Под действием стресс-реакции происходило увеличение толщины межальвеолярных перегородок в среднем в 1,2—1,4 раза, в то же время отмечено достоверное снижение её прочности. Данные явления протекали на фоне снижения объёма альвеолы в 1,2 раза. При гистологическом исследовании стенок альвеол обнаружено уменьшение объёмной доли коллагеновых (в 2,3—3,2 раза) и эластических (в 1,3—1,4 раза) волокон. Установлено, что количество экссудата в стадию тревоги стресс-реакции возрастает в 24 раза, а количество отложений фибрина в нём увеличивается в 2,5 раза [21].

Объёмная доля клеток увеличивается, в среднем, в 1,4 раза, что свидетельствует о лейкоцитарной инфильтрации паренхимы лёгких. Концентрация эозинофилов повышается в 3,6 раза, макрофагов — в 2,7 раза, лимфоцитов — в 1,5 раза.

Выявлено, что медиаторы и метаболиты стресс-лимитирующих систем — глицин, ГОМК, даларгин и альфа-токоферол — оказывают пульмонопротекторное действие при стрессе. Также установлено, что антиоксидантные вещества предупреждают разрушение сурфактанта в лёгких, при этом наибольшим эффектом обладает даларгин, альфа-токоферол и комплекс данных антиоксидантных веществ. Даларгин блокирует образование продуктов ПОЛ на всех этапах, альфа-токоферол инактивирует гидроперекиси. Все стресс-лимитирующие вещества уменьшают развитие отёка, но наиболее эффективно превентивное введение комплекса стресс-лимитирующих веществ [21]. При этом они уменьшают объёмную долю межальвеолярных перегородок лёгких, а введение даларгина нормализует этот показатель. Прочность межальвеолярных перегородок при введении стресс-лимитирующих веществ в той или иной степени сохраняется, при этом, наиболее эффективен комплекс стресс-лимитирующих веществ.

Комплексный препарат Цитофлавин — метаболическое средство, включающее в себя рибофлавин, инозин, янтарную кислоту и никотинамид. Все компоненты Цитофлавина являются естественными метаболитами организма и стимулируют тканевое дыхание, что проявляется выраженным антиоксидантным эффектом [22, 23].

Проведённые многими авторами исследования позволили установить, что цитофлавин благоприятно влияет на активность компонентов антиоксидантной системы. Было установлено, что содержание церулоплазмينا в крови достоверно выше аналогичного показателя у контрольной группы на 16—24%, витамина Е — на 16—25%, каталазы — на 33—54%. Таким образом, Цитоф-

лавин в условиях воздействия стресс-индуцирующих факторов на организм приводит к стабилизации процессов пероксидации на фоне повышения активности основных компонентов антиоксидантной системы [24—26].

В настоящее время, согласно Приказу Министерства обороны «Об утверждении норм снабжения медицинским имуществом соединений, воинских частей и организаций ВС РФ на мирное время» [27], витамины С и Е поступают на снабжение в воинские части в виде поливитаминных комплексов, препарат «Цитофлавин» на снабжение не поступает. Высокая заболеваемость, частота осложнений и длительность трудопотерь диктует необходимость проведения дополнительных сравнительных исследований в условиях воинского подразделения [28, 29]. Также стоит отметить, что предлагаемый препарат представлен в удобной для войскового звена лекарственной форме — таблетки и капсулы, что облегчает приём и предупреждает возможность передозировки. Помимо прочего, Цитофлавин обладает большой терапевтической широтой, в пределах которой лишён побочных эффектов, и, что, немаловажно, что, по данным литературы, отсутствуют сведения об аллергических реакциях.

Выводы

1. Внебольничная пневмония у военнослужащих, проходящих службу по призыву, является военно-эпидемиологически значимым заболеванием, что определяется существенной долей данной патологии в структуре заболеваемости искомой группы, а что более важно, вероятностью тяжёлого и осложнённого течения с угрозой летального исхода. Немаловажно отметить, что внебольничная пневмония характеризуется высоким уровнем трудопотерь, склонностью к эпидемическому распространению с охватом большого числа личного состава (прежде всего лиц молодого пополнения).

2. Основным патогенетическим фактором внебольничной пневмонии являются расстройства системы активного местного иммунитета, выражающиеся в снижении количества сурфактанта во всех отделах лёгких, изменении состояния альвеол, увеличении толщины межальвеолярных перегородок, достоверном снижении её прочности, снижении объёма альвеолы в 1,2 раза, а также развитии отёка и микрокровоизлияний в слизистую альвеол. Превентивное применение комплексного антиоксидантного препарата Цитофлавин позволит снизить активность процессов перекисного окисления липидов и, следовательно, уменьшить повреждающее действие активных форм кислорода на ткани, что приведёт к сохранению системы местной резистентности на должном уровне, прерывая патогенетический механизм развития внебольничной пневмонии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кучмин А.Н., Акимкин В.Г., Синопальников А.И. Диагностика, лечение и профилактика внебольничной пневмонии у военнослужащих МО РФ: Метод. указания ГВМУ МО РФ. М.: ГВКГ им. Н.Н.Бурденко. — 2010. — 66 с. / Kuchmin A.N., Akimkin V.G., Sinopalnikov A.I. Diagnostika, lechenie i profilaktika vnebolnichnoy pnevmonii u voennosluzhashchikh MO RF: Metod. ukazaniya GVMU MO RF. M.: GVKG im. N.N.Burdenko. 2010; 66. [in Russian]
2. Жоголев С.Д., Огарков П.И., Жоголев П.Д. соавт. Эпидемиология и профилактика внебольничных пневмоний у военнослужащих. Воен.-мед. журн. — 2013. — № 11. — С. 55—60. / Zhogolev S.D., Ogarkov P.I., Zhogolev P.D. soavt. Epidemiologiya i profilaktika vnebolnichnykh pnevmonii u voennosluzhashchikh. Voenn-med zhurn 2013; 11: 55—60. [in Russian]
3. Нореико Б.В., Нореико С.Б. Иммунная система лёгких. Лекция 2. Иммунологический аспект. Туберкулёз, лёгочные болезни, ВИЧ-инфекция. — 2013. — № 4. — С. 76—83. / Noreiko B.V., Noreiko S.B. Immunnaya sistema legkikh. Lektsiya 2. Immunologicheskii aspekt. Tuberkulez, legochnye bolezni, VICH-infektsiya 2013; 4: 76—83. [in Russian]
4. Нореико Б.В., Нореико С.Б., Гришин Ю.А. Иммунная система лёгких. Лекция 1. Физиологический аспект. Туберкулёз, лёгочные болезни, ВИЧ-инфекция. — 2013. — № 3. — С. 95—101. / Noreiko B.V., Noreiko S.B., Grishin Yu. A. Immunnaya sistema legkikh. Lektsiya 1. Fiziologicheskii aspekt. Tuberkulez, legochnye bolezni, VICH-infektsiya 2013; 3: 95—101. [in Russian]
5. Полунина О.С. и др. Перекисное окисление липидов при сочетанной респираторно-кардиальной патологии. Астраханский медицинский журнал. — 2014. — Т. 9. — № 2. — С. 74—80. / Polunina O. S. i dr. Perekislnoe okislenie lipidov pri sochetannoy respiratorno-kardialnoy patologii. Astrakhanskiy meditsinskiy zhurnal 2014; 9: 2: 74—80. [in Russian]
6. Розенберг О.А. Лёгочный сурфактант и его применение при заболеваниях лёгких. Общая реаниматология. — 2007. — Т. 3. — № 1. — С. 66—77. / Rozenberg O. A. Legochnyy surfaktant i ego primenenie pri zabolevaniyakh legkikh. Obshchaya reanimatologiya 2007; 3: 1: 66—77. [in Russian]
7. Голахваст К.С., Чайка В.В. Альвеолярный макрофаг (краткий обзор). Вестник новых медицинских технологий. — 2011. — Т. 18. — № 2. — С. 23—26. / Golokhvast K. S., Chayka V. V. Alveolyarnyy makrofag (kratkiy obzor). Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy 2011; 18: 2: 23—26. [in Russian]
8. Барабой В.А. Механизмы стресса и перекисное окисление липидов. Успехи современной биологии. — 1991. — Т. 111. № 6. — С. 923—931. / Baraboy V.A. Mekhanizmy stressa i perekislnoe okislenie lipidov. Uspekhi sovremennoy biologii 1991; 111: 6: 923—931. [in Russian]
9. Bartolomucci A., Wookey P.J. et al. Social factors and individual vulnerability to chronic stress exposure. Neurosci biobehav rev 2005; 29: 1: 67—81.
10. Федеральный закон № 53-ФЗ от 28.03.1998 года «О воинской обязанности и военной службе». / Federalnyy zakon № 53-FZ ot 28.03.1998 goda «O voinskoy obyazannosti i voennoy sluzhbe». [in Russian]
11. Стратегия национальной безопасности Российской Федерации, утверждённая Указом Президента РФ от 31 декабря 2015 года № 683. / Strategiya natsionalnoy bezopasnosti Rossiyskoy Federatsii, utverzhdenaya Ukazom Prezidenta RF ot 31 dekabrya 2015 goda № 683. [in Russian]
12. Николаенко Е.Е. Внебольничные пневмонии у военнослужащих: проблемы и пути их решения. Здоровье. Медицинская экология. Наука. — 2015. — № 1 (59). С. 66—69. / Nikolaenko E.E. Vnebolnichnye pnevmonii u voennosluzhashchikh: problemy i puti ikh resheniya. Zdorove. Meditsinskaya ekologiya. Nauka 2015; 1 (59): 66—69. [in Russian]
13. Гладнец И.В., Иващенко А.Н., Рыбин В.В. и др. О совершенствовании профилактики острых болезней органов дыхания во внутренних войсках МВД России. Медицинский вестник МВД. — 2014. — № 2 (69). — С. 29—34. / Gladnets I.V., Ivashchenko A.N., Rybin V.V. i dr. O sovershenstvovanii profilaktiki ostrykh bolezney organov dykhaniya vo vnutrennikh voyskakh MVD Rossii. Meditsinskiy vestnik MVD 2014; 2 (69): 29—34. [in Russian]
14. Овчинников Ю.В., Азаров И.И., Кувишинов К.Э. и др. Организация мероприятий по профилактике и лечению заболеваний органов дыхания у военнослужащих. Воен.-мед. журн. — 2013. — Т. 334, № 10. — С. 21—44. / Ovchinnikov Yu.V., Azarov I.I., Kuvshinov K.E. i dr. Organizatsiya meropriyatiy po profilaktike i lecheniyu zabolevaniy organov dykhaniya u voennosluzhashchikh. Voenn-med zhurn 2013; 334: 10: 21—44. [in Russian]
15. Военная доктрина Российской Федерации (утверждённая Президентом РФ № Пр-2976). / Voennaya doktrina Rossiyskoy Federatsii (utverzhdenaya Prezidentom RF № Pr-2976). [in Russian]
16. Селье Г. Стресс без дистресса. — М.: Прогресс, 1979. — 124 с. / Sele G. Stress bez distressa. — M.: Progress, 1979; 124. [in Russian]
17. Giraldo T., Perissin L., Zorzet S. Metastasis and neuroendocrine system in stressed mice. Intern J Neurosci 1994; 74: 1—4: 265—278.
18. Сейфулла Р.Д. Наноантиоксиданты. М.: Сам полиграфист. — 2011. / Seyfulla R. D. Nanoantioksidanty. M.: Sam poligrafist. 2011. [in Russian]
19. Сейфулла Р.Д., Рожкова Е.А., Ким Е.К. Антиоксиданты. Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2009. — Т. 72. — № 3. — С. 60—64. / Seyfulla R. D., Rozhkova E. A., Kim E. K. Antioksidanty. Eksperimentalnaya i klinicheskaya farmakologiya 2009; 72: 3: 60—64. [in Russian]
20. Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Бизенкова М.Н. Молекулярно-клеточные механизмы индукции свободнорадикального окисления в условиях патологии. Современные проблемы науки и образования. — 2006. — № 6. — С. 21—26. / Chesnokova N. P., Ponukalina E. V., Bizenkova M. N. Molekulyarno-kletochnye mekhanizmy induksii svobodnoradikalnogo okisleniya v usloviyakh patologii. Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya 2006; 6: 21—26. [in Russian]
21. Иванова Л.А., Украинская Л.А. Стрессорное лёгкое: морфофункциональные изменения и их коррекция. Сибирский медицинский журнал (Иркутск). — 2015. — Т. 138. — № 7. — С. 68—71. / Ivanova L. A., Ukrainskaya L. A. Stressornoe legkoe: morfofunktsionalnye izmeneniya i ikh korrektsiya. Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (Irkutsk) 2015; 138: 7: 68—71. [in Russian]
22. Силина Е.В. Закономерности течения свободнорадикальных процессов и прогноз ишемического и геморрагического инсульта. Журнал неврологии и психиатрии. — 2011. — Т. 12. — № 2. — С. 36—42. / Silina E. V. Zakonomernosti techeniya svobodnoradikalnykh protsessov i pronoz ishemicheskogo i gemorragicheskogo insulta. Zhurnal nevrologii i psikiatrii 2011; 12: 2: 36—42. [in Russian]
23. Маркевич П.С. и др. Точки приложения цитофлавина на внутриклеточные биохимические процессы (обзор литературы). Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. — 2011. — № 1—2. — С. 232—236. / Markevich P. S. i dr. Tochki prilozheniya tsitoflavina na vnutrikletochnye biokhimicheskie protsessy (obzor literatury). Byulleten Vostochno-Sibirskogo nauchnogo tsentra Sibirskogo otdeleniya Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk 2011; 1—2: 232—236. [in Russian]
24. Никонов В.В., Павленко А.Ю. Метаболическая терапия гипоксических состояний. Медицина неотложных состояний. — 2009. — Т. 3. — № 4. — С. 22—23. / Nikonov V. V., Pavlenko A. Yu. Metabolicheskaya terapiya gipoksicheskikh sostoyaniy. Meditsina neotlozhnykh sostoyaniy 2009; 3: 4: 22—23. [in Russian]
25. Доровских В.А. и др. Влияние сукцинатсодержащих препаратов на интенсивность процессов перекисидации в условиях ультрафиолетового облучения. Дальневосточный медицинский журнал. — 2014. — № 4. — С. 85—89. / Dorovskikh V. A. i dr. Vliyanie suksinat-soderzhashchikh preparatov na intensivnost protsessov peroksidatsii v usloviyakh ultrafioletovogo oblucheniya. Dalnevostochnyy meditsinskiy zhurnal 2014; 4: 85—89. [in Russian]
26. Доровских Ю.А. и др. Коррекция окислительного стресса цитофлавином при тепловом воздействии на организм. Дальневосточный медицинский журнал. — 2014. — № 2. — С. 83—87. / Dorovskikh Yu. A. i dr. Korrektsiya oksislitel'nogo stressa tsitoflavinom pri teplovom vozdeystviy na organizm. Dalnevostochnyy meditsinskiy zhurnal 2014; 2: 83—87. [in Russian]
27. Приказ Министерства обороны от 12.08.2013 г. № 590 «Об утверждении норм снабжения медицинским имуществом соединений, воинских частей и организаций ВС РФ на мирное время». / Prikaz Ministra obrony ot 12.08.2013 g. № 590 «Ob utverzhdenii norm snabzheniya meditsinskim imushchestvom soedineniy, voinskikh chastey i organizatsiy VS RF na mirmoe vremya». [in Russian]
28. Овчинников Ю.В. Внебольничная пневмония у военнослужащих: тактика ведения и антимикробная терапия. Военно-медицинский журнал. — 2016. — Т. 337. — № 3. — С. 4—14. / Ovchinnikov Yu.V. Vnebolnichnaya pnevmoniya u voennosluzhashchikh: takтика vedeniya i antimikrobnaya terapiya. Voenn-meditsinskiy zhurnal 2016; 337: 3: 4—14. [in Russian]
29. Орлов Ю.В., Гусев Р.В., Халимов Ю.Ш. и др. Влияние климатогеографического фактора на тяжесть течения внебольничной пневмонии у военнослужащих призывного контингента. XI Российская научно-практическая конференция «Актуальные вопросы клиники, диагностики и лечения больных в многопрофильном лечебном учреждении»: матер. конф. — СПб, 2014. — С. 137—140. / Orlov Yu.V., Gusev R.V., Khalimov Yu.Sh. i dr. Vliyanie klimatogeograficheskogo faktora na tyazhest techeniya vnebolnichnoy pnevmonii u voennosluzhashchikh prizyvnoy kontingenta. XI Rossiyskaya nauchno-prakticheskaya konferentsiya «Aktualnye voprosy kliniki, diagnostiki i lecheniya bolnykh v mnogoprofilnom lechebnom uchrezhdenii»: mater. konf. — Spb, 2014; 137—140. [in Russian]

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Парфенов Сергей Александрович — к. м. н., преподаватель, Северо-Западный институт управления Российской академии народного хозяйства и государственной службы при Президенте Российской Федерации, Санкт-Петербург

Тучин Илья Александрович — м. н. с. ООО «Межрегиональное бюро судебных экспертиз», Санкт-Петербург

Актуальные вопросы теории и практики применения топических препаратов метронидазола в дерматологии

В. И. КОЧЕРОВЕЦ

Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова, Москва

Theory and Practice of the Use of Metronidazole Topical Preparations in Dermatology

V. I. KOCHEROVETS

I. M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow

Цель исследования. Проанализировать информационную базу данных периодических и монографических изданий по эффективности и безопасности лекарственных препаратов метронидазола для наружного применения в процессе местной терапии заболеваний кожи в Российской Федерации. **Материал и методы.** В обзор включены материалы зарубежных и отечественных исследователей по разработке и клиническому применению метронидазола в современной медицинской практике. **Результаты.** Рассмотрены актуализированные клинико-фармацевтические характеристики препаратов метронидазола для системного и топического использования при заболеваниях кожи и мягких тканей. Установлено, что алгоритм лекарственного применения метронидазола в дерматологии отличается от такового в хирургии, терапии, акушерстве и гинекологии, педиатрии. Отмечены особенности современной интерпретации механизма действия метронидазола в составе топических препаратов при лечении акне и розацеа. В этих случаях метронидазол проявляет дополнительный лечебный эффект за счёт механизмов опосредованного характера, которые не манифестируют при системном применении. **Заключение.** Несмотря на исчерпывающую информацию о системном действии метронидазола, в отечественной литературе неполно отражены этиопатогенетические и фармацевтические особенности применения топических препаратов при лечении акне и розацеа. Необъяснимый лечебный эффект препаратов для местного применения во многом следует рассматривать и анализировать за рамками их антимикробной активности. Это связано с тем, что предполагаемые патогенетические механизмы и причины ряда заболеваний, при которых применяется вышеупомянутое лекарственное средство, мало изучены либо вообще не известны. Указанные особенности использования топических препаратов метронидазола в дерматологии требуют продолжения клинических исследований по оценке эффективности и безопасности применения лекарственного средства, а также актуализации и гармонизации его клинико-фармацевтических характеристик в свете современных достижений медицинской науки.

Ключевые слова: антибиотики, метронидазол, вспомогательные вещества, топические формы, розацеа.

The purpose of the study is to analyze the information database of periodicals and monographs on the efficacy and safety of metronidazole medications for external use in the process of local therapy of skin diseases in the Russian Federation. **Material and methods.** The review includes works of foreign and domestic researchers on the development and clinical use of metronidazole in modern medical practice. **Results.** Updated clinical and pharmaceutical characteristics of metronidazole preparations for systemic and topical use in diseases of the skin and soft tissues are considered. It has been established that the algorithm for the medicinal use of metronidazole in dermatology differs from that in surgery, therapy, obstetrics and gynecology, and pediatrics. Peculiarities of the modern interpretation of metronidazole mechanism of action as one of topical drugs in the treatment of acne and rosacea are noted. In these cases, metronidazole has an additional therapeutic effect due to mediated mechanisms that do not manifest with systemic use. **Conclusion.** Despite comprehensive information on the systemic effect of metronidazole, the etiopathogenetic and pharmaceutical features of the use of topical drugs in the treatment of acne and rosacea are not fully reflected in the domestic literature. The inexplicable therapeutic effect of topical preparations should be considered and analyzed in many respects beyond their antimicrobial activity. This is due to the fact that the alleged pathogenetic mechanisms and causes of a number of diseases in which the aforementioned drug is used are poorly studied or not known at all. The indicated features of the use of metronidazole topical preparations in dermatology require the continuation of clinical studies to evaluate the efficacy and safety of the drug, as well as the updating and harmonization of its clinical and pharmaceutical characteristics in the light of modern achievements in medical science.

Keywords: antibiotics, metronidazole, excipients, topical forms, rosacea.

Среди наиболее известных антимикробных лекарственных средств особое место занимает метронидазол. Наличие уникальных фармакологи-

ческих характеристик и многолетняя клиническая эффективность обеспечили ему заслуженную популярность у хирургов, терапевтов, акушеров-гинекологов, дерматовенерологов, стоматологов, инфекционистов, провизоров и других специалистов в сфере здравоохранения [1—7]. Оригинальность метронидазола состоит в необычном соче-

© Коллектив авторов, 2019

Адрес для корреспонденции: 119991 Москва, ул. Б. Пироговская, д. 2, стр. 4. ПМГМУ им. И. М. Сеченова

Таблица 1. Базовые характеристики метронидазола [11, 13–15, 18, 20, 21]

Антимикробный спектр:	
1.	Антибактериальный
2.	Антипротозойный
3.	Противогельминтный
1.	Чувствительные анаэробные бактерии:
1.	Грам(–) неспорообразующие палочки и кокки
2.	Клостридии
3.	Грам(+) кокки (часть)
2.	Устойчивые анаэробные бактерии:
1.	Грам(+) неспорообразующие палочки и кокки (часть)
2.	<i>Mobiluncus</i> spp.
3.	Большинство аэробов нечувствительны
Мишень: ДНК	
Механизм: до конца непонятен	
Енигма: <i>Gargnerella vaginalis</i> и <i>Helicobacter pylori</i> (микроаэрофилы)	
Клиническое применение: лечение (профилактика) — 25 (1) показание	
Лекарственные формы: таблетки, капсулы, растворы, свечи, крем, гель, лосьон	

тании антибактериальной, антипротозойной и противопаразитарной активности, которая способствует успешному применению лекарственного средства в медицинской практике [8–10].

Вначале своего клинического пути метронидазол рассматривался в качестве трихомонадоцидного препарата. Впоследствии он приобрёл статус универсального противоанаэробного лекарственного средства [11]. Клиническая эффективность метронидазола при лечении жизненно угрожающих анаэробных инфекций была неопровержимо доказана в торако-абдоминальной хирургии, акушерстве и гинекологии, травматологии, челюстно-лицевой хирургии и хирургии мягких тканей [1, 2, 4, 12]. Со временем была подтверждена эффективность метронидазола и при других заболеваниях. Его терапевтический потенциал оказался востребован при комплексном лечении хеликобактериозной инфекции, бактериальном вагинозе, язвенном гингивите, туберкулёзе и т. д. [13–19]. По данным современной научной литературы, лечебно-профилактические возможности метронидазола далеко не исчерпаны (табл. 1).

Современная номенклатура препаратов метронидазола представлена формами выпуска для приёма внутрь, для внутривенного, внутривлагалищного и местного применения [22–24]. Препараты метронидазола местного (топического) действия выпускаются в форме геля и крема. Кроме того, в гинекологической практике дополнительно используют вагинальные таблетки и суппозитории [26]. В дерматологии топические препараты метронидазола для наружного применения известны на примере местного лечения акне, розацеа и других заболеваний кожи [10, 13, 25–27].

Эффективное применение метронидазола в отечественной медицинской практике с целью терапии розацеа и периорального дерматита известно широкому кругу отечественных врачей около 40 лет [24]. В начале 1980 г., академик РАМН М. Д. Машковский, цитируя в своей книге «Лекарственные средства» первые отечествен-

ные публикации по лечению розацеа и других заболеваний кожи [28–31], фактически анонсировал новое показание по медицинскому применению метронидазола [24]. В течение длительного времени процесс лечения метронидазолом в нашей стране ограничивался назначением таблетированных форм для перорального приёма [32]. Терапевтический эффект, по материалам нормативных документов, инструкций по медицинскому применению и ряда клинических наблюдений, оценивался преимущественно за счёт системного действия метронидазола, то есть антимикробной активности [13, 14, 33]. С появлением специальных лекарственных форм метронидазола для наружного применения в РФ возникли условия для разработки и внедрения новых методов, схем и стандартов местной терапии розацеа, акне и других заболеваний кожи [27, 34, 35].

Первые топические препараты метронидазола в форме мази и желе получили государственную регистрацию в РФ в период 1991–1995 гг. [36–38]. Хронологически это совпало с началом активного маркетингового продвижения оригинального препарата в США, который в ноябре 1988 г. был одобрен FDA [39]. К этому времени уже имелись убедительные данные по обоснованности и целесообразности применения препарата метронидазола в форме 0,75% геля для местного лечения розацеа [40–42].

Практика применения топических препаратов метронидазола в дерматологии

В настоящее время в Российской Федерации имеют государственную регистрацию препараты метронидазола для наружного применения от нескольких производителей/заявителей [23]. Лекарственные препараты в форме крема выпускаются известными европейскими производителями (Франция, Хорватия) с содержанием метронидазола 0,75–1% (основание). Препараты в форме геля представлены на рынке отечественными про-

Таблица 2. Состав топических препаратов метронидазола для наружного применения, фактически присутствующих на рынке РФ [23]

Форма выпуска	Состав препаратов метронидазола			
	Крем для наружного применения		Гель для наружного применения	
	0,75%	1%	1%	1%
Страна производитель	Франция	Хорватия	Индия	Россия
№ п/п	Вспомогательные вещества			
1	Пропиленгликоль	20 мг	50 мг	50 мг
2	Эдетат динатрия		0,5 мг	0,5 мг
3	Метилпарагидроксibenзоат	0,7 мг	0,32 мг	0,32 мг
4	Пропилпарагидроксibenзоат	0,3 мг	0,40 мг	0,40 мг
5	Карбомер 980 (карбопол 940)/карбомер		10 мг	10 мг
6	Парафин жидкий	90 мг		
7	Воск имульсионный/эмульгирующий	125 мг	100 мг	
8	Бензиловый спирт	22 мг		
9	Изопропил пальмитат	20 мг		
10	Глицерол 99,5%	40 мг	12,9 мг	
11	Сорбитол 70% некристаллический	50 мг		
12	Молочная кислота	до pH=4,8–5,2		
13	Натрия гидроксид 10%	до pH=4,8–5,2	1,27 мг	1,27 мг
14	Вода очищенная	до 1 г	766,1	до 1 г
Всего вспомогательных веществ		8	7	7
Температура хранения		≤25°C	≤25°C	≤25°C
Срок годности препарата		3 года	2 года	3 года
Условия отпуска		ОТС	ОТС	ОТС

Примечание. ОТС – безрецептурный отпуск лекарственных препаратов.

изготовителями, а также препаратом производства Индии. Наиболее востребованными на рынке остаются 1% препараты метронидазола, что эквивалентно содержанию метронидазола 10 мг/г.

Кремозная форма метронидазола (1%) в составе препарата Розамет (Ядран, Хорватия) наиболее длительно присутствует на Российском рынке. Многочисленные пострегистрационные клинические наблюдения подтвердили высокую эффективность и безопасность применения препарата Розамет при лечении розацеа и ряда других заболеваний кожи [33, 43].

Взаимозаменяемость топических препаратов метронидазола для наружного применения

Рассматривая перспективы процедуры взаимозаменяемости топических препаратов метронидазола в форме крема или геля, необходимо не только учесть степень идентичности активного вещества, но и проанализировать состав препарата в целом. Состав лекарственного препарата, за исключением активного вещества, может иметь неограниченное число компонентов и вариантов, которые определяются производителями или разработчиками лекарственного продукта.

Базовый перечень вспомогательных веществ, включенных в состав топических препаратов метронидазола для наружного применения, зарегистрированных в Российской Федерации, представлен 22 наименованиями с учётом препаратов производимых в Польше, которые в настоящее время не доступны. Состав топических препаратов метронидазола для наружного применения,

фактически присутствующих на рынке РФ [23], представлен в табл. 2.

При этом можно наблюдать как совпадения, так и различия по качественным и количественным характеристикам. Число компонентов в составе вспомогательных веществ топических препаратов метронидазола в форме крема или геля составляет 7–8 ингредиентов. Наиболее универсальными компонентами оказались эдетат динатрия, пропиленгликоль, метилпарагидроксibenзоат, пропилпарагидроксibenзоат, карбомер. Перечень и диапазон количественного содержания вспомогательных веществ у ряда воспроизведённых лекарственных препаратов во многом аналогичен, что важно для процедуры взаимозаменяемости [44–46].

Природа и физико-химические свойства вспомогательных веществ могут влиять на фармакологические и, в том числе, фармакокинетические свойства лекарственного средства. Нередко вспомогательные вещества способны усиливать либо снижать фармакологическое действие лекарственного средства под влиянием различных причин.

Правильный выбор вспомогательных веществ позволяет снизить концентрацию активного ингредиента препарата при сохранении терапевтического эффекта и снижении риска побочных эффектов.

Исчерпывающие исследования влияния вспомогательных веществ на абсорбцию топических препаратов метронидазола для наружного применения отсутствуют. Но при этом известно, что у таблетированных препаратов метронидазола для перорального приёма, в случае при-

сутствия ряда вспомогательных веществ существует высокий риск бионезэквивалентности. Например, сорбитол, натрия лаурилсульфат и пропиленгликоль потенциально могут оказать существенное влияние на биодоступность метронидазола в организме человека. Данные обстоятельства потребуют количественной и качественной идентичности у испытуемого препарата по отношению к его компаратору (референс-препарату) с учётом этих вспомогательных веществ. Это в свою очередь, снизит риск бионезэквивалентности у воспроизведённых препаратов метронидазола [47].

Как следует из табл. 2, наличие пропиленгликоля в составе большинства воспроизведённых препаратов топического метронидазола может вызвать определённую настороженность в связи с вышеуказанными данными по биодоступности активного вещества. Кроме того, у пациентов с розацеа, в силу нарушенной барьерной функции кожи, имеет место повышенная восприимчивость к раздражающим веществам, включая лаурилсульфат натрия [48]. Присутствие сорбитола отмечено только у одного препарата для наружного применения в форме крема.

Гармонизация инструкций по медицинскому применению топических препаратов метронидазола в дерматологии

Гармонизация документов, регламентирующая применение медицинских лекарственных препаратов приобрела транснациональный характер. Европейское агентство по лекарственным средствам (ЕМА) ведёт постоянную работу по гармонизации содержания национальных инструкций стран Европейского союза (ЕС), которые регламентируют применение медицинских препаратов различных фармакотерапевтических групп, в том числе и антибиотиков [49]. В процессе работы эксперты устанавливают факты существенных различий в изложении базовых разделов указанных документов, а также рассматривают все относящиеся к делу терапевтические и регуляторные руководства ЕС. Подобная работа в США координируется FDA.

Необходимость гармонизации содержания инструкций по медицинскому применению препаратов метронидазола для наружного применения в Российской Федерации очевидна. Документы производителей, выпускающих равнозначные лекарственные формы метронидазола, имеют существенные различия. Применительно к лекарственным препаратам метронидазола для наружного применения, не во всех случаях фигурируют идентичные показания [23].

Анализ данных позволил установить следующие особенности:

1) лечение розацеа является наиболее универсальным показанием для абсолютного большинства препаратов метронидазола для наружного применения вне зависимости от лекарственной формы и дозировки;

2) другие медицинские показания по применению топических препаратов метронидазола в дерматологии в зависимости от производителя (заявителя) предусматривали от одного до тринадцати показаний;

3) для большинства препаратов метронидазола для наружного применения установлена средняя продолжительность использования 3–4 мес. и возможность продолжения лечения пациента в течение дополнительных 3–4 мес.

Гармонизация материалов по другим разделам инструкции по медицинскому применению препаратов метронидазола для наружного применения, несомненно, также требует своей актуализации. Особенно по вопросам фармакодинамики и фармакокинетики, где современные данные по изучению дерматокинетики топического метронидазола открывают новые горизонты понимания интегрального терапевтического действия метронидазола за счёт неантибиотического, то есть противовоспалительного, и других предполагаемых эффектов. К сожалению, это решить непросто, так как механизмы, с помощью которых метронидазол купирует воспаление поражённых участков кожи у пациентов с розацеа, по-прежнему неизвестны [50]. Более того, этиология розацеа также остается неизвестной, а точный патогенез заболевания неясным [51]. Роль микробного фактора в развитии розацеа продолжает обсуждаться [52]. *Demodex folliculorum*, *Staphylococcus epidermidis*, *Propionibacterium acnes*, *Helicobacter pylori* и другие целевые микроорганизмы могут усугублять течение розацеа, стимулируя врождённую иммунную систему [53–60].

Необъяснимый лечебный эффект препаратов метронидазола для местного применения во многом следует рассматривать и анализировать за рамками их антимикробной активности. Это связано с тем, что предполагаемые патогенетические механизмы и причины ряда заболеваний, при которых применяются вышеупомянутое лекарственное средство, мало изучены либо вообще неизвестны. Указанные особенности использования топических препаратов метронидазола в дерматологии требуют продолжения клинических исследований по оценке эффективности и безопасности применения лекарственного средства, а также актуализации и гармонизации его клинико-фармацевтических характеристик в свете современных достижений медицинской науки.

В настоящее время, Минздравом России ведётся активная работа по приведению инструкций к единому формату.

Заключение

Метронидазол, несмотря на длительность присутствия на рынке, по-прежнему, остаётся востребованным лекарственным средством, которое несёт широкие возможности применения как при системном, так и при местном использовании. Топические препараты метронидазола в

ЛИТЕРАТУРА

1. Anaerobic Infections in humans. Ed. S. M. Finegold, G.W.Lance. Academic Press, Inc. 1989; 851.
2. Колесов А.П., Столбовой А.В., Кочеровец В.И. Анаэробные инфекции в хирургии. Л.: Медицина, 1989. — 160 с. / Kolesov A.P., Stolbovoy A.V., Kocherovets V.I. Anaerobnye infektsii v khirurgii. L.: Meditsina, 1989; 160. [in Russian]
3. Harrison's principles of internal medicine, vol. 1—2. ed. J.D.Wilson, et al. 12-th ed., McGraw-Hill Inc, 1991; 2208.
4. Целев Ю.В., Кочеровец В.И., Кира Е.Ф., Баскаков В.П. Анаэробная инфекция в акушерско-гинекологической практике. СПб.: Питер Пресс, 1995. — 320 с. / Tselev Yu.V., Kocherovets V.I., Kira E.F., Baskakov V.P. Anaerobnaya infektsiya v akushersko-ginekologicheskoy praktike. SPb.: Piter Press, 1995; 320. [in Russian]
5. Pediatric Anaerobic Infections: diagnosis and management. Ed. I. Brook, 3-d ed. Marcel Dekker, Inc., 2002; 611.
6. Textbook of family practice. Ed. R. E. Rakel, 6th ed., Saunders. 2002; 1725.
7. Oral microbiology and immunology. Ed. R. J. Lamont, et al. ASM Press, 2006; 458.
8. Cecil textbook of medicine. Ed. L. Goldman, J. C. Bennett. 21st ed. W.B.Saunders Company, 2000; 2308.
9. Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. vol. 1—2. Ed. G. L. Mendell, J. E. Bennett, R. Dolin. 6th ed., Elsevier Inc, 2005; 3661.
10. Pharmacotherapy principles & practice. Ed. M. A. Chisholm-Burns, et al. 12-th ed., McGraw-Hill Companies, Inc, 2007; 1671.
11. Antimicrobial Chemotherapy. Ed. D.Greenwood, R. G. Finch, P. Davey, & M. Wilcox. 5th ed., Oxford University Press, 2007; 485.
12. Anaerobic Infections: diagnosis and management. Ed. I.Brook. Informa healthcare USA, 2008; 417.
13. USP DI, Drug information for the Health Care Professional, The United States Pharmacopeial Convention, Inc. Rockville 15th ed. 1995; 3279.
14. USP DI, Drug information for the Health Care Professional. Thomson Micromedex, 27th ed. 2007; 3218.
15. Кочеровец В.И. Еще раз об известном. Акушерство и гинекология. — 2009. — № 3. — С. 66—68. / Kocherovets V.I. Eshche raz ob izvestnom. Akusherstvo i ginekologiya 2009; 3: 66—68.
16. Red Book: 2006 Report of the Committee on Infectious Diseases. 27th ed., Elk Grove Village, IL. American Academy of Pediatrics, 2006; 992.
17. Management of antimicrobials in infectious diseases: impact of antibiotic resistance. Ed. A.G. Mainous III, C.Pomeroy. 2nd ed., Humana Press, 2010; 412.
18. Vulvovaginal infection. Ed. W. J. Ledger & S. S. Witkin, Second edition. Boca Raton: CRC Press, 2016; 164.
19. Antibiotics: challenges, mechanisms, opportunities. Ed. K.Walsh, T.Wenciewicz. Washington, DC: ASM Press, 2016; 477.
20. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Ed. G.W.Procop, et al., Seventh edition. Philadelphia: Wolters Kluwer Health, 2017; 1606, IP-181.
21. Kyra Yu., Lin C. Metronidazole in Kucers' the use of antibiotics: a clinical review of antibacterial, antifungal, antiparasitic and antiviral drugs [edited by]. M.Lindsay Grayson et al, Seventh edition. Boca Raton: CRC Press, 2017; 1807—1849.
22. Drug Facts and Comparisons, Ed. W. Kluwer, 2017; 4418. A-11,I-51.z
23. Государственный Реестр лекарственных средств 2018. <http://grls.rosminzdrav.ru> / Gosudarstvennyy Reestr lekarstvennykh sredstv 2018. <http://grls.rosminzdrav.ru> [in Russian]
24. Машковский М.Д. Лекарственные средства ч. II, 9-е изд. М.: Медицина, 1984. — 576 с. / Mashkovskij M.D. Lekarstvennye sredstva ch. II, 9-e izd. M.: Meditsina, 1984; 576. [in Russian]
25. Orange Book: Approved Drugs Products with Therapeutic Equivalence Evaluations. 34th Edition, U.S. Department of Health and Human Services, 014., 3-211, 3-212, 3-213.
26. Antibiotic and Chemotherapy. Ed. R. G. Finch, D. Greenwood, S. R. Norrby & R. J. Whitley. 9th ed., Elsevier Ltd, 2010; 900.
27. Государственный Реестр лекарственных средств. Том II. Типовые клинико-фармакологические статьи. Официальное издание (по состоянию на 1 апреля 2008 г.). М.: 2008. — 1208 с. / Gosudarstvennyy Reestr lekarstvennykh sredstv. Tom II. Tipovye kliniko-farmakologicheskie stat'i. Ofitsial'noe izdanie (po sostoyaniyu na 1 aprelya 2008 g.). M.: 2008; 1208. [in Russian]
28. Довжанский С.И., Гришкина И.Г., Яксанова Э.М. К патогенезу и терапии розацеа и периорального дерматита. Вестник дерматологии. — 1980. — № 4. — С. 38—40. / Dovzhanskij S.I., Grishkina I.G., Yaksanova E.M. K patogenezu i terapii rozatsea i perioral'nogo dermatita. Vestnik dermatologii 1980; 4: 38—40. [in Russian]
29. Жилина В.Г., Скоробогатова В.В., Базыкова А.П. Лечение больных розацеа трихолом. Вестник дерматологии. — 1981. — № 11. — С. 66—67. / Zhilina V.G., Skorobogatova V.V., Bazykova A.P. Lechenie bol'nykh rozatsea trikhopolom. Vestnik dermatologii 1981; 11: 66—67. [in Russian]
30. Бабаянц Р.С., Ильинская А.В., Громова С.А. и др. Метронидазол в терапии розацеа и периорального дерматита. Вестник дерматологии. — 1983. — № 1. — С. 13—18. / Babayants R.S., Il'inskaya A.V., Gromova S.A. i dr. Metronidazol v terapii rozatsea i perioral'nogo dermatita. Vestnik dermatologii 1983; 1: 13—18. [in Russian]
31. Шахнес И.Е., Крепкер Я.Б. Опыт лечения розацеа и периорального дерматита трихолом. Вестник дерматологии. — 1985. — № 3. — С. 55—58. / Shakhnes I.E., Krepker Ya.B. Opyt lecheniya rozatsea i perioral'nogo dermatita trikhopolom. Vestnik dermatologii 1985; 3: 55—58. [in Russian]
32. Машковский М.Д. Лекарственные средства ч. II, 12-е изд. М.: Медицина, 1993. — 688. / Mashkovskij M.D. Lekarstvennye sredstva ch. II, 12-e izd. M.: Meditsina, 1993. — 688.
33. Лалаева А.М., Данилов С.И., Пирятинская В.А., Грибанова Т.В. Розамет крем высокоэффективное средство лечения розацеа. Вестник дерматологии и венерологии. — 2005. — № 5. — С. 40—42. / Lalaeva A.M., Danilov S.I., Piryatinskaya V.A., Gribanova T.V. Rozamet krem vysokoeffektivnoe sredstvo lecheniya rozatsea. Vestnik dermatologii i venerologii. — 2005. — № 5. — S. 40—42.
34. Стандарт медицинской помощи больным акне утв. Приказом Министерства здравоохранения и социального развития 11.12.2007 г. № 750. / Standart meditsinskoj pomoshchi bol'nyim akne utv. Prikazom Ministerstva zdravookhraneniya i sotsial'nogo razvitiya 11.12.2007 g. № 750.
35. Стандарт медицинской помощи больным розацеа утв. Приказом Министерства здравоохранения и социального развития 11.12.2007 г. № 757. / Standart meditsinskoj pomoshchi bol'nyim rozatsea utv. Prikazom Ministerstva zdravookhraneniya i sotsial'nogo razvitiya 11.12.2007 g. № 757.
36. Государственный Реестр лекарственных средств и изделий медицинского назначения. Официальное издание на 1 июля 1994 г. М.:1994. — 512 с. / Gosudarstvennyy Reestr lekarstvennykh sredstv i izdelij meditsinskogo naznacheniya. Ofitsial'noe izdanie na 1 iyulya 1994 g. M.:1994. — 512 s.
37. Государственный Реестр лекарственных средств. Официальное издание (по состоянию на 1 августа 1996 г.). М.:1996. — 608 с. / Gosudarstvennyy Reestr lekarstvennykh sredstv. Ofitsial'noe izdanie (po sostoyaniyu na 1 avgusta 1996 g.). M.:1996. — 608 s.
38. Государственный Реестр лекарственных средств. Официальное издание (по состоянию на 1 января 2000 г.). М.: 2000. — 1202 с. / Gosudarstvennyy Reestr lekarstvennykh sredstv. Ofitsial'noe izdanie (po sostoyaniyu na 1 yanvarya 2000 g.). M.: 2000. — 1202 s.
39. USP DI, Approved Drug Products and Legal Requirements. The United States Pharmacopeial Convention, Inc. Rockville 14th ed. 1994; 589. & suppl.
40. Aronson I.K., Rumsfeld J.A., West D.P., Alexander J., Fischer J.H., Paloucek F.P. Evaluation of topical metronidazole gel in acne rosacea. Drug Intell Clin Pharm 1987; 21: 346—351.
41. Bleicher P.A., Charles J.H., Sober A.J. Topical metronidazole therapy for rosacea. Arch Dermatol 1987; 123: 609—614.
42. Nielsen P.G. Metronidazole treatment in rosacea. Int J Dermatol 1988; 27: 1—5.

43. Бутов Ю.С., Волкова Е.Н. Опыт применения крема Розамет при лечении некоторых дерматозов. Вестник дерматологии и венерологии. — 2005. — № 6. — С. 52—54. / Butov Yu.S., Volkova E.N. Opyt primeneniya krema Rozamet pri lechenii nekotorykh dermatozov. Vestnik dermatologii i venerologii. — 2005. — № 6. — С. 52—54.
44. https://www.accessdata.fda.gov/scripts/Cder/ob/search_product.cfm?fm=9.10.18
45. Государственный реестр лекарственных средств. Т. I. Официальное издание по состоянию на 1 апреля 2008 г.) М.: 2008. — 1398 с. / Gosudarstvennyj reestr lekarstvennykh sredstv. T. I. Ofitsial'noe izdanie po sostoyaniyu na 1 aprelya 2008 g.) M.: 2008. — 1398 s.
46. Федеральный закон РФ от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ (в ред. от 03.07.2016) «Об обращении лекарственных средств». / Federal'nyj zakon RF ot 12 aprelya 2010 g. № 61-FZ (v red. ot 03.07.2016) «Ob obrashchenii lekarstvennykh sredstv».
47. Rediguieri C.F. et al. Biowaiver Monographs for immediate release solid oral dosage forms: metronidazole. J Pharm Sci 2011;100: 5: 1618-1627.
48. Zip C. The Role of skin care in optimizing treatment of acne and rosacea. STL 2017; 22: 3. <http://www.skintherapyletter.com/rosacea/role-of-skin-care-in-optimizing-treatment-of-acne-and-rosacea/> = 8.10.18
49. Assessment report for Tavanic and associated names. EMA/543953/2012 http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Referrals_document/Tavanic/WC500132108.pdf
50. <https://drugs-list.com/ru/drug-item-noritate.html> = 11.10.18.
51. Chao Yu. Exploratory research for pathogenesis of papulopustular rosacea and skin barrier research in Besançon and Shanghai. Dermatology. Université Bourgogne Franche-Comté, 2017. English
52. Holmes A. D. Potential role of microorganisms in the pathogenesis of rosacea. J Am Acad Dermatol 2013; 69: 1025—1032.
53. Murillo N., Aubert J., Raoult D. Microbiota of Demodex mites from rosacea patients and controls. Microb Pathog 2014; 71—72: 37—40.
54. Jarmuda S., McMahon F., Zaba R. et al. Correlation between serum reactivity to Demodex-associated Bacillus oleronius proteins, and altered sebum levels and Demodex populations in erythematotelangiectatic rosacea patients. J Med Microbiol 2014; 63: 258—262.
55. Zandi S., Shamsadini S., Zahedi M. J. et al. Helicobacter pylori and rosacea. East Mediterr Heal J 2003; 9: 167—171.
56. Whitfeld M., Gunasingam N., Leow L. J. et al. Staphylococcus epidermidis: A possible role in the pustules of rosacea. J Am Acad Dermatol 2011; 64: 49—52.
57. Fitz-Gibbon S., Tomida S., Chiu B.-H. et al. Propionibacterium acnes Strain Populations in the Human Skin Microbiome Associated with Acne [Internet]. J Invest Dermatol 2013; 133: 2152—2160.
58. Gallo R. L., Nakatsuji T. Microbial Symbiosis with the Innate Immune. Defense System of the Skin. J Invest Dermatol 2012; 131: 1974—1980.
59. Fuller D., Rosacea M.S. [Internet]. J Midwifery Womens Health 2012; 57: 403—409.
60. Bhate K. W. H. What's new in acne? An analysis of systematic reviews published in 2011—2012. Clin Exp Dermatol 2014; 39: 273—277.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРЕ:

Кочеровец Владимир Иванович — д. м. н., профессор, профессор кафедры фармацевтической технологии и фармакологии Института профессионального образования ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова» (Сеченовский Университет) Минздрава России

Антимикробная активность вторичных метаболитов морских бактерий

*Б. Г. АНДРЮКОВ¹, В. В. МИХАЙЛОВ², Н. Н. БЕСЕДНОВА¹

¹ Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова, Владивосток

² Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток

Antimicrobial Activity of Secondary Metabolites of Marine Bacteria

*B. G. ANDRYUKOV¹, V. V. MIKHAILOV², N. N. BESEDNOVA¹

¹ G. P. Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok

² G. B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok

В последние десятилетия сформировалась опасная тенденция появления и распространения штаммов патогенных бактерий, резистентных к современным антибиотикам. Это создаёт угрозу не только для общественного здравоохранения, но и для человечества в целом. В качестве реальной альтернативы традиционным антибиотикам внимание исследователей всё большее внимание привлекают морские биоресурсы, которые являются ценным источником биологически активных соединений с высоким фармакологическим потенциалом. Вторичные метаболиты, являющиеся важными продуктами жизнедеятельности морских микроорганизмов и обладающие широким спектром антибиотической активности, в последние 10–15 лет привлекают к себе большое внимание. Эти природные пептидные субстанции играют важную роль в физиологии бактерий, участвуя в меж- и внутривидовой коммуникациях, размножении и конкуренции за питательные вещества и пространство. Установлено, что для продукции вторичных метаболитов морские бактерии, как и многие патогены и комменсалы человека, используют сложные механизмы нерибосомального биосинтеза, что обеспечивает чрезвычайное структурное разнообразие этих природных белковых субстанций, а также широкий спектр их фармакологической активности. В условиях нарастающей глобальной антибиотикорезистентности возбудителей инфекционных заболеваний вторичные метаболиты морских бактерий являются ценным ресурсом для поиска новых антибиотических средств. Целью настоящего обзора явилось обобщение современных научных данных о структуре и фармакологической активности вторичных метаболитов морских бактерий, а также о нерибосомальных механизмах их биосинтеза, являющихся новыми мишенями антибактериальной стратегии.

Ключевые слова: антибактериальные стратегии, морские бактерии, вторичные метаболиты, нерибосомальный биосинтез.

In recent decades, a dangerous tendency has formed for the emergence and spread of strains of pathogenic bacteria resistant to modern antibiotics. This poses a threat not only to public health, but also to humanity as a whole. Marine biorecources are attracting increasing attention of researchers as a real alternative to traditional antibiotics and a valuable source of biologically active compounds with high pharmacological potential. Secondary metabolites, which are important metabolic products of marine microorganisms and possessing a broad spectrum of antibiotic activity, have attracted increasing attention in the last 10–15 years. These natural peptide substances play an important role in the physiology of bacteria, participating in inter- and intraspecific communication, reproduction, and competition for nutrients and space. It has been established that marine bacteria, like many human pathogens and commensals, use the complex mechanisms of non-ribosomal biosynthesis for the production of secondary metabolites, which ensures the extraordinary structural diversity of these natural protein substances, as well as a wide range of their pharmacological activity. Under the conditions of increasing global antibiotic resistance of infectious agents, secondary metabolites of marine bacteria are a valuable source for finding new antibiotic agents. The purpose of this review was to summarize current scientific data on the structure and pharmacological activity of secondary metabolites of marine bacteria, as well as on the non-ribosomal mechanisms of their biosynthesis, which are the new targets of antibacterial strategy.

Keywords: antibacterial strategies, marine bacteria, secondary metabolites, non-ribosomal biosynthesis.

Введение

Несмотря на значительный прогресс в медицине, диагностике и лечении инфекционных заболеваний, патогенные микроорганизмы по-прежнему представляют серьёзную угрозу для мирового сообщества. Их влияние велико как в развивающихся

странах из-за ограниченного доступа к лекарствам, так и в развитых государствах, где бесконтрольное применение антибиотиков привело к широкому распространению мультирезистентных бактерий. Стратегия создания новых синтетических антибиотиков путём модификации существующих природных себя не оправдывает: патогенные микроорганизмы адаптируются к новым препаратам уже после первых испытаний. Мировая общественность в лице Всемирной организации здравоохра-

© Коллектив авторов, 2019

*Адрес для корреспонденции: e-mail: andrukov_bg@mail.ru

нения выражает обоснованную тревогу за будущее человечества и призывает к поиску новых антимикробных средств, способных стать альтернативой современным антибиотикам [1, 2]. Ряд перспективных стратегий поиска новых антибиотических препаратов связан с использованием продуктов метаболизма морских бактерий.

Бактериальный метабеном синтезирует первичные метаболиты и трансформирует небольшие белковые молекулы во вторичные метаболиты, также называемые «специализированными метаболитами». Они играют важную роль в клеточном росте и передаче сигналов, поиске питательных веществ, внутри- и межвидовой коммуникации, и конкуренции, поэтому вызывают повышенный интерес исследователей, рассматривающих их в качестве потенциальных альтернатив традиционным антибиотикам. Особое значение приобретают исследования антибактериальной активности антимикробных пептидов, являющихся вторичными метаболитами морских микроорганизмов [3].

Ресурсами Мирового океана, который покрывает свыше 70% поверхности Земли, человечество научилось пользоваться давно, но к морским бактериям научно-исследовательский интерес появился в середине прошлого столетия, хотя отдельные работы, связанные с изучением биологической активности метаболитов этих микроорганизмов, появились только в конце XIX века. Установлено, что морская среда содержит огромное число микроорганизмов — около $3,67 \times 10^{30}$ [4].

Немногочисленные исследования, проведенные в последние десятилетия, показали, что морская экосистема с её уникальным разнообразием условий обитания и многочисленной биотой является неисчерпаемым ресурсом биологически активных природных химических веществ. За последние несколько десятилетий в морских организмах были обнаружены многочисленные соединения с интересной фармацевтической активностью, которые могут стать источниками новых терапевтических препаратов [5–7]. В частности, большое внимание исследователей привлекают вторичные метаболиты морских бактерий с высокой антибактериальной активностью.

Эти вещества являются предметом широкого изучения интенсивно развивающихся в наши дни морской микробиологии и химии морских природных соединений, и вследствие своих уникальных свойств они стали одним из приоритетных направлений современной морской биотехнологии.

Цель обзора — обобщение современных научных данных о фармакологической активности вторичных метаболитов морских бактерий, а также о нерибосомальных механизмах их биосинтеза, являющихся новыми мишенями антибактериальной стратегии.

Поиск источников проводился в ресурсах Кокрановской библиотеки (директория Wiley Online Library), EMBASE (EMBASE.com), PubMed, PubMed Central, EMBASE и MEDLINE, интегрированных на платформе Elsevier, CINAHL, Web of Science и Health Economic Evaluations. Ввиду большого научного внимания к проблеме «антибактериальные метаболиты» и «антибактериальные пептиды» стратегия выборки определялась поиском научных обзоров по словосочетаниям «морские бактерии и вторичные метаболиты» («marine bacteria and secondary metabolites»), «морские бактерии и антибактериальные пептиды» («marine bacteria and antibacterial peptides») и «морские бактерии и нерибосомальный биосинтез» («marine bacteria and non-ribosomal biosynthesis»), содержащимся в названии, аннотации и тематических каталогах. Глубина поиска — 2007–2019 гг.

1. Метаболиты бактерий

Бактерии живут в мире передачи и приёма химических сигналов, а сигнальными молекулами являются метаболиты, являющиеся конечными продуктами клеточного метаболизма. Метаболизм представляет собой совокупность двух противоположных, но взаимосвязанных процессов: энергетического (катаболизма) и конструктивного (анаболизма). Это непрерывный и многокомпонентный биохимический процесс происходит в каждой бактериальной клетке на протяжении всей жизни [8–10].

Конечные продукты метаболизма, представляющие собой небольшие пептидные молекулы, используются в качестве субстратов для биохимических реакций или используются микроорганизмами для обеспечения их жизнедеятельности. Это огромный спектр чрезвычайно разнообразных по структурам и функциям молекул, только зарегистрированное число которых превышает 25000, что составляет менее 2% от общего количества природных метаболитов микроорганизмов, недоступных пока для исследований [9–11].

На основании функциональных свойств и механизмов биосинтеза, метаболиты разделяют на первичные и вторичные. Первичные служат основным энергетическим источником для протекания различных биохимических реакций и выполнения физиологических функций обеспечения жизнедеятельности бактериальных клеток, например, роста и развития. Вторичные метаболиты — это органические соединения со сложной химической структурой и разнообразными физиологическими функциями. Они необходимы для обеспечения стратегий выживания бактерий в неблагоприятных условиях и выступают в качестве посредников с внешней средой обитания и средств межклеточной коммуникации (табл. 1).

Таблица 1. Ключевые биохимические и физиологические свойства первичных и вторичных метаболитов бактерий [по 8]

Первичные метаболиты	Вторичные метаболиты
Малые молекулы	Малые молекулы
Производят несколько промежуточных и конечных продуктов	Участвуют в синтезе новых соединений и множества молекул
Конечные продукты участвуют в синтезе макромолекул, кофермента	Не жизненно важны для роста клеток
Важны для роста и жизнеспособности клеток	Имеют необычные химические структуры
Имеют простое химическое строение	Конечные продукты используются как антибактериальные средства
Синтезируются в период лаг-фазы роста бактерий	Синтезируются в начале стационарной фазы роста бактерий
Используются в пищевой и кормовой промышленности	Используются в медицине, косметике и сельском хозяйстве как консерванты
Обеспечивают запас энергии для коммуникации клеток	Защищают бактерии в период наступления неблагоприятных условий
Основной источник энергии для клеточного метаболизма и обеспечения жизнедеятельности	Участвуют в межклеточной коммуникации, защите клетки, конкурентной борьбе за пищу и пространство

1.1 Вторичные метаболиты бактерий. Эта группа метаболитов является неперенным компонентом жизнедеятельности морских бактерий, грибов, архей и других микроорганизмов — богатых источников этих соединений. Среди этих сложных биомолекул, синтезируемых морскими прокариотами, обнаружены вещества с различными биологическими свойствами, включая антибактериальные, противогрибковые, противовирусные и антипролиферативные агенты, экзотоксины, переносчики металлов, гормоны, иммуномодуляторы, пигменты, ингибиторы ферментов [8–10].

Многие из этих соединений, обладая высокой биологической активностью, играют важную роль в жизнеобеспечении бактерий и достаточно широко используются в фармакологии, косметике, пищевой промышленности и сельском хозяйстве. В то же время некоторые бактерии (*Clostridium botulinum*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli*, *Yersinia* sp. и другие) синтезируют экзотоксины, являющиеся вторичными метаболитами и вызывающие заболевания у человека [10].

Как правило, каждый вид бактерий производит несколько антибиотиков, профиль которых зависит от рода микроорганизма. Например, на сегодняшний день более 5000 антибиотиков, относящихся к вторичным метаболитам, были идентифицированы из рода *Actinobacteria* [8], включая традиционные, выявленные в 1950–60 гг., и новые антибиотики. В то же время, согласно прогнозам, эти бактерии могут продуцировать до 150000 различных химических антимикробных агентов [8, 9].

Современная наука рассматривает вторичные метаболиты как группу низкомолекулярных, структурно разнообразных и сложных биоактивных соединений. Установлено, что активный этап синтеза этих молекул у микроорганизмов приходится на конец экспоненциальной и начало стационарной фаз их роста (рис. 1, а). Их производство индуцируется при истощении питательных веществ и возникновении неблагоприятных

условий среды обитания бактерий, а гены, ответственные за биосинтез вторичных метаболитов, группируются вместе, в небольшом количестве кластеров [10, 12].

В отличие от первичных метаболитов, биосинтетические пути, используемые для производства этих молекул, многочисленны и до конца не изучены [8, 10]. Для их биосинтеза бактерии применяют многоэтапные механизмы, в которых используются специфические ферменты или мультиферментные комплексы, являющиеся промежуточными или конечными продуктами внутриклеточного метаболизма. Биосинтез включает в себя каскадные регуляции, которые исследованы на транскрипционном уровне [12].

Среди ключевых путей бактериального биосинтеза вторичных метаболитов с антимикробной активностью наиболее охарактеризованы нерибосомальный (ключевой фермент — пептидсинтетаза), β -лактамный, поликетидный (типы I–III, ключевой фермент — поликетидсинтаза), рибосомально-поликетидный, олигосахаридный и шикиматный (рис. 1, б).

Значительное возрастание интереса к получению новых антибиотических средств, относящихся к вторичным метаболитам морских бактерий, связано с достижениями в биотехнологии, которые произошли в последние десятилетия [12, 13]. Они ассоциированы с раскрытием механизмов синтеза основных классов микробных метаболитов с помощью поликетидсинтазы [14, 15], нерибосомной пептидсинтазы [16–18], активно используемых морскими бактериями биосинтетических путей для производства антимикробных субстанций.

2. Антимикробные субстанции морских микроорганизмов

Микроорганизмы из наземных экосистем и их метаболиты всегда служили источником многих биологически активных соединений для нужд медицины, фармацевтической промышленности и

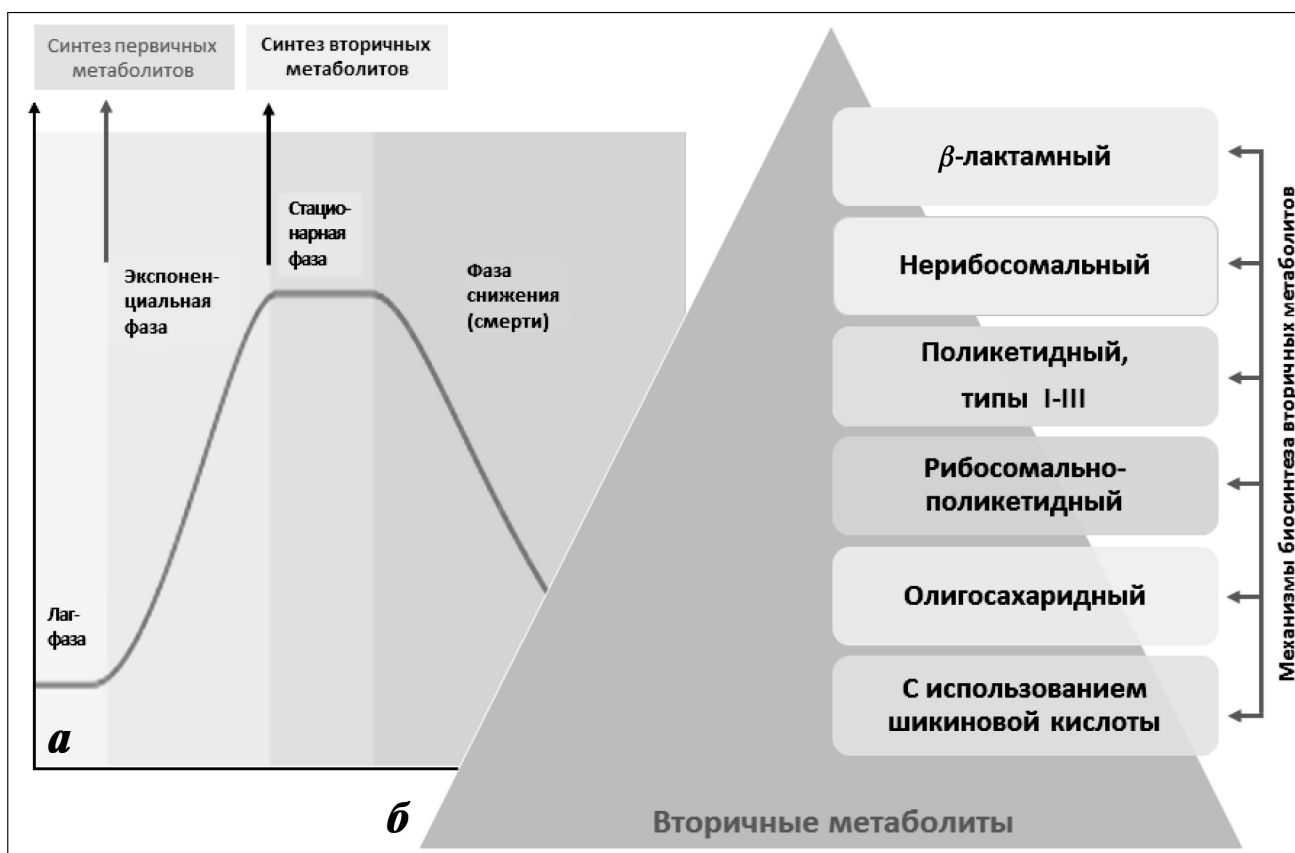


Рис. 1. Производство вторичных метаболитов происходит в конце экспоненциальной и в начале стационарной фаз роста бактерий (а). Различные механизмы биосинтеза вторичных метаболитов у бактерий (б).

сельского хозяйства. После многолетних интенсивных исследований земных микроорганизмов внимание было сосредоточено на водной экосистеме Мирового океана. Температурные конверсии, гидростатическое давление, изменяющиеся солёность воды и концентрация кислорода становятся причинами богатого таксономического многообразия морской биоты, среди которой бактерии и грибки составляют значительную часть и являются богатым ресурсом химических продуктов, а также перспективным источником большого количества биологически активных веществ [3, 7, 19, 20].

Одним из первых обнаружил антагонистические взаимодействия некоторых морских бактерий с возбудителями опасных инфекций (*Bacillus anthracis* и *Vibrio cholerae*) V. de Giaxa в 1889 г. В своей работе «Veber das Verhalten einiger pathogener Mikroorganismen im Meerwasser» он показал, что при сочетанном культивировании с морскими бактериями эти наземные патогены теряли способность вызывать инфекцию в эксперименте [цит. по 21, 22]. Однако в те годы эта статья не привлекла внимания исследователей.

К вопросу о конкурентном взаимодействии морских бактерий и некоторых представителей семейства Enterobacteriaceae вернулись только в 50-х годах прошлого века S. Kiribayashi, T. Aida (1941 г.), B. D. Rosenfeld, C. E. ZoBell (1947 г.) и другие. Ре-

зультаты проведённых в тот период исследований позволили впервые установить, что гибель патогенных энтеробактерий в морской воде явилась следствием токсического эффекта «антибиотиков, продуцируемых морскими микроорганизмами» (C. ZoBell, 1947) и в меньшей степени — солёностью и осмотическим давлением воды [цит. по 21]. Тогда же была предпринята попытка выделить эти вещества. Было протестировано 58 видов морских бактерий — представителей родов *Actinomyces*, *Bacillus*, *Micrococcus* и *Serratia*, среди которых выявлено 9 штаммов-продуцентов антибактериальных субстанций, относящихся антагонистически к грамположительным микроорганизмам [21–23].

Растущий в мире интерес к изучению биологически активных метаболитов, продуцируемых морскими бактериями, стал следствием развития знаний об истинно морских микроорганизмах. Современная научная парадигма соответствует концепции, выдвинутой в середине XX века основоположниками морской микробиологии академиком Б. Л. Исаченко (1871–1948), К. Э. Зобеллом (Claude ZoBell, 1904–1989 гг.), обосновавшими автохтонность существования морских бактерий и их таксономическое своеобразие [цит. по 22]. Последующие открытия показали, что морской биоте присущи специфические таксоны прокариот, грибов и других микроорганизмов,

распространённых повсеместно. Они являются активными участниками круговорота веществ в воде и донных осадках океана, а также источниками производства и выделения специфических метаболитов пептидной природы [19, 22, 24, 25].

История изучения вторичных метаболитов из морских бактерий является примером совместных усилий и достижений микробиологов, химиков, биохимиков, молекулярных биологов и генетиков. После открытия у микроорганизмов феномена, независимого от рибосом и РНК синтеза необычных по структуре пептидов, последовал поток выявления и идентификации чрезвычайно разнообразных природных бактериальных метаболитов, обладающих антибиотической и противоопухолевой активностью (табл. 2).

3. Вторичные метаболиты морских бактерий — продукты нерибосомального синтеза

В процессе жизнедеятельности морские микроорганизмы активно синтезируют вторичные метаболиты, являющиеся низкомолекулярными пептидами. Они представляют собой специфиче-

ские белковые фрагменты, которые, помимо того что служат источниками азота и аминокислот, обладают многочисленными биологическими функциями [5, 7, 11, 53]. Эти вещества были получены из водорослей, морских бактерий и грибов. Было показано, что антиинфекционная активность морских пептидов зависит от их структурных свойств, состава аминокислот и их последовательности, а также условий обитания бактерий-продуцентов [7, 53, 54] (см. табл. 2).

Большая часть морских бактерий существует в экстремальных условиях высокого давления, солёности, низкой температуры, недостатка солнечного света. Эти факторы привели к развитию у них уникальных свойств и способности к биосинтезу веществ с необычными характеристиками, отличными от наземных аналогов. До настоящего времени исследованы биологические свойства лишь незначительного количества этих пептидных субстанций, однако с каждым годом их количество увеличивается, и они привлекают всё большее внимание исследователей [11, 54–56].

Большинство морских бактерий и других микроорганизмов метаболитов используют для биосинтеза многочисленные кластеры генов [7, 56].

Таблица 2. Перспективные вторичные метаболиты с антимикробной активностью, выделенные из морских бактерий и синтезированные в лабораторных условиях

Метаболит	Продуцент	Ингибируют	Активная концентрация	Ссылки
Богорол А (Bogorol A)	<i>Bacillus</i> sp.	Метициллинорезистентный <i>S.aureus</i> (MRSA)	2 мкг/мл (MIC)	26, 27
Лолоатин Б (Loloatin B)	<i>Bacillus</i> sp.	Метициллинорезистентный <i>S.aureus</i> (MRSA), ванкомицинорезистентный <i>Enterococcus faecium</i> (VRE)	1–2 мкг/мл (MIC)	28, 29
Таурамамид (Tauramamide)	<i>Brevibacillus laterosporus</i>	<i>Enterococcus</i> sp.	0,1 мкг/мл (MIC)	30, 31
Галобациллин (Halobacillin)	<i>Bacillus</i> sp. CND-914	<i>S.aureus</i> , <i>P.vulgaris</i> и <i>E.faecalis</i> . Human HCT-116 cancer cells	0,98 мкг/мл (IC ₅₀)	4, 32
Макролактин S (Macrolactin S)	<i>B.amyloliquefaciens</i>	<i>E.coli</i> , <i>S.aureus</i>	0,1–0,3 мкг/мл (MIC)	33, 34
Макролактин V (Macrolactin V)	<i>B.amyloliquefaciens</i>	<i>E.coli</i> , <i>B.subtilis</i> , <i>S.aureus</i>	0,1 мкг/мл (MIC)	33, 34
Бациллистатины (Bacillistatins)	<i>Bacillus silvestris</i>	<i>Streptococcus pneumonia</i>	0,5–2 мкг/мл (GI ₅₀)	35
Тиопептид TP-1161 (Triopeptid TP-1161)	<i>Nocardiosis</i> sp	Ванкомицинорезистентный <i>Enterococcus faecium</i> (VRE)	1,0 мкг/мл (MIC)	36–39
Галоцинтин (Halocintin)	<i>Halocynthia papillosa</i>	<i>Micrococcus luteus</i> , <i>Bacillus megaterium</i> , <i>Aerococcus viridans</i> , <i>S.aureus</i> , <i>Enterococcus faecalis</i>	0,39–50 мкМ (MBC)	40, 41
Индигоидин (Indigoidin)	<i>Phaeobacter</i> sp.	<i>Vibrio fischeri</i>	Н/о	42, 43
Уннармицины А, С (Unnarmicins A, C)	<i>Photobacterium</i> sp.	<i>Pseudovibrio</i> sp.	7–18 мкг/диск	44, 45
Нгерхеумицины А–D (Ngercheumicins A–D)	<i>Photobacterium</i> sp.	Грам(–) бактерии	Н/о	31, 46
Солонамидин А (Solonamidin A)	<i>Photobacterium</i> sp.	<i>S.aureus</i> , метициллинорезистентный <i>S.aureus</i> (MRSA)	Н/о	3, 47
Цикло-пептиды (Ciclo-peptids)	<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>S.aureus</i> , <i>M.luteus</i> , <i>B.subtilis</i> , <i>E.coli</i> , <i>V.anguillarum</i>	Н/о	4, 3, 48, 49
Ариакемицины А, В (Ariakemicins A, B)	<i>Rapidithrix</i> sp.	<i>Brevibacterium</i> sp., <i>S.aureus</i> , <i>B.subtilis</i>	0,46–80 мкг/мл (MIC)	44, 45
Турнагаинолиды А, В (Turnagainolides A, B)	<i>Bacillus</i> sp. RJ A 2194	MRSA, VRE и устойчивые к пенициллину <i>S.pneumoniae</i>	1–2 мкг/мл (MIC)	50
Антрамицин (Anthramycin)	<i>Streptomyces</i> sp.	<i>B.anthraxis</i> , <i>E.faecalis</i> , <i>S.pneumonia</i> , <i>S.aureus</i> , MSSA, MRSA, <i>S.aureus</i> (VRE)	0,03125–0,25 мкг/мл (MIC)	51, 52

Исследования последовательностей генома показали, что значительная часть их ответственна за биосинтез вторичных метаболитов. Например, среди морских микроорганизмов изоляты рода *Bacillus* относятся к филогенетически гетерогенным группам морских бактерий. Они нуждаются в большом количестве пищи и пространства, поэтому для конкурентной борьбы с другими бактериями синтезируют значительное количество вторичных метаболитов с выраженной антимикробной активностью, кодируемых генами, составляющими до 8% генома [54, 57].

К настоящему времени из различных морских микроорганизмов выделены десятки метаболитов, являющихся пептидами, состоящими из 20–40 аминокислот и использующихся для конкурентной меж- и внутривидовой борьбы [5, 7, 54]. Большинство из них способны быстро ингибировать или убивать широкий спектр микробов. Другие антимикробные метаболиты (белки, состоящие из 100 и более аминокислот) нарушают структуру или функцию мембран микробных клеток, связываясь со специфическими мишенями [58, 59]. В рамках глобальной программы поиска антимикробных альтернатив традиционным антибиотикам за последние 15 лет было представлено более 40 результатов исследований по обнаружению новых антимикробных субстанций, выделенных из морских бактерий и грибов [53, 55, 57].

В последние годы особое внимание исследователей привлекли вторичные метаболиты морских бактерий, являющиеся продуктами нерибосомального биосинтеза, которые рассматриваются в качестве нового класса природных антимикробных препаратов, способных в перспективе стать альтернативой традиционным антибиотикам [54, 56, 59, 60].

Способность к нерибосомальному синтезу пептидов получила широкое распространение среди бактерий. Как правило, эти метаболиты имеют значительный спектр биологической активности (антимикробная, противоопухолевая, противовирусная и противогрибковая), разнообразные фармакологические свойства и чрезвычайно широкое структурное разнообразие [58–60]. Морская экосистема является неисчерпаемым источником разнообразных классов нерибосомально синтезируемых вторичных метаболитов. Эти субстанции (липopeптиды, полипептиды, макролактоны, жирные кислоты, поликетиды, липоамиды и изокумарины) являются циклическими разветвленными пептидными соединениями с необычным строением и структурными шаблонами новых природных антибиотиков [59, 61–63].

Во второй половине XX века этот механизм биосинтеза был смоделирован в лабораторных условиях для получения антимикробных пептидов, продуцируемых морскими изолятами *Bacillus*

sp., у которых фармакологическое ингибирование рибосом или удаление РНК не препятствовало синтезу белка [64].

Установлено, что АТФ-зависимый синтез нерибосомальных пептидов (nonribosomal peptides, NRP) происходит с помощью пептид-синтетазы — ферментного комплекса, не зависящего от мессенджерной РНК, передающей генетическую информацию от ДНК к рибосомам, где определяется аминокислотная последовательность белковых продуктов экспрессии генов [61, 63, 65].

Функционирование этого своего рода сборочного конвейера зависит исключительно от активности пептид-синтетазы, представляющей собой мультидоменный модульный ферментный комплекс. Он катализирует АТФ-зависимый синтез важных пептидных продуктов с антимикробной активностью из определённых последовательностей протеиногенных и некодируемых аминокислотных субстратов. Процесс включает в себя три ключевые последовательные стадии: ацетилирование, тиолизация и конденсация с использованием одноименных ключевых доменов и пептидного белка-носителя [18, 59, 62] (рис. 2).

В отличие от рибосомального синтеза, где последовательность 20–22 природных аминокислот детерминируется первичной структурой РНК, независимый от рибосом механизм обеспечивает создание относительно коротких NRP. Они состоят из множества некодируемых (непротеиногенных) аминокислот, последовательность соединения которых строго определена структурой полиферментного комплекса. К настоящему времени известны около 150 таких аминокислот и десятки тысяч их комбинаций, с чем связано широкое структурное многообразие NRP, физико-химическая стабильность и конформационная пластичность [58, 60, 63].

В связи с высокой фармакологической активностью продуктов нерибосомального синтеза в последние годы было приложено немало сил к изучению интересных и необычных механизмов биосинтеза и многообразия фармакологических свойств NRP. К настоящему времени как у наземных (комменсалов и патогенов человека), так и у морских видов бактерий охарактеризовано несколько путей нерибосомального синтеза пептидов, что достаточно полно изложено в недавних обзорах [59, 60, 64].

Отметим, что эволюционно раскрытие механизмов нерибосомального биосинтеза развивалось от ошибочных взглядов на пептид-синтетазы как предшественников рибосом, открытия «тиотемплатного» механизма [62, 65] и его пересмотра в связи с появлением современной модульно-доменной «модели множественных носителей» [58, 63, 64]. В этом обзоре рассмотрим лишь некоторые антимикробные пептидные суб-

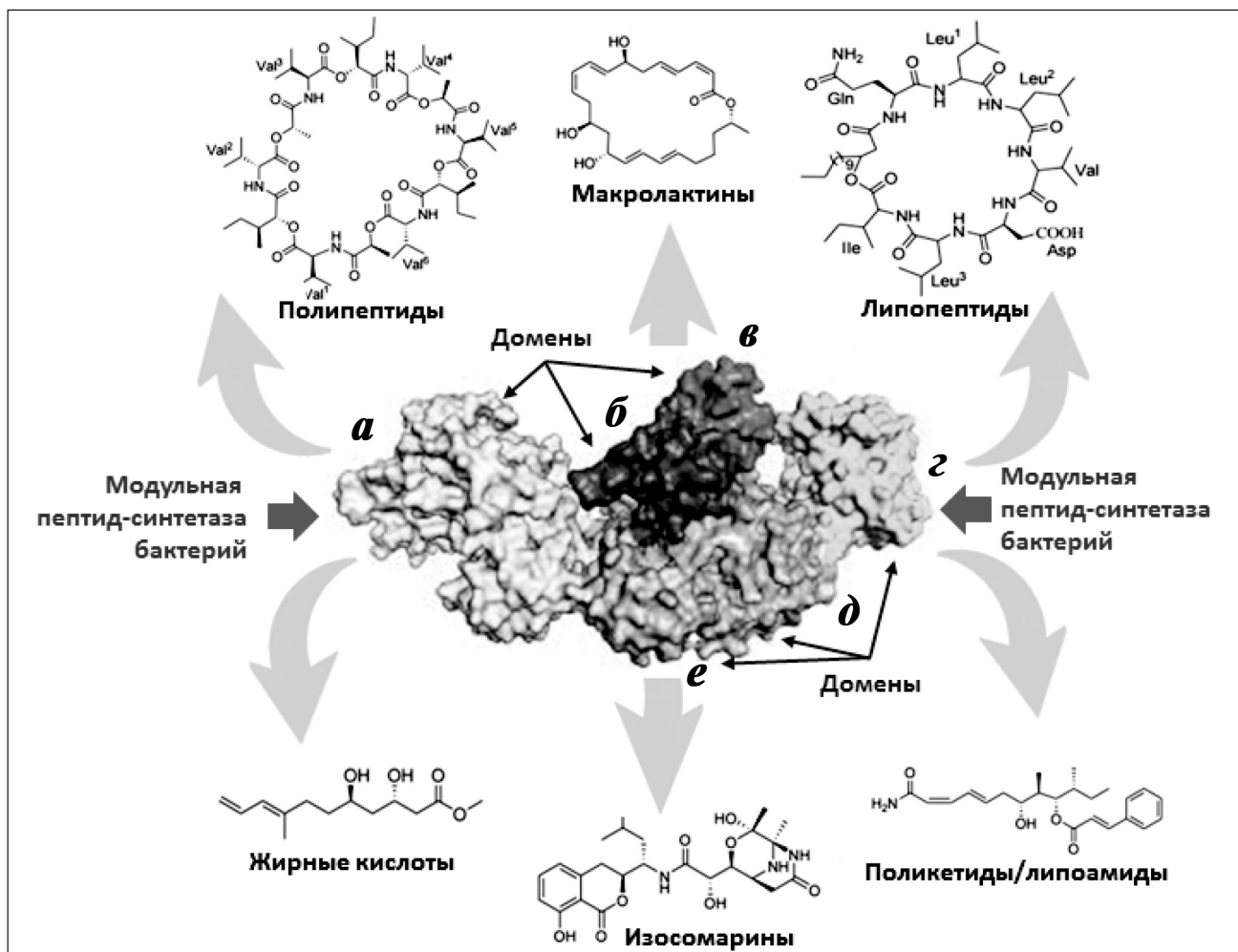


Рис. 2. Структура мультидоменной модульной пептид-синтетазы бактерий, лежащей в основе нерибосомального синтеза и структурного разнообразия синтезируемых метаболитов. Домены: *a* — пептид-носитель; *b* — ацетилирования; *c* — конденсации; *d* — тиостеразные; *e* — формилтрансферазные.

станции, являющиеся продуктами этого пути биосинтеза и входящие в состав вторичных метаболитов морских бактерий.

3.1 Циклические липопептиды (cLPs). Циклические липопептиды (cLPs) являются универсальными метаболитами, синтезируемыми различными бактериальными родами, и представляют интерес как вещества с разнообразной биологической активностью (см. рис. 2). Липопептиды морских бактерий состоят из короткого циклического олигопептида (остова), связанного с жирными кислотами (хвоста), и обладают сильной антибактериальной активностью против распространённых патогенов человека, животных и растений, благодаря которой эти метаболиты и привлекли внимание в качестве потенциальных природных антибиотических препаратов (см. табл. 2).

Липопептиды подразделяют на три семейства: итурины, фенгицины и сурфактины [66–68]. В химической структуре пептидный остов представлен семью (итурины и сурфактины) или десятью (итурины) аминокислотами, связанными с β -гид-

рокси- (фенгицины и сурфактины) или β -амино- (итурины) жирными кислотами с числом атомов углерода от C-10 до C-16 (сурфактины), от C-14 до C-17 (итурины) и от C-14 до C-18 (фенгицины). Каждое семейство подразделяется на гомологичные подсемейства в зависимости от положения конкретной аминокислоты в пептидном кольце [66, 68]. Примерами хорошо охарактеризованных липопептидных антибиотиков, являющихся метаболитами морских бактерий, служат таурамамид (tauromamid), галобациллин (halobacillin) и метилгалобациллин (methylhalobacillin) [4, 30–32].

Таурамамид является относительно новым антибиотиком биосинтетического нерибосомального происхождения [30, 31] (см. табл. 2), относящимся к группе циклических липопептидов (подобно даптомицину — первому разрешённому к применению антибиотику этого класса). Он продуцируется морским бактериальным изолятом *Brevibacillus lateosporus* PNG276, обитающим в заливе Папуа–Новая Гвинея [31]. Таурамамид обладает сильным и селективным ингибирую-

щим действием на грамположительный патоген *Enterococcus* sp., а также активностью в отношении метициллинорезистентного *Staphylococcus aureus* (MRSA; MIC 200 мкг/мл) и *Candida albicans* (MIC 50 мкг/мл) [30, 31].

Галобациллин и метилгалобациллин — два циклических липопептида — были выделены из бактерий, обитающих в глубоководном донном осадке Калифорнийского залива в Мексике [32]. Галобациллин также является одним из наиболее эффективных известных биосурфактантов [4]. Этот антибиотик ингибирует рост опухолевых клеток толстой кишки человека (HCT-116) с IC_{50} 0,98 мкг/мл и проявляет аналоговую, но меньшую, чем сурфактин (известный антибиотик-сурфактант, выделенный из наземных штаммов *Bacillus subtilis*), антимикробную активность против *S.aureus*, *Proteus vulgaris* и *Enterococcus faecalis* [4, 32] (см. табл. 2).

О широком распространении cLPs среди вторичных метаболитов морских бактерий говорит тот факт, что они составляют большую часть продуцентов морских изолятов *Bacillus* sp. — одного из самых часто встречающихся обитателей Мирового океана [3].

3.2 Полипептиды/циклические депсипептиды/циклические декапептиды. Механизм нерибосомального биосинтеза лежит и в основе синтеза линейных полипептидов, циклических декапептидов и депсипептидов, являющихся структурным шаблоном новых антимикробных катионных пептидов bogorol A, а также turnagainolides A и B, являющихся метаболитами изолятов *Bacillus* sp., выделенных из моря около тропических рифов в Папуа—Новой Гвинее [26, 27, 50, 66].

Полипептид богорол A (*Bogorol* A) показал хорошую активность в отношении метициллинорезистентного *S.aureus* (MRSA) (MIC 2 мкг/мл), ванкомицинорезистентного энтерококка (VRE) (MIC = 10 мкг/мл) и умеренную — в отношении *E.coli* (MIC = 35 мкг/мл) [26, 27, 67].

Циклические депсипептиды *Turnagainolides* A и B, полученные из лабораторных культур морского штамма *Bacillus* RJA2194, выделенного из донного осадка, собранного близ острова Турнагейн, расположенного в северной части пролива Торреса, в скрининговых тестах показали высокую активность по отношению к метициллинорезистентному *S.aureus* (MRSA), и ванкомицинорезистентному *Enterococcus faecium* (VRE), а также устойчивым к пенициллину изолятам *Streptococcus pneumoniae* (MIC = 10 мкг/мл). Аналогичные по структуре пептиды, бациллистатины 1 и 2, были выделены из культуры *Bacillus silvestris*, тихоокеанской бактерии, являющейся симбионтом одного из разновидностей крабов — обитателей южного побережья Чили. Эти антибиотики были активны в отношении антибиотикорезистентных *S.pneu-*

moniae и активно ингибировали рост раковых клеток человека (GI_{50} 10^{-4} – 10^{-5} мкг/мл) [49, 50].

Новый циклический декапептидный антибиотик лолоатин B (loloatin B) с мощной антимикробной активностью против грамположительных бактерий является метаболитом *Bacillus* sp., выделенных из морских червей [28, 29].

3.3 Поликетиды/липоамиды. Поликетиды — это чрезвычайно большие классы вторичных метаболитов, которые содержат ацил-кофермент A и составляют основу многих фармацевтических, агрохимических и ветеринарных препаратов. Биосинтез этих метаболитов происходит с участием полифункциональных модульных мегасинтетаз, известных как поликетидсинтазы [14, 15]. Благодаря этому механизму биосинтеза поликетиды имеют удивительное структурное и антимикробное разнообразие. Недавно были охарактеризованы несколько метаболитов с антибиотическим действием из морских изолятов *B.lateosporus*, относящихся к семейству поликетидов, таких как базилискамид (basiliskamide) A и B, а также тупуселейамид (tupusleiamide) A и B. Эти антибиотики показали антигрибковую активность в отношении *Candida albicans* (MIC 1,0 и 3,1 мкг/мл) и *Aspergillus fumigatus* (MIC = 2,5 и 5,0 мкг/мл) [14, 15, 45].

Два поликетиды с уникальными антимикробными и противоопухолевыми свойствами были выделены в 2012 г. из морской бактерии *B.licheniformis* из образца осадка, собранного на южном рифе Иодо в территориальных водах Республики Корея. Антибиотики иодоглюкомиды A и B *in vitro* показали антимикробную активность в отношении грамположительных и грамотрицательных патогенных бактерий (MIC 8–32 мкг/мл). Кроме того, иодоглюкомид B проявлял цитотоксическую активность в отношении клеточных линий рака лёгких (GI_{50} 25,18 мкг/мл) и желудка (GI_{50} 17,78 мкг/мл) [14].

К этой же структурной группе относится тиопептидный антибиотик TP-1161, который был выделен из морской грамположительной бактерии *Nocardiosis* sp. [36–38]. Данный антибиотик показал высокую антибактериальную активность *in vitro* против клинических изолятов грамположительных бактерий (MIC варьировали от 0,25 до 4 мкг/мл), то есть в концентрации, сопоставимой с эталонным антибиотиком ванкомицином. TP-1161 также ингибировал рост устойчивых к ванкомицину бактериальных штаммов, включая *E.faecalis* и *E.faecium*, с MIC 1 мкг/мл [38].

4. Механизмы антимикробного действия антибактериальных пептидов — вторичных метаболитов морских бактерий

Биологическая целесообразность антибактериальной активности пептидов, входящих в со-

став вторичных метаболитов морских бактерий, ещё полностью не установлена. Они могут являться оружием против конкурентов, позволяющим отразить вторжение других бактерий в установившуюся экосистему [3, 5, 11, 67] или выступать в роли сигнальных молекул в бактериальных сообществах — биоплёнках [4, 10, 69, 70]. Высокая антимикробная селективность, удивительная стабильность и низкая токсичность определяют эти пептиды в качестве реальной альтернативы или дополнения традиционной антибиотикотерапии. Большинство новых природных антибиотиков, полученных из морских бактерий, активны в пико- или наномолярных концентрациях против филогенетически близких бактериальных видов, однако у некоторых из них был выявлен более широкий спектр антимикробной активности (см. табл. 2).

В последние годы из ряда других морских бактерий была выделена многочисленная группа вторичных метаболитов разных типов и структур, а также механизмов антибактериального действия [3–5, 7, 8]. При этом, в отличие от земных экосистем, продуцентами антимикробных пептидов являлись, главным образом, штаммы грамположительных морских бактерий [7, 9, 10], не-

смотря на то, что в морской среде доминируют грамотрицательные прокариоты [20, 21, 68, 71].

Большинство из выделенных антимикробных метаболитов способно быстро убивать широкий спектр микробов. На основании различий в арсеналах антибактериальных стратегий их можно разделить на 4 типа по ключевым механизмам цитотоксичности [68, 71, 72]. Большие антимикробные белки (> 100 аминокислот) часто являются литическими, связывающими питательные вещества белками [68, 73] или разрушающими специфические клеточные паттерны [73–75], вызывая деградацию ДНК [69, 75], ингибирование внутриклеточного синтеза пептидогликана [70, 76, 77] и специфических белков, разрушая структуру или функцию мембран микробных клеток [7, 54, 78, 79] (рис. 3).

Особое внимания заслуживают антимикробные пептиды, продуцируемые грамположительными морскими бактериями и составляющие большинство из зарегистрированных в настоящее время препаратов. Они обладают особым ингибирующим механизмом, их антибактериальный эффект связан с дестабилизацией мембран бактериальных клеток-мишеней. Спектр их антибактериальной активности направлен не только против таксономически близких видов, но и

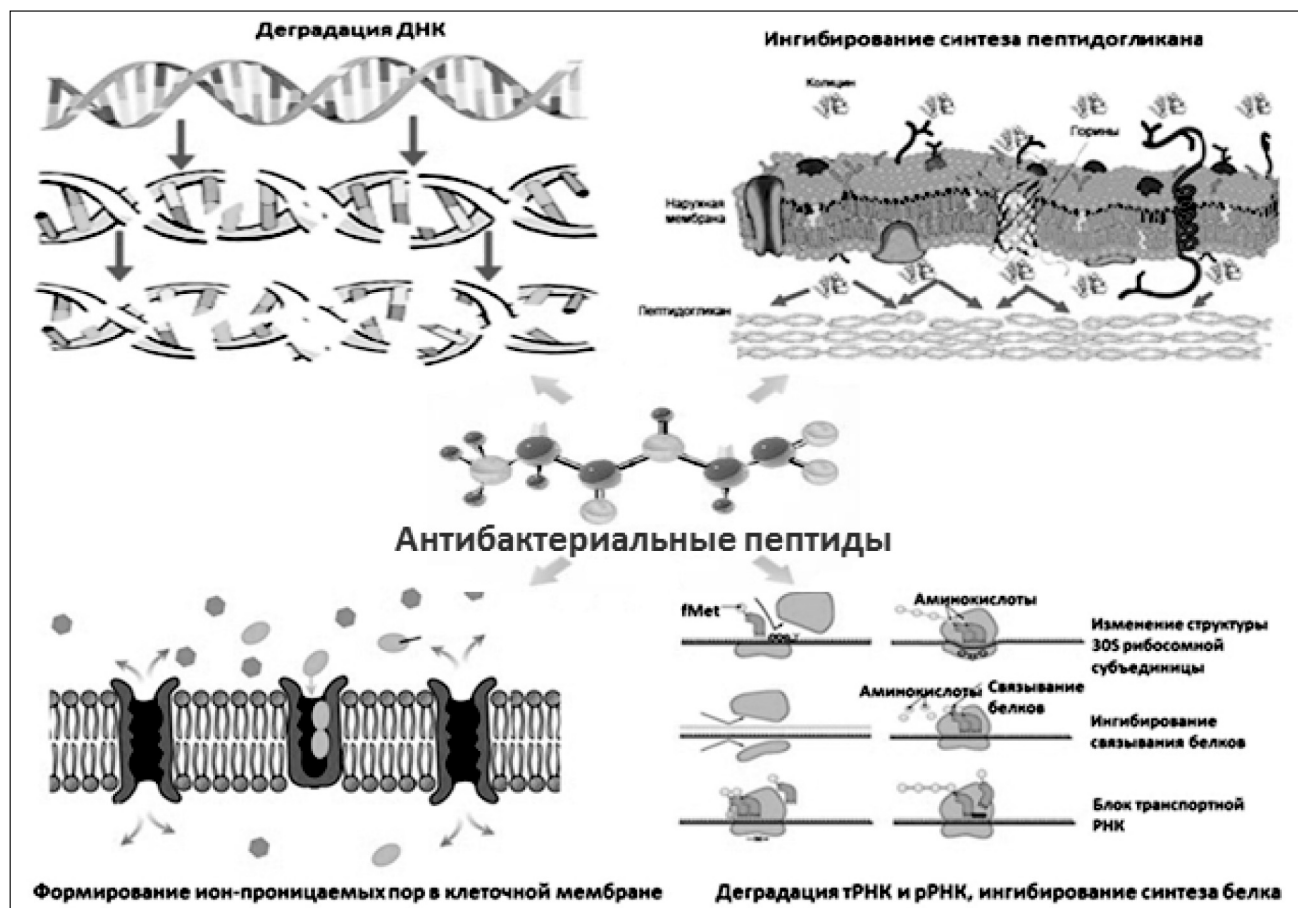


Рис. 3. Ключевые механизмы антимикробного действия антибактериальных пептидов — вторичных метаболитов морских бактерий (рис. авторов).

других бактерий, среди которых значительное количество патогенов, имеющих важное медицинское значение [70, 77].

И действительно, использование этих пептидов для лечения бактериальных инфекций, ассоциированных с метициллино- и ванкомицинорезистентными штаммами патогенных бактерий, хорошо зарекомендовало себя в качестве потенциальной терапевтической стратегии борьбы с множественной лекарственной устойчивостью (см. табл. 2).

За последние годы были созданы две обширные базы данных, доступные для хранения и получения информации о более чем двухстах антибактериальных пептидах: BACTIBASE [80] и BAGEL [81, 82]. Кроме того, представители этого класса метаболитов упоминаются в соответствующих базах данных, таких как APD3 [83], ANTIMIC [84], CyBase [85] или StraPep [86], использование которых в режиме online позволяет предположить антибактериальную активность полученных субстанций.

Несмотря на то, что выделение и изучение вторичных метаболитов морских бактерий в настоящее время находится в начальной стадии, полученные результаты показали, что они представляют собой наиболее перспективные средства для борьбы с инфекционными заболеваниями рыб. Это особенно актуально в свете современных мировых тенденций возрастания значения морской аквакультуры в объёме пищевой рыбопродукции и повышения её роли в мировом рыболовстве [87–89].

Кроме того, метаболиты морского происхождения продемонстрировали свой огромный потенциал применения в качестве природных консервантов продуктов, медицинских и ветеринарных терапевтических препаратов или фитосанитарных средств для защиты растений [4, 88, 90, 91]. Очень интересен и перспективен их противоопухолевый ресурс [4, 32, 66, 92], а также противовирусная [5, 64] и противогрибковая активность [3–5].

5. Выводы и перспективы на будущее

Морские бактерии представляют собой чрезвычайно богатый источник структурно-разнообразных классов вторичных метаболитов белковой природы. За последние годы достигнут значительный прогресс в нашем понимании сложных механизмов их нерибосомального биосинтеза. Эти природные продукты жизнедеятельности морских бактерий имеют широкий спектр антимикробного действия, низкую скорость элиминации из орга-

низма, высокую специфичность для клеточных мишеней, сниженный риск нежелательного побочного действия. Благодаря этим свойствам они уже зарекомендовали себя в качестве источника эффективных биологически активных терапевтических препаратов, способных стать альтернативой традиционным антимикробным средствам.

В основе современных технологий открытия и разработки новых антибиотических препаратов, имеющих медицинское значение, лежит использование природных стратегий нерибосомального синтеза пептидов [4, 9, 10]. Раскрытие механизмов и потенциала этого вида производства метаболитов у наземных и морских бактерий имеет не только фундаментальное, но и большое практическое значение. У патогенов человека этот биосинтетический путь, возможно, является причиной появления микробных изолятов с множественной лекарственной устойчивостью. В этих условиях активность пептидсинтетазы и кластеры генов, ответственных за нерибосомальный синтез, становятся новой мишенью в стратегии лечения инфекций, вызванных лекарственно-устойчивыми формами бактерий [3, 5, 91].

Что касается морских бактерий и их вторичных метаболитов, то направленное управление механизмами биосинтеза путём использования метаболической инженерии для создания гибридных пептидсинтетаз или получения гибридных пептидов методом разрушения целевого гена нерибосомального синтеза становится одним из интересных трендов современной биотехнологии. Этот путь становится не только одним из наиболее перспективных направлений для разработки новых антибиотиков, но и потенциальной мишенью в борьбе с внешнесекреторной активностью патогенных бактерий и, следовательно, их жизнеспособностью [5, 92].

Открытый и апробированный в последние годы ряд активных антимикробных препаратов, полученных из морских бактерий, свидетельствует о высоком фармакологическом потенциале их вторичных метаболитов, а изучение этих пептидов — интересным и продуктивным направлением исследований в ближайшие годы.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа выполнена при поддержке Комплексной программы фундаментальных исследований ДВО РАН «Дальний Восток», проект № 18-5-099.

ЛИТЕРАТУРА

1. WHO. Antimicrobial Resistance. 2015, Available online at www.who.int.
2. Chokshi A., Sifri Z., Cennimo D., Horng H. Global contributors to antibiotic resistance. *J Glob Infect Dis* 2019 Jan–Mar; 11 (1): 36–42. doi: 10.4103/jgid.jgid_110_18.
3. Kang H.K., Seo C.H., Park Y. Marine peptides and their anti-infective activities. *Mar Drugs* 2015; 13 (1): 618–654. doi: 10.3390/md13010618.
4. Mondol M., Shin H., Islam M. Diversity of secondary metabolites from marine bacillus species: chemistry and biological activity. *Marine Drugs* 2013; 11 (8): 2846–2872. doi:10.3390/md11082846.
5. Böhringer N., Fisch K.M., Schillo D. et al. Antimicrobial potential of bacteria associated with marine Sea Slugs from North Sulawesi, Indonesia. *Front Microbiol* 2017; 8: 1092.
6. Андриков Б.Г., Запорожец Т.С., Беседнова Н.Н. Перспективные стратегии поиска новых средств борьбы с инфекционными заболеваниями. Антибиотики и химиотер. — 2018. — Т. 63. — № (1–2). —

- C. 44–55. doi:10.5281/zenodo.1306245. / Andriyukov B.G., Zaporozhets T.S., Besednova N.N. Perspektivnye strategii poiska novykh sredstv bor'by s infektsionnymi zabolovaniami. Antibiotiki i khimioter 2018; 63 (1–2): 44–55. doi:10.5281/zenodo.1306245. [in Russian]
7. Andriyukov B.G., Mikhaylov V.V., Besednova N.N., et al. The Bacteriocinogenic potential of marine microorganisms. Russian Journal of Marine Biology, 2018; 44(6): 433–441. doi: 10.1134/S1063074018060020.
8. Gokulan K., Khare S., Cerniglia C. Metabolic pathways. Production of secondary metabolites of bacteria. Encyclopedia of Food Microbiology 2014; 561–569. doi:10.1016/b978-0-12-384730-0.00203-2.
9. Wang Y-P., Lei Q-Y. Metabolite sensing and signaling in cell metabolism. Signal Transduction and Targeted Therapy 2018; 3: 30. doi:10.1038/s41392-018-0024-7
10. Pinu F.R., Villas-Boas S.G., Aggio R. Analysis of intracellular metabolites from microorganisms: quenching and extraction protocols. Metabolites 2017; 7: 53. doi:10.3390/metabo7040053.
11. Niu G.Q., Tan H.R. Biosynthesis and regulation of secondary metabolites in microorganisms. Life Sciences 2013; 56 (7): 581–583. doi: 10.1007/s11427-013-4501-5.
12. Baral B., Akhgari A., Metsä-Ketelä M. Activation of microbial secondary metabolic pathways: Avenues and challenges. Synthetic and Systems Biotechnology 2018; 3 (3): 163–178. doi: 10.1016/j.synbio.2018.09.001. Zhang, 2017; Robbins, 2016
13. Wright G.D. Something old, something new: revisiting natural products in antibiotic drug discovery. Can J Microbiol 2014; 60: 147–154. doi: 10.1139/cjm-2014-0063.
14. Zhang Z., Pan H.-X., Tang G.-L. New insights into bacterial type II polyketide biosynthesis. F1000Research 2017; 6: 172. doi: 10.12688/f1000research.10466.1.
15. Robbins T., Liu Y.C., Cane D.E., Khosla C. Structure and mechanism of assembly line polyketide synthases. Curr Opin Struct Biol 2016; 41: 10–18. doi: 10.1016/j.sbi.2016.05.009.
16. Strieker M., Tanović A., Marahiel M.A. Nonribosomal peptide synthetases: structures and dynamics. Curr Opin Struct Biol 2010 Apr; 20 (2): 234–240. doi: 10.1016/j.sbi.2010.01.009.
17. Gulick A.M. Nonribosomal peptide synthetase biosynthetic clusters of ESKAPE pathogens. Nat Prod Rep. 2017; 34 (8): 981–1009. doi: 10.1039/c7np00029d.
18. Alfermann J., Sun X., Mayerthaler F., Morrell T.E., Dehling E., Volkmann G., Komatsuzaki T., Yang H., Mootz H.D. FRET monitoring of a nonribosomal peptide synthetase. Nat Chem Biol 2017; 13 (9): 1009–1015. doi: 10.1038/nchembio.2435.
19. Chen D., Qian X. A brief history of bacteria: The Everlasting game between humans and bacteria. Shackensack-London, Chemical Industry Press 2018. 296.
20. Михайлов В.В., Пивкин М.В. Изучение морских бактерий и грибов. Некоторые результаты и перспективы исследования. Вестник Дальневосточного отделения Российской академии наук. — 2014. — Т. 1. — Вып. 173. — С. 149–156. Mikhajlov V.V., Pivkin M.V. Izuchenie morskikh bakterij i gribov. Nekotorye rezul'taty i perspektivy issledovaniya. Vestnik Dal'nevostochnogo otdeleniya Rossijskoj akademii nauk 2014; 1: 173: 149–156. [in Russian]
21. Стоник В.А., Михайлов В.В. Перспективы использования микроорганизмов окраинных морей Дальнего Востока и Арктики для поиска и практического применения природных биоактивных веществ. М.: Научно-технические проблемы освоения Арктики. — 2015. — С. 412–425. / Stonik V.A., Mikhajlov V.V. Perspektivy ispol'zovaniya mikroorganizmov okrainnykh morej Dal'nego Vostoka i Arktiki dlya poiska i prakticheskogo primeneniya prirodnykh bioaktivnykh veshchestv. M.: Nauchno-tehnicheskie problemy osvoeniya Arktiki. 2015; 412–425. [in Russian]
22. Timmermans M.L., Paudel Y.P., Ross A.C. Investigating the biosynthesis of natural products from marine proteobacteria: A survey of molecules and strategies. Mar Drugs 2017; 15 (8). pii: E235. doi: 10.3390/md15080235.
23. Choudhary A., Naughton L.M., Montánchez I., Dobson A.D.W., Rai D.K. Current status and future prospects of marine natural products (MNPs) as antimicrobials. mar drugs. 2017; 15 (9). pii: E272. doi: 10.3390/md15090272.
24. Manivasagan P., Venkatesan J., Sivakumar K., Kim S.K. Pharmaceutically active secondary metabolites of marine actinobacteria. Microbiol Res 2014; 169 (4): 262–278. doi: 10.1016/j.micres.2013.07.014.
25. Versluis D., Nijse B., Naim M.A., Koehorst J.J., Wiese J., Imhoff J.F., Schaap P.J., van Passel M.W.J., Smidt H., Sipkema D. comparative genomics highlights symbiotic capacities and high metabolic flexibility of the marine genus *Pseudovibrio*. Genome Biol Evol 2018; 10 (1): 125–142.
26. Yamashita T., Kuranaga T., Inoue M. Solid-phase total synthesis of bogorol a: stereocontrolled construction of thermodynamically unfavored (E)-2-amino-2-butenamide. Org Lett 2015; 17 (9): 2170–2173. doi: 10.1021/acs.orglett.5b00769.
27. Jang C.H., Park H., Cho Y.B., Choi C.H. Effect of vancomycin-coated tympanostomy tubes on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilm formation: *in vitro* study. J Laryngol Otol 2010; 124 (6): 594–598.
28. Tuin A.W., Grotenbreg G.M., Spalburg E., de Neeling A.J., Mars-Groenendijk R.H., van der Marel G.A., Noort D., Overkleeft H.S., Overhand M. Structural and biological evaluation of some loloatin C analogues. Bioorg Med Chem 2009 Sep 1; 17 (17): 6233–6240. doi: 10.1016/j.bmc.2009.07.049.
29. Rahman H., Austin B., Mitchell W.J., Morris P.C., Jamieson D.J., Adams D.R., Spragg A.M., Schweizer M. Novel anti-infective compounds from marine bacteria. Mar Drugs 2010 Mar 5; 8 (3): 498–518.
30. Desjardine K., Pereira A., Wright H., Matainaho T., Kelly M., Andersen R.J. Tauramamide, a lipopeptide antibiotic produced in culture by *Brevibacillus laterosporus* isolated from a marine habitat: structure elucidation and synthesis. J Nat Prod 2007; 70 (12): 1850–1853. doi: 10.1021/np070209r.
31. Agrawal S., Acharya D., Adholeya A., Barrow C.J., Deshmukh S.K. Nonribosomal peptides from marine microbes and their antimicrobial and anticancer potential. Front Pharmacol 2017; 8: 828.
32. Zhou Z.F., Guo Y.W. Bioactive natural products from Chinese marine flora and fauna. Acta Pharmacol Sin 2012 Sep; 33 (9): 1159–1169. doi: 10.1038/aps.2012.110.
33. Yuan J., Zhao M., Li R., Huang Q., Rensing C., Raza W., Shen Q. Antibacterial Compounds-Macrolactin Alters the Soil Bacterial Community and Abundance of the Gene Encoding PKS. Front Microbiol 2016; 7: 1904. doi: 10.3389/fmicb.2016.01904.
34. Jung J.W., Kim J.M., Kwon M.H., Kim D.H., Kang H.E. Pharmacokinetics of macrolactin A and 7-O-succinyl macrolactin A in mice. Xenobiotica. 2014; 44 (6): 547–554. doi: 10.3109/00498254.2013.861542.
35. Pettit G.R., Knight J.C., Herald D.L., Pettit R.K., Hogan F., Mukku V.J., Hamblin J.S., Dodson M.J., Chapuis J.C. Antineoplastic agents. 570. Isolation and structure elucidation of bacillistatins 1 and 2 from a marine *Bacillus silvestris*. J Nat Prod 2009; 72 (3): 366–371. doi: 10.1021/np800603u.
36. Raimundo I., Silva S.G., Costa R., Keller-Costa T. Bioactive secondary metabolites from octocoral-associated microbes — new chances for blue growth. Mar Drugs 2018 Dec; 16 (12): 485. doi: 10.3390/md16120485.
37. Engelhardt K., Degnes K.F., Zotchev S.B. Isolation and characterization of the gene cluster for biosynthesis of the thiopeptide antibiotic TP-1161. Appl Environ Microbiol 2010; 76 (21): 7093–101. doi: 10.1128/AEM.01442-10.
38. Engelhardt K., Degnes K.F., Kemmler M., Bredholt H., Fjærsvik E., Klinkenberg G., Sletta H., Ellingsen T.E., Zotchev S.B. Production of a new thiopeptide antibiotic, TP-1161, by a marine *Nocardiopsis* species. Appl Environ Microbiol 2010; 76 (15): 4969–4976. doi: 10.1128/AEM.00741-10.
39. Romero J., Feijoo C.G., Navarrete P. Antibiotics in aquaculture — use, abuse and alternatives. health and environment in aquaculture. For edit. E. Carvalho. InTech. 2012.
40. Galinier R., Roger E., Sautiere P.E., Aumelas A., Banaigs B., Mitta G. Halocytin and papillosin, two new antimicrobial peptides isolated from hemocytes of the solitary tunicate, *Halocynthia papillosa*. J Pept Sci 2009; 15: 48–55. doi: 10.1002/psc.1101.
41. Kojima H., Shinohara R., Itonori S., Ito M. Characterization of a novel rhamnose-containing acidic glycosphingolipid from the Ascidian *Halocynthia aurantium* J Oleo Sci 2017; 66 (3): 285–295. doi: 10.5650/jos.ess16150.
42. Slightom R.N., Buchan A. Surface colonization by marine roseobacters: Integrating genotype and phenotype. Appl Environ Microbiol 2009; 75: 6027–6037. doi: 10.1128/AEM.01508-09.
43. Cude W.N., Mooney J., Tavanaei A.A., Hadden M.K., Frank A.M., Gulvik C.A., May A.L., Buchan A. Production of the antimicrobial secondary metabolite indigoidine contributes to competitive surface colonization by the marine roseobacter *Phaeobacter* sp. strain Y41. Appl Environ Microbiol 2012; 78 (14): 4771–4780. doi: 10.1128/AEM.00297-12.
44. Oku N., Kawabata K., Adachi K., Katsuta A., Shizuri Y. Unnarmicins A and C, new antibacterial depsipeptides produced by marine bacterium *Photobacterium* sp. MBIC06485. J Antibiot 2008; 61: 11–17. doi: 10.1038/ja.2008.103.
45. Oku N., Adachi K., Matsuda S., Kasai H., Takatsaki A., Shizuri Y. Ariakemicins A and B, novel polyketide-peptide antibiotics from a marine gliding bacterium of the genus *Rapidithrix*. Org. Lett 2008; 10: 2481–2484. doi: 10.1021/ol8007292.
46. Fotie J., Morgan R.E. Depsipeptides from microorganisms: a new class of antimalarials. Mini Rev Med Chem 2008; 8 (11): 1088–1094.
47. Machado H., Månsson M., Gram L. Draft genome sequence of photobacterium halotolerans s2753, producer of bioactive secondary metabolites. Genome Announc 2014; 2 (3). pii: e00535-14. doi: 10.1128/genomeA.00535-14.
48. Srivastava A., Mishra V. Marine peptides act as novel chemotherapeutic agent. J Microbiol Exp 2018; 6 (6): 267–270.
49. Rungprom W., Siwu E.R.O., Lambert L.K., Dechsakulwatana C., Barden M.C., Kokpol U., Blanchfield J.T., Kita M., Garson M.J. Cyclic tetrapeptides from marine bacteria associated with the seaweed *Digenea* sp. and the sponge *Halisarca ectofibrosa*. Tetrahedron 2008; 64: 3147–3152. doi: 10.1016/j.tet.2008.01.089.

50. Li D., Carr G., Zhang Y., Williams D.E., Amlani A., Bottriell H., Mui A.L., Andersen R.J. Turnagainolides A and B, cyclic depsipeptides produced in culture by a *Bacillus* sp.: isolation, structure elucidation, and synthesis. J Nat Prod 2011; 74 (5): 1093–1099. doi: 10.1021/np200033y.
51. Hu Y., Phelan V., Ntai I., Farnet C.M., Zazopoulos E., Bachmann B.O. Benzodiazepine biosynthesis in *Streptomyces refuineus*. Chem Biol 2007; 14 (6): 691–701. doi: 10.1016/j.chembiol.2007.05.009.
52. Jang H.M., Kim Y.B., Choi S. et al. Prevalence of antibiotic resistance genes from effluent of coastal aquaculture, South Korea. Environ Pollut 2018; 233: 1049–1057.
53. IAEA Bulletin: Protecting Our Marine Environment. For edit. A. Yukiya. IAEA Bulletin, 2013.
54. Chen E., Chen Q., Chen S. et al. Mathermycin, Lantibiotic marine Actinomycete Marinactinospora thermotolerans SCSIO 00652. Appl Environ Microbiol 2017; 83 (15): pii: e00926-17.
55. Karvonen A., Rintamäki P., Jokela J., Valtonen E.T. Increasing water temperature and disease risks in aquatic systems: climate change increases the risk of some, but not all, diseases. Int J Parasitol 2010; 40: 13: 1483–1488.
56. Das S., Ward L. R., Burke C. Prospects of using marine actinobacteria as probiotics in aquaculture. Appl Microbiol Biotechnol 2008; 81: 419–429.
57. Kim S.K., Bhatnagar I., Kang K.H. Development of marine probiotics: prospects and approach. Adv Food Nutr Res 2012; 65: 353–362.
58. Felnagle E.A., Jackson E.E., Chan Y.A. et al. Nonribosomal peptide synthetases involved in the production of medically relevant natural products. Mol Pharm 2008 Mar–Apr; 5 (2): 191–211. doi: 10.1021/mp700137g
59. Miller B.R., Gulick A.M. Structural Biology of Non-Ribosomal Peptide Synthetases. Methods Mol Biol 2016; 1401: 3–29. doi: 10.1007/978-1-4939-3375-4_1.
60. Singh M., Chaudhary S., Sareen D. Non-ribosomal peptide synthetases: Identifying the cryptic gene clusters and decoding the natural product. J Biosci 2017; 42 (1): 175–187.
61. Miller B.R., Gulick A.M. Structural Biology of Nonribosomal Peptide Synthetases. Methods Mol Biol 2016; 1401: 3–29. doi: 10.1007/978-1-4939-3375-4_1.
62. Reimer J.M., Harb I., Ovchinnikova O.G., Jiang J., Whitfield C., Schmeing T.M. Structural insight into a novel formyltransferase and evolution to a nonribosomal peptide synthetase tailoring domain. ACS Chem Biol 2018; 13 (11): 3161–3172. doi: 10.1021/acscchembio.8b00739.
63. Bloudoff K., Schmeing T.M. Structural and functional aspects of the non-ribosomal peptide synthetase condensation domain superfamily: discovery, dissection and diversity. Biochim Biophys Acta Proteins Proteom 2017; 1865 (11 Pt B): 1587–1604.
64. Gratia J.P. Andre Gratia: a forerunner in microbial and viral genetics. In: Genetics. Bd 2000; 156 (2): 471–476.
65. Reimer J.M., Haque A.S., Tarry M.J., Schmeing T.M. Piecing together nonribosomal peptide synthesis. Curr Opin Struct Biol 2018; 49: 104–113. ACS Chem Biol 2018 Nov 16; 13 (11): 3161–3172. doi: 10.1016/j.sbi.2018.01.011.
66. Kitagaki J., Shi G., Miyauchi S., Murakami S., Yang Y. Cyclic depsipeptides as potential cancer therapeutics. Anticancer Drugs 2015; 26 (3): 259–271. doi: 10.1097/CAD.0000000000000183.
67. Offret C., Desriac F., Le Chevalier P. et al. Spotlight on antimicrobial metabolites from the marine bacteria *Pseudoalteromonas*: chemodiversity and ecological significance. Mar Drugs 2016; 14 (7): pii: E129.
68. Chau Nguyen Dang Giang, Sebesvari Z., Renaud F. et al. Occurrence and dissipation of the antibiotics sulfamethoxazole, sulfadiazine, trimethoprim, and enrofloxacin in the Mekong Delta, Vietnam. PLoS One 2015; 10 (7): e0131855.
69. Selvin J., Joseph S., Asha K.R. et al. Antibacterial potential of antagonistic *Streptomyces* sp. isolated from marine sponge *Dendrilla nigra*. FEMS Microbiol Ecol 2004; 50 (2): 117–122.
70. Pettit G.R., Knight J.C., Herald D.L., Pettit R.K., Hogan F., Mukku V.J., Hamblin J.S., Dodson M.J., Chapuis J.C. Antineoplastic agents. Isolation and structure elucidation of bacillistatins 1 and 2 from a marine *Bacillus* *silvestris*. J Nat Prod 2009; 72: 366–371. doi: 10.1021/np800603u.
71. Das S., Ward L. R., Burke C. Screening of marine *Streptomyces* spp. for potential use as probiotics in aquaculture. Aquaculture 2010; 305: 32–41.
72. Gao X.Y., Liu Y., Miao L.L. et al. Mechanism of anti-Vibrio activity of marine probiotic strain *Bacillus pumilus* H2, and characterization of the active substance. AMB Express 2017; 7 (1): 23.
73. Kers J.A., Sharp R.E., Defusco A.W. et al. Mutacin 1140 Lantibiotic Variants Are Efficacious Against *Clostridium Difficile* Infection. Front Microbiol 2018; 9: 415. doi: 10.3389/fmicb.2018.00415.
74. Mohanty B.R., Sahoo P.K. Edwardsielliosis in fish: A brief review. J Biosci 2007; 32: 1331–1344.
75. Phelan R.W., Barret M., Cotter P.D. et al. Subtilomycin: A new lantibiotic from *Bacillus subtilis* strain MMA7 isolated from the marine sponge *Haliclona simulans*. Mar Drugs 2013; 11 (6): 1878–1898.
76. Rivetti I., Frascchetti S., Lionello P., Zambianchi E., Boero F. Global warming and mass mortalities of benthic invertebrates in the Mediterranean Sea. PLoS One 2014; 9 (12): e115655.
77. Romanenko L.A., Uchino M., Kalinovskaya N.I., Mikhailov V.V. Isolation, phylogenetic analysis and screening of marine mollusc-associated bacteria for antimicrobial, hemolytic and surface activities. Microbiol Res 2008; 163: 633–644.
78. Mansson M., Gram L., Larsen T.O. Production of bioactive secondary metabolites by marine *Vibrionaceae*. Mar Drugs 2011; 9: 1440–1468. doi: 10.3390/md9091440.
79. Jang K.H., Nam S.J., Locke J.B., Kauffman C.A., Beatty D.S., Paul L.A., Fenical W. Anthracimycin, a potent anthrax antibiotic from a marine-derived actinomycete. Angew Chem Int Ed Engl 2013; 52: 7822–7824. doi: 10.1002/anie.201302749.
80. Hammami R., Zouhir A., Ben Hamida J., Fliss I. BACTIBASE: a new web-accessible database for bacteriocin characterization. BMC Microbiol 2007; 7: 89.
81. de Jong A., van Heel A.J., Kok J., Kuipers O.P. BAGEL2: mining for bacteriocins in genomic data. Nucleic Acids Res 2010; 38 (Web Server issue): W647–51. doi: 10.1093/nar/gkq365.
82. van Heel A.J., de Jong A., Montalbán-López M., Kok J., Kuipers O.P. BAGEL3: Automated identification of genes encoding bacteriocins and (non-)bactericidal posttranslationally modified peptides. Nucleic Acids Res 2013; 41 (Web Server issue): W448–53. doi: 10.1093/nar/gkt391.
83. Wang G., Li X., Wang Z. APD3: the antimicrobial peptide database as a tool for research and education. Nucleic Acids Res 2015; 44 (D1): D1087–1093.
84. Brahmachary M., Krishnan S.P., Koh J.L., Khan A.M., Seah S.H., Tan T.W., Brusic V., Bajic V.B. ANTIMIC: a database of antimicrobial sequences. Nucleic Acids Res 2004 Jan 1; 32 (Database issue): D586–9.
85. Wang C.K., Kaas Q., Chiche L., Craik D.J. CyBase: a database of cyclic protein sequences and structures, with applications in protein discovery and engineering. Nucleic Acids Res 2007; 36 (Database issue): D206–210.
86. Wang J., Yin T., Xiao X., He D., Xue Z., Jiang X., Wang Y. StraPep: a structure database of bioactive peptides. Database (Oxford). 2018; bay038. doi: 10.1093/database/bay038.
87. Bibi F., Faheem M., Azhar E.I., Yasir M., Alvi S.A., Kamal M.A., Ullah I., Naseer M.I. Bacteria From Marine Sponges: A Source of New Drugs. Curr Drug Metab 2017; 18 (1): 11–15. doi: 10.2174/1389200217666161013090610.
88. Ruocco N., Costantini S., Palumbo F., Costantini M. Marine Sponges and Bacteria as Challenging Sources of Enzyme Inhibitors for Pharmacological Applications. Mar Drugs 2017; 15 (6). pii: E173. doi: 10.3390/md15060173.
89. Dias T., Gaudêncio S.P., Pereira F. A Computer-Driven Approach to Discover Natural Product Leads for Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infection therapy. Mar Drugs 2018; 17 (1). pii: E16. doi: 10.3390/md17010016.
90. Wang Z., Wang X., Wang J. Recent advances in antibacterial and antitumor peptides or proteins from marineresources. Mar Drugs 2018; 16 (2). pii: E57. doi: 10.3390/md16020057.
91. Pereira F., Aires-de-Sousa J. Computational Methodologies in the Exploration of Marine Natural Product Leads. Mar Drugs 2018; 16 (7). pii: E236. doi: 10.3390/md16070236.
92. Ruiz-Torres V., Encinar J.A., Herranz-López M., Pérez-Sánchez A., Galiano V., Barrajón-Catalán E., Micol V. An Updated Review on Marine Anticancer Compounds: The Use of virtual screening for the discovery of small-molecule cancer drugs. Molecules 2017; 22 (7). pii: E1037. doi: 10.3390/molecules22071037.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Андрюков Борис Георгиевич — д. м. н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и микробиологии НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова, Владивосток

Михайлов Валерий Викторович — д. м. н., профессор, член-корр. РАН, заведующий микробиологической лаборато-

рией Тихоокеанского института биоорганической химии (ТИБОХ), Владивосток

Беседнова Наталья Николаевна — д. м. н., профессор, академик РАН, г. н. с. лаборатории иммунологии, НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова, Владивосток

Анализ применения антисмысловых олигонуклеотидов для профилактики и лечения опасных и особо опасных вирусных инфекционных заболеваний

А. А. ПЕТРОВ, В. Н. ЛЕБЕДЕВ, Т. Е. СИЗИКОВА, Т. М. ПЛЕХАНОВА, *С. В. БОРИСЕВИЧ

48 Центральный научно-исследовательский институт Министерства обороны Российской Федерации, *Сергиев Посад*

Analysis of Use of Antisense Oligonucleotides for Prevention and Treatment of Hazardous and Extremely Hazardous Viral Infectious Diseases

A. A. PETROV, V. N. LEBEDEV, T. E. SIZIKOVA, T. M. PLEKHANOVA, S. V. BORISEVICH

48th Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defense of the Russian Federation, *Sergiev Posad*

В обзоре рассмотрены различные поколения антисмысловых олигонуклеотидов (немодифицированные олигонуклеотиды, фосфоротриатные олигомеры, 2'-О-метил и 2'-О-метокси-этил модификации олигомеров, фосфородиамидат морфолиновые олигомеры и малые интерферирующие РНК), возможные механизмы их действия, их использование для профилактики и лечения опасных и особо опасных вирусных инфекционных заболеваний. При разработке средств экстренной профилактики и лечения опасных и особо опасных вирусных инфекционных заболеваний человека наиболее широкое применение нашли фосфородиамидат морфолиновые олигомеры и малые интерферирующие РНК. Сделан вывод, что дальнейшее усовершенствование препаратов на основе антисмысловых олигонуклеотидов можно обеспечить путём улучшения структуры последних и поиска новых химических модификаций.

Ключевые слова: антисмысловые олигонуклеотиды, фосфородиамидат морфолиновые олигомеры, малые интерферирующие РНК, профилактика, лечение.

The article describes different generations of antisense oligonucleotids (unmodified oligonucleotids, phosphorothioate oligomers, 2'-O-methyl and 2'-O-methoxy-ethyl modification of oligomers, phosphordiamidate morpholine oligomers and small interfering RNAs), the possible mechanism of their action, their use for prevention and treatment of hazardous and extremely hazardous viral infectious diseases. Phosphordiamidate morpholine oligomers and small interfering RNAs are most widely used in the development of emergency prevention and treatment of hazardous and extremely hazardous viral infectious diseases. The authors conclude, that further improvement of medications based on antisense oligonucleotids may be achieved by improving the structure of the latter and carrying out the search for new chemical modifications.

Keywords: antisense oligonucleotides, phosphordiamidate morpholine oligomers, small interfering RNAs, prevention, treatment.

Антисмысловые олигонуклеотиды представляют собой олигонуклеотиды, комплементарные РНК-мишени, при связывании с ней изменяющие её функции. Возможными механизмами действия антисмысловых олигонуклеотидов является остановка трансляции или изменение процессинга РНК или ускорение разрушения РНК при помощи эндогенных ферментов (РНК-интерференция). Способность вирусспецифических антисмысловых олигонуклеотидов ингибировать рост возбудителя вирусной природы в результате интерференции трансляции вирусных РНК была впервые установлена в 1978 г. [1, 2]. С того времени был достигнут значительный прогресс в области модификации олигонуклеотидов, их стабильности, аффинности и возможности доставки в клетки.

Использование антисмысловых олигомеров даёт возможность осуществить новую перспективную технологию лечения вирусных и бактериальных инфекций, уже продемонстрировавшую значимые результаты при испытаниях в культуре клеток и на низших приматах.

За период с 1978 г. по настоящее время было разработано несколько поколений модифицированных олигонуклеотидов. Проводимые исследования были направлены на улучшение таких характеристик, как резистентность к действию нуклеаз, аффинность к геномной нуклеиновой кислоте возбудителя, способность к входу в клетки и других прикладных фармакологических характеристик.

При характеристике антисмысловых олигомеров необходимо выделить немодифицированные олигонуклеотиды и модифицированные антисмысловые олигонуклеотиды I–III поколений и интерферирующие РНК.

© Коллектив авторов, 2019

Адрес для корреспонденции: 141306, Московская область, г. Сергиев Посад-6, ул. Октябрьская, д. 11. ФГБУ «48 ЦНИИ» МО РФ

Таблица 1. Результаты оценки прямого связывания miРНК с геномами различных РНК-содержащих вирусов

Вирус (семейство)	miРНК	Фенотипическое проявления	Источник
EEE (Alphavirus)	miR-142-3p	Снижение уровня трансляции и репликации геномной РНК миеленовых клеток, сыровоточного α/β ИНФ, повышение вирулентности	6
PFV-1 (Retrovirus)	miR-32	Снижение уровня трансляции вирусспецифических белков	9
HTLV-1 (Retrovirus)	miR-28-3p	Снижение уровня трансляции в Т-клетках, трансмиссии от человека к человеку	10
HIV (Retrovirus)	miR-28-5p, miR-150, miR-223, miR-382	Снижение уровня репликации вируса. Повышение латентности Т-клеток	11
Orthomyxovirus	miR-323, miR-491, miR-485, miR-654, miR-3145	Снижение уровня трансляции белка РВ1 (компонент комплекса РНК-зависимой РНК-полимеразы, необходимый для репликации вирусов)	12
EV71 (Enterovirus)	Let-7c, miR-296-5p, miR-23b	Снижение уровня матричного белка. Снижение репликации вируса, уровня белков VP1 и VP3. Снижение вирусной трансляции и репликации	8, 13, 14

Таблица 2. Результаты оценки изменений в экспрессии клеточных miРНК после инфекции РНК-содержащими вирусами

Вирус	miРНК	Белок-мишень	Фенотипические проявления	Источник
EV71 Enterovirus	↑miR-146a	TRAF6, IRAK1,	Снижение уровня ИНФ α/β	15–17
	↑miR-141	SOS1, eIF4E	Повышение уровня апоптоза	
Денге	↑miR-146a	TRAF6	То же	18
Японского энцефалита	↑miR-146a	TRAF6	Снижение уровня ИНФ α/β	19
Гриппа	↓miR-548ap	NS1-связывающий белок	Снижение уровня апоптоза	20
Хендра	↑miR-146a	RNF11	Повышение уровня репродукции вируса	21

Примечание. RAK1 – интерлейкин 1 рецептор ассоциированная киназа; SOS – фактор 1 обмена гуанина; TRAF6 – рецептор опухоленекротического фактора ассоциированного белком 6; eIF4E – эукариотический фактор регуляции транскрипции; ↑ – повышение, ↓ – снижение уровня соответствующей miРНК.

Механизм действия немодифицированных олигонуклеотидов в качестве антисмысловых олигомеров наглядно демонстрирует изучение свойств микро РНК (miРНК), которые представляют собой некодирующие РНК, регулирующие многие процессы в клетках посредством изменения уровня продуцируемого белка в результате связывания с информационными РНК (mРНК) и влияющие таким образом на эффективность трансляции [3]. miРНК также могут воздействовать на репликацию и патогенез РНК-содержащих вирусов посредством прямого связывания с РНК геномом или в результате вирусиндуцированных изменений в транскрипте хозяина. Прямое связывание miРНК с вирусными геномами ведёт к развитию противовирусного эффекта вследствие селективного давления на miРНК-связывающие участки в пределах вирусного генома. В последние несколько лет возросло число исследований по идентификации miРНК в качестве модулирующего фактора в процессе вирусной инфекции. Исследования miРНК важны для создания эффективных противовирусных препаратов и средств генной терапии [3]. miРНК расположены главным образом в пределах интронов, кодирующих и некодирующих РНК клетки-хозяина. miРНК связываются с соответствующими сайтами связывания в пределах mРНК и вирусных геномов [4].

Сайты связывания miРНК в пределах вирусных геномов обычно расположены в районе 5' и 3' нетранслируемых регионов [5, 6], однако недавно они были выявлены в регионе, кодирующем ви-

русные белки [7, 8]. Увеличение числа сайтов связывания miРНК в пределах вирусного 3'-некодирующего региона с полной комплементарностью хозяйской miРНК приводит к ингибированию репликации вируса *in vitro*. Этот процесс усиливается, когда два сайта связывания miРНК разделяет интервал длиной 15–35 нуклеотидов. miРНК распознают последовательность, включающую 2–8 нуклеотидов расположенных у 5'-конца соответствующей mРНК. Результаты, полученные при связывании miРНК с геномами различных РНК-содержащих вирусов, относящихся к различным семействам, представленные в табл. 1, свидетельствуют о том, что непосредственным результатом связывания miРНК с mРНК различных РНК-содержащих вирусов является снижение уровня трансляции и репликации геномной РНК.

Данные по изменению уровня экспрессии клеточных miРНК после инфекции различными РНК-содержащими вирусами, представленные в табл. 2, свидетельствуют о том, что повышение экспрессии клеточных miРНК после инфекции РНК-содержащими вирусами приводит к снижению уровня ИНФ α/β и повышению уровня апоптоза. Для клеток, инфицированных вирусом Хендра, повышение уровня репликации miРНК (miR-146a), наблюдается на фоне повышения уровня репродукции вируса [21].

Немодифицированные РНК по своей природе в биологических системах являются нестабильными, так как подвергаются воздействию различных рибонуклеаз. Для применения олигонуклеотидов в качестве антисмысловых препара-

тов, необходимо провести их модификацию, нацеленную главным образом на повышение устойчивости к расщеплению нуклеазами, при сохранении возможности комплементарного связывания с РНК-мишенями. Для этих целей используется несколько различных химических методов.

Первое поколение антисмысловых олигомеров содержало фосфоро-тиоатные модификации (замену несвязанного кислорода на серу в фосфодиэфирной связи). Данная замена позволила повысить резистентность олигомера к действию нуклеаз.

Второе поколение антисмысловых олигомеров содержало дальнейшую модификацию нуклеозид рибознофосфатных связей путём включения 2'-О-метила и 2'-О-метоксиэтила. Модифицированные таким образом олигомеры не расщепляются РНК-азой Н.

В настоящее время среди 2'-модификаций наибольшую результативность показывает 2'-О-метоксиэтил (2'МОЕ) модификация [22]. 2'МОЕ повышает температуру плавления нуклеиновой кислоты (2°C на одну замену) и значительно повышает устойчивость к нуклеазам. Также такая замена уменьшает неспецифическое связывание с белками, что может снизить токсичность. Кроме того, 2'МОЕ-олигонуклеотиды могут быть использованы для поддержания разнообразия антисмысловых механизмов. 2'МОЕ-модифицированные олигонуклеотиды являются наиболее эффективными (как *in vitro*, так и в клинических испытаниях) представителями антисмысловых олигомеров второго поколения. Из 2'МОЕ-модифицированных антисмысловых препаратов для проведения клинических испытаний представлены миравирсен RG-101, представляющий собой аGalNAc-конъюгированный 2'-МОЕ-модифицированный олигонуклеотид, предназначенный для лечения пациентов, инфицированных вирусом гепатита С (в настоящее время препарат проходит II фазу клинических испытаний), препараты ARC-520 и ARB-1467 (проходят II фазу клинических испытаний), препарат IONIS-HBV-LRx (проходит I фазу клинических испытаний). Три последних препарата предназначены для лечения инфицированных вирусом гепатита С [22].

Третье поколение олигомеров содержит различные химические модификации, которые повышают стабильность, аффинность и биодоступность. Это фосфородиамидат морфолиновые олигомеры, которые получают заменой рибозы в нуклеозиде морфолиновым кольцом и фосфородиамидных вместо фосфодиэфирных связей.

Новую группу антисмысловых олигомеров представляют интерферирующие РНК, в том числе и малые интерферирующие РНК (siРНК).

Общим недостатком всех антисмысловых олигомеров является их зависимость от вводимой дозы токсичность.

Потенциальную токсичность антисмысловых олигомеров можно разделить на гибридационно-зависимую и гибридационно-независимую. Гибридационно-зависимая токсичность объясняется гибридизацией с РНК, не являющимися мишенями используемых антисмысловых олигомеров. Такую токсичность можно свести к минимуму путём оптимального выбора РНК-мишени на этапе доклинических испытаний. Гибридационно-зависимую токсичность, связанную с воздействием на постороннюю мишень, можно уменьшить в результате выявления мишени с малым числом несовпадающих оснований. Вероятность взаимодействия с посторонними мишенями и расщепления их, в случае активации РНК-азы Н возрастает для более коротких олигонуклеотидов с высокоаффинными модификациями [22].

Данные по свойствам антисмысловых олигомеров различных поколений, представленные в табл. 3, свидетельствуют о том, что антисмысловые олигомеры различных поколений отличаются от немодифицированных олигонуклеотидов химической модификацией и механизмом действия, повышенной стабильностью при введении в макроорганизм и более высокой противовирусной активностью.

При разработке средств экстренной профилактики и лечения опасных и особо опасных вирусных инфекционных заболеваний человека наиболее широкое применение нашли фосфородиамидат морфолиновые олигомеры (РМО) и малые интерферирующие РНК.

РМО, специфичные к генам структурных белков вируса Эбола, ингибировали репродукцию возбудителя *in vitro* (множественность инфицирования БОЕ/клетка) [24]. Результаты, представленные в табл. 4, свидетельствуют о том, что комбинация 3-х РМО не оказывает синергического эффекта на замедлении репродукции вируса в клетках Vero E6 по сравнению с использованием монопрепаратов РМО.

Комбинация РМО, специфичных к генам VP24, VP35 и L, защищала белых мышей и морских свинок, инфицированных вирусом Эбола, при введении по профилактической (до инфицирования) и экстренной профилактики схемам. Хотя грызуны (мыши и морские свинки) не моделируют ВГЛ у человека и низших приматов, эти модели применяют для скрининга новых препаратов, непосредственно воздействующих на репликацию вируса.

При экспериментальной инфекции морских свинок установлена зависимость доли выживших животных от времени введения РМО. При введении за 24 ч до инфицирования 10 мг каждого вида РМО на животное выживаемость составила 17%, через 24 ч и 96 ч после инфицирования, соответственно, 33 и 67%.

Таблица 3. Результаты изучения свойств антисмысловых олигомеров различных поколений [23]

Антисмысловые олигомеры	Пример	Химическая модификация	Механизм действия	Преимущества	Недостатки
Немодифицированные олигонуклеотиды	ДНК	Нет	Расщепление РНК-азы Н	—	Период полураспада в сыворотке крови — 1 ч. Быстрое расщепление в биологических жидкостях нуклеазами
I поколение	Олигомеры фосфоротиоатные	Молекула серы заменяет несвязанный атом кислорода в фосфодиэфирной связи	То же	Увеличение периода полураспада до 9–10 ч. Повышение резистентности к нуклеазам. Сохранение комплементарности. Активация РНК-азы Н	Повышенная токсичность, возникающая вследствие активации каскада комплемента связанных белков. Снижение уровня аффинности
II поколение	2'-0-метил и 2'-0-метоксигетил РНК	Алкильная модификация в 2'-позиции рибозы	Блокирование трансляции	Период полураспада в сыворотке от 6 до 12 ч. Менее токсичны чем фосфоротиоатные олигомеры. Повышенная аффинность к комплементарной РНК	Связывание с белками, такими как гепарин-связывающие белки
III поколение	Фосфородиамидат морфолиновые олигомеры	Неионные ДНК-аналоги с замещением рибозы на морфолиновое кольцо и фосфордиамидатных связей вместо фосфодиэфирных связей	То же	Период полураспада в сыворотке от 1 до 20 ч. Ограниченное связывание с белками сыворотки. Относительно высокая стабильность дуплекса. Резистентность к протеазам и нуклеазам. Не изменяют свертываемость крови. Незначительный иммунный ответ макроорганизма	Ограниченная возможность проникновения в клетки. Не определены эффективные дозы при лечении больных инфекционными заболеваниями
Интерферирующие РНК	Малые интерферирующие РНК	Двухцепочечные РНК	Дегградация комплементарного участка вирусной РНК	Потенциально высокая активность	Трудность введения siРНК в ткани. Чувствительность к нуклеазам. Для лечения людей могут быть необходимы большие дозы

При введении по профилактической схеме (до инфицирования животных) указанные олигомеры защищали 75% (3 из 4) макаков резусов, инфицированных заведомо летальной дозой (1×10^3 БОЕ) вируса Эбола–Заир [25]. При введении комбинации 3-х РМО, специфичных по отношению к генам вирусных белков VP35, VP24 и L вируса Эбола, макакам резус, инфицированным вирусом Эбола (1000 БОЕ на животное) по схеме экстренной профилактики (+1, +3, +4, +6, +8 сутки после инфицирования в дозе 12,5 мг), 50% животных выжили. Средний срок жизни до гибели леченных животных достоверно увеличился по сравнению с контролем (12,5 и 8,3 суток, соответственно).

На специфичность действия РМО, специфичных по отношению к генам структурных белков вируса Эбола, указывает тот факт, что использование РМО, специфичных по отношению к генам структурных белков VP35, VP24 и L вируса Марбург, не оказывало защитного эффекта.

Положительно заряженные фосфородиамидатные морфолиновые олигомеры (РМО plus) являются новой модификацией данного препарата, содержащей пиперазиновые связи в молекулярной структуре. РМО plus, имеющие своей мишенью ген белка VP24, ингибируют трансляцию этого белка *in vitro* и защищают мышей от летальной дозы вируса Эбола. На морских свинках, инфицированных вирусом Эбола, показано, что сочетание РМО plus, специфичных к генам VP35 и VP24 более эффективно по сравнению с РМО plus только к VP24 [24].

Т. К. Warren et al. [24] провели изучение защитной эффективности комбинаций РМО plus к генам VP24 и VP35 вируса Эбола (AVI-6002) и вируса Марбург (AVI-6003) на макаках резус и яванских макаках, инфицированных, соответственно, штаммом Киквит вируса Эбола, и штаммом Мусоке вируса Марбург. Инфицирующая доза составила 1000 БОЕ на животное. Препараты AVI-6002 и AVI-6003 вводили через 30–60 мин после инфицирования. Результаты, приведённые в табл. 5, свидетельствуют, что препараты AVI-6002 и AVI-6003 оказывают специфическое защитное действие. (РМО plus) при введении в различных дозах спустя 30–60 мин после инфицирования, защищают > 60% (5/8) макаков

Таблица 4. Результаты оценки вирусингибирующей активности РМО, специфичных к генам структурных белков вируса Эбола [24]

Вид РМО	Концентрация РМО мкМ	Ингибирование роста вируса по отношению к контролю (без внесения препаратов), процент на время п. и.		
		24 ч	48 ч	72 ч
РМО VP24	20	73	50	80
РМО VP35		90	40	60
РМО L		80	60	55
Комбинация из 3-х РМО	по 20 каждого	88	70	60

Таблица 5. Результаты изучения защитной эффективности комбинаций РМО plus к генам VP24 и VP35 вирусов Эбола и Марбург [24]

Животные	Вирус	AVI-6002	AVI-6003
		Доза мг/кг (выживание п/Н)	Доза мг/кг (выживание п/Н)
Макаки резус	Эбола	4 (0/4)	—
		16 (1/4)	—
		28 (3/5)	—
		40 (3/5)	40 (4/4)
Яванские макаки	Марбург	7,5 (3/5)	—
		15 (3/5)	—
		30 (4/4)	30 (4/4)

резусов от летальной дозы вируса Эбола—Заир и 100% яванских макаков от летальной дозы вируса Марбург. РМО plus могут быть рекомендованы для экстренной профилактики заболеваний вызванных этими и другими высокопатогенными вирусами [24].

Наиболее перспективным видом антисмысловых олигомеров для использования при лечении вирусных инфекционных заболеваний являются siРНК.

Исследования по оценке защитной эффективности siРНК на низших приматах впервые были проведены в 2007 г. Т. Yokota et al. [26] показали эффективность siРНК при ингибировании репликации вируса гепатита В в организме инфицированных мармозеток. В более поздней работе установлено, что siРНК, специфичные по отношению к коронавирусу — возбудителю SARS, ингибировали репликацию вируса в макаках резус [27].

Т.W. Geisbert et al. [28] провели изучение защитной эффективности siРНК к фрагментам генов белков L, VP35 и VP24 вируса Эбола.

Комбинация модифицированных siРНК, специфичных по отношению к генам указанных белков, была использована в экспериментах на макаках резус, инфицированных штаммом Заир вируса Эбола. Препарат вводили внутривенно в дозе 2 мг/кг. Одной группе животных ($n=3$) препарат вводили по схеме + 30 мин, +1 сутки, +3 суток, +5 суток после инфицирования. Второй группе животных ($n=4$) препарат вводили по схеме +30 мин, + 1 сут., + 2 сут., + 3 сут., + 4 сут., + 5 сут., + 6 сут. после инфицирования. В первой группе выживаемость составила 67% (2/3), во второй — 100% (4/4).

Наиболее эффективным способом введения siРНК в макроорганизм является их использование в составе липидных наночастиц.

Е. Р. Thi et al [29] использовали для конструирования siРНК вектор psiCHECK2 (Promega). Были приготовлены плазмиды, содержащие вставки генов VP35 и L штамма Макона размером 201 пара нуклеотидных остатков (позиции генома 3817-4018 и 17287-17488, соответственно). Указанные последовательности вставляли в 3' не-транслируемый регион гена Rlu9 вектора psiCHECK2 между сайтами рестрикции XhoI и NotI. siРНК, специфичные к участкам генов L и VP35 синтезировали с помощью интеграционной ДНК-технологии. Дуплексы siРНК в молекулярном соотношении 1:1 были инкапсулированы в липидные частицы методом спонтанного образования везикул [13]. В качестве отрицательного контроля использовали siРНК, специфичные к РНК вируса Марбург, инкапсулированные в липидные наночастицы.

Шесть взрослых макаков резус (масса 4–8 кг, 3 самца и 3 самки) были внутримышечно инфицированы вирусом Эбола—Заир, штамм Макона, в дозе 1000 БОЕ. Животные были распределены случайным образом на опытную и контрольную группы. Животным вводили siРНК в дозе 5 мг/кг спустя 72 ч и затем на 4–9 сут. после инфицирования ежедневно. Все животные опытной группы выжили, контрольной погибли.

Следовательно, было установлено, что липидные наночастицы, содержащие siРНК, специфичные к вирусу Эбола штамм Макона, обеспечивают 100% защиту макаков резусов при введении через 3 сут. после заражения, когда у животных уже была зарегистрирована вирусемия и клинические признаки заболевания. Хотя у всех инфицированных животных развилось заболевание с гематолитическими нарушениями, у животных, которым была введена siРНК, отклонения от нормы были выражены в меньшей степени. По-

лученные данные позволили рекомендовать siРНК как средство лечения заболевания, вызванного вирусом Эбола (ЗВВЭ) у человека.

J. Dunning et al. [30] провели изучение защитной эффективности липидных наночастиц ТКМ-130803, содержащих siРНК к фрагментам генов белков VP35 и L.

ТКМ-130803 представляет собой модификацию препарата ТКМ-100802, в котором компонент siРНК содержал 2 нуклеотидные замены в гене белка VP35 и одну замену в гене белка L, проведенные с целью максимальной адаптации препарата к штамму Макона вируса Эбола–Заир, выделенному в ходе вспышки 2014–2016 гг. в Западной Африке.

При проведении испытаний на низших приматах была зарегистрирована 100% защита от гибели при дозе 5 мг/кг/сут. препарата ТКМ-100802, и 66% защита при дозе 0,2 мг/кг/сутки.

Во время проведения фазы II клинических испытаний 14 больным с лабораторно-подтвержденным диагнозом ЗВВЭ ежедневно в течение 7 сут. вводили внутривенно ТКМ-130803. Препарат вводили в дозе 0,3 мг/кг/день в течение 7 сут. внутривенно со скоростью 1,25 мл/мин в течение 2 ч. Общий объем вводимого препарата составил 150 мл. Побочные реакции на введение препарата наблюдали только у одного больного. Двое из больных погибли в течение 48 ч после госпитализации и были исключены из опытной группы. Средний уровень вирусемии у оставшихся 12 больных составлял $2,24 \times 10^9$ копий РНК/мл ($J_{95} = 7,52 \times 10^8 - 6,66 \times 10^9$).

Из оставшихся 12 больных 9 погибло и 3 выжило. Рассчитано, что вероятность того, что больные, получающие ТКМ-130803, выжившие через 2–е суток после госпитализации, доживут до 14 дня, составляет 0,27 ($J_{95} = 0,06 - 0,58$). Для того, чтобы препарат мог считаться перспективным кандидатом как лечебное средство, данный показатель должен превышать 0,55.

ЛИТЕРАТУРА

- Stephenson M.L., Zamecnik P.C. Inhibition of Rous sarcoma viral RNA translation by a specific oligodeoxynucleotide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1978; 75 (1): 285–288. PMID: PMC411231.
- Zamecnik P.C., Stephenson M.L. Inhibition of Rous sarcoma virus replication and cell transformation by a specific oligodeoxynucleotide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1978; 75 (1): 280–284. PMID: PMC411230.
- Trobaugh D.W., Klimstra W.B. MicroRNA Regulation of RNA Virus Replication and Pathogenesis. *Trends Mol Med* 2017; 23 (1): 80–93. doi: 10.1016/j.molmed.2016.11.003.
- Teterina N.L., Liu G., Maximova O.A., Pletnev A.G. Silencing of neurotropic flavivirus replication in the central nervous system by combining multiple microRNA target insertions in two distinct viral genome regions. *Virology* 2014; 456: 247–258. doi: 10.1016/j.virol.2014.04.001.
- Jopling C.L., Yi M., Lancaster A.M., Lemon S.M., Sarnow P. Modulation of hepatitis C virus RNA abundance by a liver-specific MicroRNA. *Science*. 2005; 309(5740): 1577–1581. doi: 10.1126/science.1113329.
- Trobaugh D.W., Gardner C.L., Sun C., Haddow A.D., Wang E., Chapnik E. et al. RNA viruses can hijack vertebrate microRNAs to suppress innate immunity. *Nature* 2014; 506 (7487): 245–248. doi: 10.1038/nature12869.

Таким образом, введение препарата ТКМ-130803 не оказало достоверного эффекта на выживаемость больных с диагнозом ЗВВЭ. Вероятно, это может быть объяснено сроками первого введения препарата, который может быть неэффективен, если у больного отмечен высокий уровень вирусемии. Данные по оценке эффективности в ходе клинических испытаний противоречат данным доклинических испытаний на низших приматах. Однако сравнение уровня вирусемии у низших приматов ($\sim 1 \times 10^6$ копий РНК/мл), для которых введение ТКМ-100802 обеспечило 100% выживание, с уровнем вирусемии больных при проведении клинических испытаний ($\sim 2 \times 10^9$ копий РНК/мл) даёт объяснение возможных причин несоответствия результатов клинических и доклинических испытаний. Возможно, что применение антисмысловых олигонуклеотидов в лечебных целях может быть наиболее эффективным в сочетании с использованием других специфических и неспецифических средств медицинской защиты, характеризующихся иной по сравнению с антисмысловыми олигонуклеотидами направленностью действия [31].

Для профилактики и лечения опасных и особо опасных инфекционных заболеваний в настоящее время разрабатывают различные классы препаратов на основе антисмысловых олигонуклеотидов. Разработанные модификации олигонуклеотидов улучшают эффективность и переносимость антисмысловых препаратов, а также улучшают распределение препарата в тканях и, в конечном итоге, способствуют его поступлению к РНК-мишени внутри клетки. Дальнейшее усовершенствование препаратов на основе антисмысловых олигонуклеотидов можно обеспечить путём улучшения структуры последних, более полного скрининга и поиска новых химических модификаций и лекарственных форм.

- Song L., Liu H., Gao S., Jiang W., Huang W. Cellular microRNAs inhibit replication of the H1N1 influenza A virus in infected cells. *J Virol* 2010; 84 (17): 8849–8860. doi: 10.1128/JVI.00456-10.
- Zheng Z., Ke X., Wang M., He S., Li Q., Zheng C. et al. Human microRNA hsa-miR-296-5p suppresses enterovirus 71 replication by targeting the viral genome. *J Virol* 2013; 87 (10): 5645–5656. doi: 10.1128/JVI.02655-12.
- Lecellier C.H., Dunoyer P., Arar K., Lehmann-Che J., Eyquem S., Himber C. et al. A cellular microRNA mediates antiviral defense in human cells. *Science* 2005; 308 (5721): 557–560. doi: 10.1126/science.1108784.
- Bai X.T., Nicot C. miR-28-3p is a cellular restriction factor that inhibits human T cell leukemia virus, type 1 (HTLV-1) replication and virus infection. *J Biol Chem* 2015; 290 (9): 5381–5390. doi: 10.1074/jbc.M114.626325.
- Huang J., Wang F., Argyris E., Chen K., Liang Z., Tian H. et al. Cellular microRNAs contribute to HIV-1 latency in resting primary CD4+ T lymphocytes. *Nat Med* 2007; 13 (10): 1241–1247. doi: 10.1038/nm1639.
- Ingle H., Kumar S., Raut A.A., Mishra A., Kulkarni D.D., Kameyama T. et al. The microRNA miR-485 targets host and influenza virus transcripts to regulate antiviral immunity and restrict viral replication. *Sci Signal* 2015; 8 (406): 1–13. doi: 10.1126/scisignal.aab3183.
- Ma Y.J., Yang J., Fan X.L., Zhao H.B., Hu W., Li Z.P. et al. Cellular microRNA let-7c inhibits M1 protein expression of the H1N1 influenza

- A virus in infected human lung epithelial cells. *J Cell Mol Med* 2012; 16 (10): 2539–2546. doi: 10.1111/j.1582-4934.2012.01572.x.
14. Wen B.P., Dai H.J., Yang Y.H., Zhuang Y., Sheng R. MicroRNA-23b inhibits enterovirus 71 replication through downregulation of EV71 VP1 protein. *Intervirology* 2013; 56 (3): 195–200. doi: 10.1159/000348504.
 15. Ho B.C., Yu I.S., Lu L.F., Rudensky A., Chen H.Y., Tsai C.W. et al. Inhibition of miR-146a prevents enterovirus-induced death by restoring the production of type I interferon. *Nat Commun* 2014; 5: 3344. doi: 10.1038/ncomms4344.
 16. Chang Y.L., Ho B.C., Sher S., Yu S.L., Yang P.C. miR-146a and miR-370 coordinate enterovirus 71-induced cell apoptosis through targeting SOS1 and GADD45?. *Cell Microbiol* 2015; 17 (6): 802–818. doi: 10.1111/cmi.12401.
 17. Ho B.C., Yu S.L., Chen J.J., Chang S.Y., Yan B.S., Hong Q.S. et al. Enterovirus-induced miR-141 contributes to shutoff of host protein translation by targeting the translation initiation factor eIF4E. *Cell Host Microbe* 2011; 9 (1): 58–69. doi: 10.1016/j.chom.2010.12.001.
 18. Wu S., He L., Li Y., Wang T., Feng L., Jiang L. et al. miR-146a facilitates replication of dengue virus by dampening interferon induction by targeting TRAF6. *J Infect* 2013; 67 (4): 329–341. doi: 10.1016/j.jinf.2013.05.003.
 19. Sharma N., Verma R., Kumawat K.L., Basu A., Singh S.K. miR-146a suppresses cellular immune response during Japanese encephalitis virus JaOArS982 strain infection in human microglial cells. *J Neuroinflammation* 2015; 12: 30. doi: 10.1186/s12974-015-0249-0.
 20. Othumpangat S., Noti J.D., Blachere F.M., Beezhold D.H. Expression of non-structural-1A binding protein in lung epithelial cells is modulated by miRNA-548an on exposure to influenza A virus. *Virology* 2013; 447 (1–2): 84–94. doi: 10.1016/j.virol.2013.08.031.
 21. Stewart C.R., Marsh G.A., Jenkins K.A., Gantier M.P., Tizard M.L., Middleton D. et al. Promotion of Hendra virus replication by microRNA 146a. *Virology* 2013; 87 (7): 3782–3791. doi: 10.1128/jvi.01342-12.
 22. Bennett C.F., Baker B.F., Pham N., Swayze E., Geary R.S. Pharmacology of Antisense Drugs. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 2017; 57: 81–105. doi: 10.1146/annurev-pharmtox-010716-104846.
 23. Warfield K.L., Panchal R.G., Aman M.J., Bavari S. Antisense treatments for biothreat agents. *Curr Opin Mol Ther* 2006; 8(2): 93–103. PMID: 16610760.
 24. Warren T.K., Warfield K.L., Wells J., Swenson D.L., Donner K.S., Van Tongeren S.A. et al. Advanced antisense therapies for postexposure protection against lethal filovirus infections. *Nat Med* 2010; 16 (9): 991–994. doi: 10.1038/nm.2202.
 25. Warfield K.L., Swenson D.L., Olinger G.G., Nichols D.K., Pratt W.D., Blouch R. et al. Gene-specific countermeasures against Ebola virus based on antisense phosphorodiamidate morpholino oligomers. *PLoS Pathog* 2006; 2 (1): 5–13. doi: 10.1371/journal.ppat.0020001.
 26. Yokota T., Iijima S., Kubodera T., Ishii K., Katakai Y., Ageyama N. et al. Efficient regulation of viral replication by siRNA in a non-human primate surrogate model for hepatitis C. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 361 (2): 294–300. doi: 10.1016/j.bbrc.2007.06.182.
 27. International Society for Infectious Diseases. Ebola, lab accident death - Russia (Siberia) [serial online] 2010 April [cited 2017 Aug 29]. Available from: URL: http://www.promedmail.org/pls/apex/f?p=2400:1001::NO::F2400_P1001_BACK_PAGE,F2400_P1001_PUB_MAIL_ID:1000%2C25465.
 28. Geisbert T.W., Lee A.C., Robbins M., Geisbert J.B., Honko A.N., Sood V. et al. Postexposure protection of non-human primates against a lethal Ebola virus challenge with RNA interference: a proof-of-concept study. *Lancet* 2010; 375 (9729): 1896–1905. doi: 10.1016/S0140-6736(10)60357-1.
 29. Thi E.P., Mire C.E., Lee A.C.H., Geisbert J.B., Zhou J.Z., Agans K.N. et al. Lipid nanoparticle siRNA treatment of Ebola virus Makona infected primates. *Nature* 2015; 521 (7552): 362–365. doi: 10.1038/nature14442.
 30. Dunning J., Sahr F., Rojek A., Gannon F., Carson G., Idriss B. et al. Experimental Treatment of Ebola Virus Disease with TKM-130803: A Single-Arm Phase 2 Clinical Trial. *PLoS Med* 2016; 13 (4): 1–19. doi: 10.1371/journal.pmed.1001997.
 31. Uyeki T.M., Mehta A.K., Davey R.T., Liddell A.M., Wolf T., Vetter P. et al. Clinical Management of Ebola Virus Disease in the United States and Europe. *N Engl J Med* 2016; 374 (7): 636–646. doi: 10.1056/NEJMoal504874.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Петров Александр Анатольевич — к. м. н., начальник отдела, Федеральное государственное бюджетное учреждение «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации, Сергиев Посад

Лебедев Виталий Николаевич — д. б. н., профессор, ведущий научный сотрудник, Федеральное государственное бюджетное учреждение «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации, Сергиев Посад

Сизикова Татьяна Евгеньевна — к. б. н., научный сотрудник, Федеральное государственное бюджетное учреждение

«48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации, Сергиев Посад

Плеханова Тамара Михайловна — к. б. н., старший научный сотрудник, Федеральное государственное бюджетное учреждение «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации, Сергиев Посад

Борисевич Сергей Владимирович — д. б. н., профессор, член-корр. РАН, начальник института, Федеральное государственное бюджетное учреждение «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации, Сергиев Посад

Митохондриальная дисфункция как проблема критических состояний. Роль сукцинатов. Миф или реальность завтрашнего дня?

Ю. П. ОРЛОВ

Омский государственный медицинский университет МЗ РФ, Омск

Mitochondrial Dysfunction as a Problem in Critically Ill Patients. The Role of Succinates: Myth or Tomorrow's Reality?

YU. P. ORLOV

Omsk State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Omsk

В обзоре приведены данные о роли сукцинатов при гипоксии критических состояний, их механизмах действия на клеточном уровне и месте в схемах терапии. Перечислены имеющиеся точки зрения о влиянии сукцинатов на воспалительные процессы. В заключении указывается, что для получения максимального положительного эффекта сукцинаты необходимо вводить своевременно (в период ранней адаптации к гипоксии), в соответствующих дозах и создавать им условия для выполнения поставленной задачи — устранение митохондриальной дисфункции и восстановление окислительного фосфорилирования.

Ключевые слова: гипоксия, воспаление, сукцинаты, механизм действия, цитопroteкция.

The review presents data on the role of succinates in critically ill patients with hypoxia, the mechanisms of action of succinates at the cellular level, and their place in the treatment regimens. The different points of view on the effect of succinates on inflammatory processes are listed. In conclusion, it is indicated that succinates should be administered in a timely manner (during the period of early adaptation to hypoxia) and in appropriate doses in order to obtain their maximum positive effect; the conditions should be created for them to accomplish the set task — elimination of mitochondrial dysfunction and restoration of oxidative phosphorylation.

Keywords: hypoxia, inflammation, succinates, mechanism of action, cytoprotection.

Введение

На сегодняшний день публикации о роли сукцинатов при гипоксии критических состояний вызывают у читателя лишь ухмылку и скепсис, хотя по этой проблеме в отечественной литературе можно найти уже сотни публикаций. Часто оппоненты указывают, что в (авторитетной!) зарубежной медицинской периодике этой теме не уделяют должного внимания. Но это далеко не так.

О дисфункции митохондрий в условиях гипоксии, сукцинатах и о их связи с критическими состояниями говорится уже давно, а количество публикаций насчитывает несколько тысяч. Они касаются роли митохондриальной дисфункции при сепсисе, при других органных дисфункциях и полиорганной недостаточности различной патологии. Большое количество работ по этой теме не позволяет коснуться каждой, но на тех, которые касаются критических состояний и где прямо

указывается на существенную роль сукцинатов, стоит остановиться.

Критические состояния и полиорганная недостаточность (ПОН) являются спутниками практически всех пациентов в отделениях реанимации и интенсивной терапии. Именно эти состояния, которые на сегодняшний день рассматриваются как декомпенсация дыхания, гемодинамики и ЦНС, как руководящего органа, печени, кишечника и почек, требуют интенсивного вклада высокотехнологичных, дорогостоящих лечебных методик (проведение ИВЛ, диализных, сорбционных методов), направленных на протезирование и поддержание витальных функций, но которые по своей сути являются агрессивными. Более того, в большинстве случаев использование всех этих методов не позволяет справиться с тяжёлыми органными расстройствами, которые при внимательном рассмотрении являются «верхушкой айсберга» или следствием уже глубоких метаболических проблем на уровне тканей. Ведь расстройства органа начинаются с расстройств в каком-то локальном сегменте, на каком-то уровне клеточной массы. Накопление «воспалитель-

© Ю. П. Орлов, 2019

Адрес для корреспонденции: 644099 СФО, Омск, ул. Ленина, 12. ОмГМУ

ного коэффициента» приводит к появлению у пациента жалоб и клинической картины, которая зависит от имеющегося уровня индивидуальных компенсаторных возможностей, реализующихся сначала на уровне клетки, клеточной массы и только потом органа и организма в целом.

От фактов «отмахнуться» нельзя

Таким образом, стартовая терапия должна учитывать степень имеющихся повреждений и представлять собой «последовательный ремонт», который начинается с восстановления условий для нормального функционирования клетки, клеточной массы и органа в целом. Логическая цепь лечебных мероприятий должна учитывать причинно-следственную связь, платформой для которой должно являться понимание кислородной зависимости каждой клеточной единицы. Нет кислорода, нет энергии, нет и функции клетки, органа, но ключевым моментом клеточных расстройств всегда является дефицит энергии, которая не усвоится без кислорода, а кислород не усвоится без энергии, рождение которой зависит от состояния функционирования митохондрий и, в первую очередь, от работы транспортной цепи цитохромов. «...Ион водорода по цепочке цитохромов, как мяч по цепочке баскетболистов, передающих его друг к другу, неумолимо приближается к корзине — этой корзиной, т. е. последним веществом, на которое пересаживается электрон, является кислород», как красиво написал С. Роуз (1969) в своей книге «Химия жизни». Английский учёный Стивен Роуз, специалист по биохимии мозга, считал наиболее фундаментальной научной проблемой решение вопроса, что такое жизнь. «Пытаться получить ответ на этот вопрос, можно лишь овладев огромнейшей суммой человеческих знаний и прежде всего — биохимией» [1].

Любая клетка — это совершенно самостоятельное предприятие, которое из поступающих извне сырья и энергии вырабатывает собственное сырьё и энергию. Кроме того, клетка способна к самовоспроизводству, в то время, как ни одно современное предприятие не может только собственными силами произвести себе подобное. Именно энергия в лице АТФ, синтезируемого митохондриями при непосредственном участии кислорода, является тем единственным субстратом для самовоспроизводства клетки. АТФ не синтезируется вне цикла Кребса. АТФ не синтезируется без кислорода. Кислород не усвоится без энергетического эквивалента. Это единый жизненный цикл и спорить с этим постулатом на пороге XXI века уже неприлично.

На сегодняшний день установлено, что реализация срочной адаптации (которая длится от нескольких часов до нескольких суток) к гипоксии

осуществляются только за счёт мобилизации энергоресурсов: их централизации, интенсификации катаболизма углеводов, жиров и белков, а также подавления анаболических процессов в тканях [2]. Например, при тяжёлом шоке эти процессы не могут в полной мере компенсировать снижение общей энергопродукции и теплопродукции, что влечёт за собой развитие гипотермии, последнего защитного механизма [3]. Раньше считали, что аэробный синтез энергии является мишенью для гипоксии за счёт кинетических особенностей цитохромоксидазы (ЦХО), т. е. причина энергодифицита кроется в терминальном звене дыхательной цепи [4]. Но сегодня уже доказано, что «...причиной снижения синтеза энергии при гипоксии являются изменения активности митохондриальных ферментов на субстратном (II) участке дыхательной цепи, где ведущую роль играет HIF-1 (гипоксия-индуцированный фактор), синтез которой начинается по сигналу от сукцинат-зависимого рецептора GPR91 [3–5]. По мнению авторитетного исследователя в области гипоксии Л. Д. Лукьяновой «ключевым моментом в развитии гипоксии всегда является нарушение субстратного звена в дыхательной цепи митохондрий, а именно дефицит сукцината» [2].

Сукцинат и воспаление

В конце XX столетия работами F. N. Gellerich (1999) было подтверждено мнение о том, что в септических органах биоэнергетический провал вызван не из-за недостаточного снабжения кислородом, а обусловлен нарушениями функций митохондрий, где кислород усваивается для синтеза энергии. Поэтому целью указанного исследования было изучение вопроса, какие же ферменты энергетического обмена являются ключевыми и имеют преимущество в развитии митохондриальной дисфункции в миокарде у экспериментальных животных в условиях сепсиса. Чтобы ответить на вопрос, авторы использовали модель сепсиса у бабуинов, которым под общим наркозом внутрибрюшинно вводили взвесь *Escherichia coli*. После развития септического шока исследовали нарушение глутамат- и сукцинат-зависимых митохондриальных дыхательных контрольных соотношений (RCR) в печени [6]. В более поздних работах авторы аналогично отмечают, что максимальная выработка АТФ было нарушена только в сукцинат-зависимом дыхании, то есть на субстратном (II) участке дыхательной цепи [7].

В экспериментальных работах A. Rudiger, M. Singer (2004, 2007, 2013) отмечено, что у животных с тяжёлым сепсисом в присутствии глутамата в сочетании с малатом потребление кислорода в мышечной ткани было аномально низким,

в отличие от группы с невыраженным сепсисом и с группой контроля ($p < 0,01$). Но дополнение сукцината приводило к повышению митохондриального дыхания во всех группах животных, особенно в группе с тяжёлым сепсисом (на $39 \pm 6\%$ больше по сравнению с группой банального сепсиса ($11 \pm 5\%$; $p < 0,01$) и группой контроля ($10 \pm 5\%$; при $p < 0,01$) [8–10]. Но в данном случае эта ситуация характерная не только исключительно для сепсиса. Так, по данным W. I. Sivitz (2011), сочетание мелатонина и сукцината в программе терапии при экспериментальном сахарном диабете у крыс уменьшает митохондриальную дисфункцию в клетках печени [11]. Почему, возникает вопрос?

Оказывается дело в том, заявляют в своей работе A. Protti, J. Carré, M. T. Frost, V. Taylor и соавт. [12], что сукцинат увеличивает митохондриальное потребление кислорода в скелетных мышцах септических животных, минуя преобладающее торможение, происходящее в I комплексе дыхательной цепи. В этой работе авторы оценивали действие глутамата и малата (как активаторов I комплекса) и сукцината (субстрата II комплекса) на степень митохондриального дыхания через 48 ч у животных с каловым перитонитом. В присутствии глутамата и малата, митохондриальное потребление кислорода в мышечной ткани было аномально низким по сравнению с контролем ($p < 0,01$). Но на дополнение в лечении сукцинатом митохондриальное дыхание увеличилось во всех группах, особенно сильно у септического животного (39% по сравнению с контролем (11% при $p < 0,01$) [12].

Закономерен вопрос: а в других тканях эти процессы идут по-другому, если мы утверждаем, что гипоксия это типовой патологический процесс? Нет, аналогично. Все дело в том, что при гипоксии дыхательная цепь митохондрий не может принять на себя водород от какого-либо иного субстрата, кроме как от молекулы янтарной кислоты. Дело в том, что при окислении янтарной кислоты водород поступает на значительно более близкий к кислороду участок дыхательной цепи [13]. Организму так удобно и экономно в энергетическом плане, это некий вариант «монополизма дыхательной цепи».

В недавнем исследовании S. P. Whelan (2014) отмечено, что при сепсисе метаболические расстройства и повышение анаэробного дыхания происходили ещё до значительных сдвигов в гемодинамике. Авторы делают вывод, что метаболические реакции в клетках и органах, в целом, могут быть важными адаптивными ответными мерами для предотвращения развития полиорганной недостаточности и смерти [14]. Это ещё раз доказывает факт, что период ранней адаптации к гипоксии предшествует ге-

модинамическим расстройствам и устранять митохондриальную дисфункцию нужно до гемодинамической катастрофы или в ранние сроки после таковой.

Как известно, чрезмерный системный воспалительный ответ в течение тяжёлого острого панкреатита приводит к нескольким органным дисфункциям, что является основной причиной смерти. Это опять же может быть связано с митохондриальными нарушениями. В ходе создания экспериментального острого панкреатита было отмечено, что такие жизненно важные органы, как почки, лёгкие и печень подвержены нарушениям митохондриального энергетического обмена уже в течение первых 48 ч [15] и играют важную роль в развитии и прогрессировании острого панкреатита с выходом в панкреонекроз.

Недавние исследования показали, что наиболее распространённым фактором повреждения митохондрий с последующим кризисом биоэнергетики при остром панкреатите является истощение синтеза АТФ в обоих типах клеток, что вызывает манифестацию воспаления [16].

В авторитетном журнале «Nature» указывается факт индуцирования сукцинатом липополисахарида. Это приводит к стабилизации гипоксия-индуцируемого фактора-1A, который препятствует синтезированию интерлейкина-1 β . Авторы идентифицируют сукцинат в качестве основного метаболита сигнализации врождённой иммунной системы, которая повышает производство интерлейкина-1 β во время воспаления [3]. J. M. Tannahill и соавт. считают, что макрофаги накапливают сукцинат (промежуточный метаболит в цикле трикарбоновых кислот), чем стабилизируют транскрипцию фактора HIF-1A, который, в свою очередь, приводят к активации провоспалительных цитокинов, таких как ИЛ-1B [3].

Сукцинат и цитопротекция на фоне природной адаптации к гипоксии

Изучение механизмов нейропротективного эффекта ишемического посткондиционирования сегодня считается также перспективным направлением, что позволит разработать эффективные нейропротекторы нового класса. Как известно, ишемия–реперфузия приводит к сдвигам энергетического метаболизма клетки, которые могут выражаться в виде митохондриальной дисфункции и изменений активности митохондриальных ферментов. Роль сукцинатдегидрогеназы (СДГ) в формировании толерантности головного мозга к реперфузионному повреждению при применении ишемического посткондиционирования с различной чувствительностью к ишемии–реперфузии в различ-

ных областях головного мозга также остается неизученной.

В исследовании отечественных авторов Н. С. Щербак, М. М. Галагудза, Г. Ю. Юкина и др. [17] ишемию головного мозга моделировали двусторонней окклюзией общих сонных артерий на 7 мин. Ишемическое посткондиционирование было представлено в виде 3 эпизодов по 15 с / 15 с реперфузии/реокклюзии после ишемии. Через 48 ч реперфузии проводили морфометрическую оценку всех полей гиппокампа, где исследовали активность СДГ. Результаты показали, что ишемия приводила к значимому ($p < 0,05$) уменьшению плотности жизнеспособных нейронов по сравнению с группой ложнооперированных животных. Активность СДГ при ишемии увеличивалась ($p < 0,05$) в сохранивших жизнеспособность нейронах всех полей гиппокампа. Применение ишемического посткондиционирования приводило к значимому ($p < 0,05$) увеличению плотности жизнеспособных нейронов и к уменьшению ($p < 0,05$) активности СДГ в нейронах всех полей гиппокампа при сравнении с группой ишемии. При этом степень понижения зависела от локализации нейронов относительно поля гиппокампа. Таким образом, авторы делают вывод, что ингибирование активности СДГ является одним из возможных механизмов нейропротективного эффекта ишемического посткондиционирования для нейронов гиппокампа у экспериментальных животных (монгольских песчанок) при ишемическом и реперфузионном повреждении головного мозга [17].

Другими словами, в ответ на гипоксию при ишемии, срабатывает механизм срочной адаптации с характерным уменьшением сукцината (как субстрата для фермента), концентрация которого, напротив, увеличивается. Периоды ишемического посткондиционирования являются по своей сути механизмом аварийного включения анаэробного гликолиза с попыткой компенсаторного синтеза сукцината в цикле трикарбоновых кислот для деятельности СДГ и продолжения бесперебойного синтеза АТФ. Великий биохимик Б. Кребс в далеком 1953 г. написал, «что уникальная функция сукцинатдегидрогеназы заключается в том, что в условиях напряжения механизмов синтеза АТФ (гипоксия, различные стрессорные воздействия), когда другие окислительные процессы цикла Кребса угнетены, сукцинатдегидрогеназа активно пропускает поток протонов и электронов на дыхательную цепь, минуя НАД-зависимое звено. Это имеет огромный физиологический смысл в плане адаптации к гипоксии на уровне клетки». Нужно только обеспечить этот фермент субстратом, ведь чем быстрее и глубже развивается гипоксия, тем быстрее тратится сукцинат, а фермент нельзя оставлять без «работы», об этом уже говорилось.

От теории к практике

R. M. Leach, H. M. Hill, V. A. Snetkov (2001) в своём также экспериментальном исследовании подтверждают высказанное мнение о эффективности при гипоксии своевременного использования сукцината с целью адаптации к гипоксии, но использовать сукцинат нужно в первые 3—5 сут. после проявления гипоксического воздействия, а может быть и раньше [18]. Безусловно, своевременность введения сукцината не вызывает сомнения, но на одну особенность H.F. Galley (2010) и M. Éverton Andrades, A. Morina, S. Spasić (2011) указывают с должным обоснованием. По мнению авторов указанных исследований, важно принимать во внимание высокую реакционную способность активных форм кислорода, их короткий срок службы, их непрерывное производство в непосредственной близости от биологических мишеней, а также их способность превращаться в другие, более активные формы. Поэтому, для того, чтобы справиться с этими вредными метаболитами, антиоксидант следует вводить в организм рано, непрерывно, в высоких концентрациях, которые должны быть направлены на биологический сайт, подверженный окислительному повреждению [19, 20].

Факт необходимости адекватной дозы сукцината подчёркивается в недавнем исследовании X. L. Tang и соавт. (2013), где авторы отмечают, что янтарная кислота в концентрации 400 мг/л может путём активации фосфорилирования заметно увеличивать (при $p < 0,05$) экспрессию белка кардиомиоцитов и тем самым ингибировать некроз и апоптоз, вызванный гипоксией и реоксигенацией [21].

В другой интересной и не старой публикации D. Namel и соавт. (2014) [22] указывают на факт быстрого возрастания в тканях количества сукцината при экспериментальной ишемии и гипоксии на фоне черепно-мозговой травмы, который оказывает свои положительные биологические эффекты через специфический рецептор сукцинат/GPR91. Авторы постулируют, что сукцинат/GPR91 усиливает постишемическую васкуляризацию и уменьшает размер инфаркта в модели черепно-мозговой травмы [22]. В данном аспекте следует отметить, что на сегодняшний день поиск взаимодействия между иммунитетом, воспалением и метаболическими изменениями является наиболее развивающейся областью медицинских исследований. Исследования в указанном направлении свидетельствуют, что такие метаболиты, как NAD(+) и сукцинат (регулирующий гипоксия-индуцируемый фактор 1A) — это сигналы, которые влияют на регуляцию врождённого иммунитета [23]. Другие исследования [9] подчёркивают, что авансы будущих успехов в лечении сепсиса могут исходить именно от метабо-

лических вмешательств с помощью таких веществ, как пируват, сукцинат.

В чём суть неэффективного использования сукцинатов в практическом здравоохранении, ведь в экспериментах всё прекрасно? Трудно заподозрить, что у экспериментальных кислородозависимых животных существуют другие механизмы тканевого дыхания при гипоксии [24]. В большей степени неудачи связаны с несвоевременностью назначения сукцинатов. По данным А. А. Qutub (2007), механизмы деградации HIF-1 в условиях хронической гипоксии или в условиях завершения срочной адаптации к гипоксии — это снижение окислительной способности, увеличение продукции свободных радикалов, мутация ферментов дыхательной цепи, т.к. сукцинат не участвует в формировании долгосрочных механизмов адаптации [25]. В недавней работе А. С. Ariza (2012) указываются механизмы, которые способствуют тому, что гипоксия и ацидоз в завершении срочной адаптации могут повлиять на нормальное функционирование цикла трикарбоновых кислот и побудить часть цикла, возвращаться в обратном направлении [26].

ЛИТЕРАТУРА

1. Роуз С. Химия жизни.: Издательство: Мир. — 1969. — 310 с. / Rouz S. Khimiya zhizni.: Izdatelstvo: Mir. 1969; 310. [in Russian]
2. Лукьянова Л.Д. Современные проблемы адаптации к гипоксии. Сигнальные механизмы и их роль в системной регуляции. Пат. физиол. — 2011. — № 1. — С. 3—19. / Lukyanova L.D. Sovremennyye problemy adaptatsii k gipoksii. Signalnye mekhanizmy i ikh rol v sistemnoy regulatsii. Pat fiziol 2011; 1: 3—19. [in Russian]
3. Tannahill G.M., Curtis A.M., Adamik J., Palsson-McDermott E.M. et al. Succinate is an inflammatory signal that induces IL-1 β through HIF-1 α Nature 2013 Apr 11; 496 (7444): 238–42. doi: 10.1038/nature11986. Epub 2013 Mar 24
4. Nikam A., Patankar J.V., Lackner C., Schöck E. et al. Transition between Acute and Chronic Hepatotoxicity in Mice Is Associated with Impaired Energy Metabolism and Induction of Mitochondrial Heme Oxygenase-1. PLoS One 2013 Jun 6; 8(6): e66094. doi: 10.1371/journal.pone.0066094. Print 2013.
5. Koivunen P., Hirsilä M., Remes A.M., Hassinen I.E. et al. Inhibition of hypoxia-inducible factor (HIF) hydroxylases by citric acid cycle intermediates: possible links between cell metabolism and stabilization of HIF. J Biol Chem 2007 Feb 16; 282 (7): 4524—4532. Epub 2006 Dec 19.
6. Gellerich F.N., Trumbeckaite S., Hertel K., Zierz S. et al. Impaired energy metabolism in hearts of septic baboons: diminished activities of Complex I and Complex II of the mitochondrial respiratory chain. Shock 1999 May; 11 (5): 336—341.
7. Porta F., Takala J., Weikert C., Bracht H. et al. Effects of prolonged endotoxemia on liver, skeletal muscle and kidney mitochondrial function. Crit Care 2006; 10 (4): R118.
8. Singer M., De Santis V., Vitale D., Jeffcoate W. Multiorgan failure is an adaptive, endocrine-mediated, metabolic response to overwhelming systemic inflammation. Lancet 2004 Aug 7—13; 364 (9433): 545—548.
9. Rudiger A., Singer M. The heart in sepsis: from basic mechanisms to clinical management. Curr Vasc Pharmacol 2013 Mar 1; 11 (2): 187—195.
10. Singer M. Mitochondrial function in sepsis: acute phase versus multiple organ failure. Crit Care Med 2007 Sep; 35: 9: Suppl: S441—448.
11. Herlein J.A., Fink B.D., Henry D.M., Yorek M.A., Teesch L.M., Sivitz W.I. Mitochondrial superoxide and coenzyme Q in insulin-deficient rats: increased electron leak. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2011 Dec; 301 (6): R1616–1624. doi: 10.1152/ajpregu.00395.2011. Epub 2011 Sep 21.
12. Protti A., Carré J., Frost M.T., Taylor V., Stidwill R., Rudiger A., Singer M. Succinate recovers mitochondrial oxygen consumption in septic rat skeletal muscle. Crit Care Med 2007 Sep; 35 (9): 2150—2155.

Заключение

Безусловно, что все эти потенциально выгодные концепции требуют тщательного тестирования перед реализацией в повседневной клинической практике. Но почему мы должны ждать, когда наши западные коллеги принесут нам готовый продукт для реализации, по примеру Гелофузина, который по своей сути является желатином, но его обработали (кстати, по нашей отечественной технологии!) ангидридом янтарной кислоты и получили хороший волеми-ческий эффект? Почему мы не хотим прислушаться к выводам отечественных публикаций о роли сукцинатов, которых уже столько много, что не заметить этого просто нельзя. К фактам надо прислушиваться, а не игнорировать их. Вот тогда мы сумеем найти место сукцинатам при критических состояниях. Для этого нужно только вводить их своевременно (в период ранней адаптации к гипоксии), в соответствующих дозах и создавать им условия для выполнения поставленной задачи — устранение митохондриальной дисфункции и восстановление окислительного фосфорилирования.

13. An-Ping Lin, Sondra L. Anderson, Kary I. Minard, and Lee McAlister-Henn. Effects of Excess Succinate and Retrograde Control of Metabolite Accumulation in Yeast Tricarboxylic Cycle Mutants. J Biol Chem 2011 September 30; 286 (39): 33737—33746.
14. Whelan S.P., Carchman E.H., Kautza B., Nassour I. et al. Polymicrobial sepsis is associated with decreased hepatic oxidative phosphorylation and an altered metabolic profile. J Surg Res 2014 Jan; 186 (1): 297—303. doi: 10.1016/j.jss.2013.08.007. Epub 2013 Aug 30.
15. Trumbeckaite S., Kuliavienė I., Deduchovas O., Kincius M. et al. Experimental acute pancreatitis induces mitochondrial dysfunction in rat pancreas, kidney and lungs but not in liver. Pancreatology 2013 May-Jun; 13 (3): 216—224. doi: 10.1016/j.pan.2013.04.003. Epub 2013 Apr 12.
16. Maléth J., Rakonczay Z. Jr., Venglovecz V., Dolman N.J., Hegyi P. Central role of mitochondrial injury in the pathogenesis of acute pancreatitis. Acta Physiol (Oxf) 2013 Feb; 207 (2): 226—235. doi: 10.1111/apha.12037. Epub 2012 Dec 11.
17. Шербак Н.С., Галагудза М.М., Юкина Г.Ю., Баранцевич Е.Р., Томсон В.В., Шляхто Е.В. Ишемическое посткондиционирование ингибирует активность сукцинатдегидрогеназы при ишемии-реперфузии головного мозга. Тезисы всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Инновационные технологии в нейроэндокринологии, нейронауках и гематологии». Санкт-Петербург, 2013: 36 с. / Shcherbak N.S., Galagudza M.M., Yukina G.Yu., Barantsevich E.R., Tomson V.V., Shlyakheto E.V. Ishemicheskoe postkonditsionirovanie ingibiruets aktivnost suksinatdegidrogenazy pri ishemii-reperfuzii golovno mozga. Tezisy vs Rossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem «Innovatsionnye tekhnologii v neyroendokrinologii, neyronaukakh i gematologii». Sankt-Peterburg, 2013; 36. [in Russian]
18. Leach R. M., Hill H. M., Snetkov V. A., Robertson T. P., Ward J. P. T. Divergent roles of glycolysis and the mitochondrial electron transport chain in hypoxic pulmonary vasoconstriction of the rat: identity of the hypoxic sensor. J Physiol Oct 1, 2001; 536 (Pt 1): 211—224.
19. Galley H. F. Bench-to-bedside review: Targeting antioxidants to mitochondria in sepsis. Crit Care 2010; 14 (4): 230. doi: 10.1186/cc9098. Epub 2010 Aug 20.
20. Andrades ME1., Morina A., Spasić S., Spasojević I. Bench-to-bedside review: sepsis — from the redox point of view. Crit Care 2011; 15 (5): 230. doi: 10.1186/cc10334. Epub 2011 Sep 14.
21. Tang X.L., Liu J.X., Li P., Dong W., Li L., Zheng Y.Q., Hou J.C. Protective effect of succinic acid on primary cardiomyocyte hypoxia/reoxygenation injury. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi 2013 Nov; 38 (21): 3742—3746.
22. Hamel D., Sanchez M., Duhamel F., Roy O. et al. G-protein-coupled receptor 91 and succinate are key contributors in neonatal postcerebral hypoxia-ischemia recovery. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2014 Feb; 34 (2): 285—293. doi: 10.1161/ATVBAHA.113.302131. Epub 2013 Nov 27.

23. *McGettrick A.F., O'Neill L.A.* How metabolism generates signals during innate immunity and inflammation. *J Biol Chem* 2013 Aug 9; 288 (32): 22893—22898. doi: 10.1074/jbc.R113.486464. Epub 2013 Jun 24.
24. *Winslow R.M.* Oxygen: the poison is in the dose. *Transfusion* 2013 Feb; 53 (2): 424—437. doi: 10.1111/j.1537-2995.2012.03774.x. Epub 2012 Jul 15.
25. *Qutub A.A., Popel A.S.* Three autocrine feedback loops determine HIF1 alpha expression in chronic hypoxia. *Biochim Biophys Acta* 2007 Oct; 1773 (10): 1511—1525. Epub 2007 Jul 20.
26. *Ariza A.C., Deen P.M., Robben J.H.* The succinate receptor as a novel therapeutic target for oxidative and metabolic stress-related conditions. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2012 Feb 16; 3: 22. doi: 10.3389/fendo.2012.00022. eCollection 2012.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Орлов Юрий Петрович — д. м. н., профессор кафедры анестезиологии и реаниматологии ДПО ФГБОУ ВПО «Омский государственный медицинский университет», Омск

Этиотропная терапия острого цистита у беременных

Н. В. СТУРОВ, С. В. ПОПОВ, О. А. ЛЕСНАЯ

РУДН, Москва

Etiotropic Therapy of Acute Cystitis in Pregnant Women

N. V. STUROV, S. V. POPOV, O. A. LESNAYA

RUDN University, Moscow

Острый цистит наблюдается у 1–4% беременных и потенциально опасен для их здоровья, исходов беременности и состояния плода. Основным predisposing фактором острого цистита у беременных является наличие в анамнезе инфекций мочевых путей. В статье представлены подходы к антимикробной терапии у данной категории пациенток с учётом современных данных о резистентности бактерий к различным антибиотикам. Акцентируется целесообразность скрининга, а также своевременной диагностики и лечения бессимптомной бактериурии, на основании данных о региональной и локальной антибиотикорезистентности уропатогенов, для улучшения результатов терапии острого цистита у беременных.

Ключевые слова: инфекции мочевых путей, беременность, острый цистит, кишечная палочка, резистентность, антимикробные препараты.

Acute cystitis is observed in 1–4% of pregnant women and is potentially dangerous for their health, pregnancy outcomes, and fetal condition. Women with a history of urinary tract infections are especially predisposed to acute cystitis during pregnancy. The article presents approaches to antimicrobial therapy in this category of patients taking into account modern data on resistance of bacteria to various antibiotics. The article emphasizes the expediency of screening, as well as timely diagnosis and treatment of asymptomatic bacteriuria based on data on regional and local antibiotic resistance of uropathogens to improve the results of therapy of acute cystitis in pregnant women.

Keywords: urinary tract infection, pregnancy, acute cystitis, *Escherichia coli*, resistance, antimicrobial agents.

Введение

Одним из распространённых заболеваний во время беременности является инфекция мочевых путей (ИМП) [1]. Известно, что такие инфекции развиваются у 5–10% беременных, представляют потенциальную опасность для их здоровья, исходов беременности и могут оказывать влияние на состояние плода [2]. В настоящее время проблема лечения ИМП у беременных остаётся актуальной в связи с изменениями чувствительности бактерий к антимикробным препаратам [3].

Наиболее частым проявлением инфекции нижних мочевых путей является острый цистит, наблюдающийся у 1–4% беременных [4]. Определено, что бессимптомная бактериурия в 3–4 раза чаще приводит к развитию острого цистита при беременности, вследствие анатомических и физиологических изменений мочевыводящих путей. Установлено, что примерно у каждой третьей беременной женщины с бессимптомной бактериурией может развиваться острый цистит [5].

По состоянию мочевых путей и наличию сопутствующих заболеваний инфекции подразделяют на неосложнённые и осложнённые. Согласно Федеральным клиническим рекомендациям «Антимикробная терапия и профилактика инфекций почек, мочевыводящих путей и мужских половых органов» 2017 года, ИМП при беременности относят к осложнённым [6]. Однако некоторые авторы предлагают ИМП на ранних сроках беременности рассматривать в качестве неосложнённых [7]. Осложнённые ИМП развиваются на фоне структурных изменений мочеполювых органов, а также сопутствующих заболеваний, снижающих защитные силы организма и увеличивающих риск восходящей инфекции или неэффективности лечения [6].

Этиология и патогенез, диагностика

Основными возбудителями острого цистита у беременных являются грамотрицательные бактерии семейства Enterobacteriaceae. Кишечная палочка (*Escherichia coli*) — наиболее частый уропатоген у беременных. Другие представители семейства Enterobacteriaceae (*Proteus* spp., *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp. и проч.), а также коагулазо-

© Коллектив авторов, 2019

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

Таблица 1. Этиологическая структура внебольничных ИМП у беременных, по данным исследования «ДАРМИС» (n=152) [9]

Возбудитель	%
<i>Escherichia coli</i>	65,8
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10,5
<i>Proteus mirabilis</i>	6,6
<i>Enterococcus faecalis</i>	4,9
<i>Enterobacter cloacae</i>	4,6
<i>Candida</i> spp.	2,9
<i>Staphylococcus</i> spp.	1,8
<i>Citrobacter koseri</i>	1,3
Другие возбудители	1,6

негативные стафилококки обнаруживают в оставшихся случаях [6, 8]. Региональные данные о доминирующих возбудителях ИМП и их антибиотикорезистентности представляют интерес и должны учитываться при выборе антимикробного препарата для терапии острого цистита у беременных. При оценке результатов многоцентрового исследования динамики антибиотикорезистентности возбудителей внебольничных инфекций мочевых путей «ДАРМИС» (2010–2011 гг.), проанализировавшего 987 внебольничных штаммов уропатогенов, в том числе от 152 беременных из 20 городов России, Беларуси и Казахстана, оказалось, что на долю *E.coli* в этиологической структуре внебольничных ИМП у беременных приходится 65,8% случаев [6, 9]. Этиологическая структура внебольничных ИМП у беременных, по данным исследования «ДАРМИС», представлена в табл. 1.

Особый интерес представляют результаты ретроспективного исследования случай–контроль (в соотношении 1: 2) госпитализированных беременных женщин с мочевыми культурами, содержащими бактерии семейства Enterobacteriaceae, продуцирующие бета-лактамазы расширенного спектра (БЛРС) и не вырабатывающие таковых, полученные с 2004 по 2015 годы. Исследователи сравнили факторы риска появления резистентности у бактерий, клиническое течение и результаты. В общей сложности 87 беременных женщин с БЛРС-положительными культурами мочи сравнили с 174 пациентками контрольной группы по возрасту, этнической принадлежности и триместру беременности. Существенными факторами риска для приобретения БЛРС оказались предшествующие эпизоды ИМП или бессимптомной бактериурии (50,6 против 26,3%, $p<0,001$), выделение БЛРС в культурах мочи (12,6 против 0,6%, $p<0,001$) и антимикробная терапия (71,3 против 54%, $p=0,002$). При этом факт предшествующей госпитализации не оказался фактором риска. Исследователи сделали вывод о том, что предшествующие ИМП и антимикробная терапия были основными факторами риска для выделения из мочи беременных патогенов, продуцирующих БЛРС. При этом достоверных различий в развитии неблагоприятных акушерских исходов между группами обнаружено не было [3].

Предрасполагающими к развитию ИМП у беременных факторами, кроме мочевых инфекций в анамнезе (до или на ранних сроках беременности), являются низкий социально-экономический статус пациентки, высокий уровень сексуальной активности, сахарный диабет, аномалии развития и заболевания мочевыводящих путей, бактериальный вагиноз, серповидно-клеточная анемия. Определено также, что ВИЧ-инфекция у беременных с высокой степенью вирусной нагрузки повышает риск развития ИМП [2, 4]. Следует отметить, что обусловленные беременностью физиологические изменения тоже рассматриваются в качестве предрасполагающих факторов. Риск развития острого цистита при беременности увеличивается при релаксации детрузора, увеличении ёмкости мочевого пузыря и изменениях состава мочи (глюкозурии и щелочной реакции мочи), а также вследствие генетической предрасположенности [4, 9].

В настоящее время определено, что основным источником ИМП является микрофлора, колонизирующая периуретральную область. Наиболее вирулентными бактериями из этой зоны являются *E.coli*. У штаммов *E.coli*, выделяемых при циститах, установлена взаимосвязь между продукцией факторов, опосредующих адгезию (первый этап инфекционного процесса) и обуславливающих повреждение эпителия мочевых путей. Адгезия бактерий к клеткам уротелия является одним из факторов патогенеза ИМП и реализуется в 2 вариантах: сосуществовании с клеткой хозяина объединённым гликокаликсом (персистенции); повреждении гликокаликса и контактом с клеточной мембраной. Бактериальные структуры-адгезины опосредуют этот процесс. Многие адгезины относятся к фимбриям (известным также как пили, или F-антигены), являющимися нитевидными отростками бактериальных клеток. Кроме фимбриальных адгезинов существуют и афимбриальные, которыми опосредована адгезия микробов к эпителиальным поверхностям. При помощи фимбрий бактерии связываются друг с другом и передают плазмиды. Микроорганизмы способны кодировать и передавать другим бактериям факторы вирулентности: резистентность к антибиотикам, выработку фактора колонизации, токсинов и мемб-

ранных белков. Штаммы *E.coli*, продуцирующие наибольшее количество факторов вирулентности и пролиферирующие в моче, обладают потенциальной способностью к восходящему распространению по мочевым путям [6, 9]. Необходимо отметить, что патогенез цистита связан не только с факторами адгезии и колонизации, но и с особенностями макроорганизма, в том числе рецепторным аппаратом мочевых путей (экспрессией Toll-like рецепторов), а также местным иммунитетом. Установлено, что определённые полиморфизмы в промоторной области Toll-like рецептора 4 коррелируют с восприимчивостью или риском ИМП, а структурные полиморфизмы взаимосвязаны с распознаванием факторов вирулентности *E.coli* [10].

Микробиологические аспекты патогенеза инфекции мочевых путей, описанные для *E.coli*, актуальны и для других представителей семейства Enterobacteriaceae, прежде всего для *Proteus* spp., *Klebsiella* spp.

Диагностику острого цистита у беременных проводят на основании оценки клинических симптомов, физикального обследования и анализа лабораторных данных. К симптомам заболевания относят: учащённое и болезненное мочеиспускание, императивные позывы к мочеиспусканию, боли над лоном, а в ряде случаев и примесь крови в моче [11]. Следует помнить, что дизурия может быть обусловлена и уретритом вследствие *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Herpes simplex* или вагинитом, обусловленным *Candida* spp. или *Trichomonas vaginalis*. В связи с этим, особое значение в дифференциальной диагностике этих состояний имеют тщательная оценка жалоб (наличие вагинальных выделений, герпетических высыпаний, диспаурии), анамнеза (незащищённые случайные половые связи, появление нового сексуального партнера), проведение объективного исследования и лабораторная диагностика [9].

Центральное место в лабораторной диагностике острого цистита у беременных принадлежит клиническому анализу мочи — исследованию с помощью простого гематометра нецентрифугированной средней порции мочи, полученной после туалета наружных половых органов.

Несмотря на стоимость бактериологического исследования мочи с определением титра КОЕ в 1 мл, этот метод обладает высокой чувствительностью ($\geq 10^2$ КОЕ/мл), обеспечивает возможность идентификации возбудителя и определения его чувствительности к антимикробным пре-

паратам. Микробиологическим критерием диагностики острого цистита у беременных (как осложнённой ИМП) является 10^5 и более КОЕ/мл, при рассмотрении данного заболевания в качестве неосложнённой ИМП — 10^3 и более КОЕ/мл в средней порции мочи [6].

Современные подходы к антимикробной терапии

Основными целями антимикробной терапии острого цистита у беременных являются: быстрое купирование симптомов, восстановление трудоспособности, предупреждение осложнений и профилактика рецидивов. Выбор антимикробного препарата для лечения данной категории беременных должен проводиться эмпирически, на основе региональных данных о доминирующих возбудителях и их резистентности. При терапии острого цистита у беременных необходимо назначать препараты с высокой антимикробной активностью в отношении актуальных возбудителей ИМП и фармакокинетикой лекарственного средства, позволяющей обеспечить его высокие концентрации в моче при пероральном приёме 1–2 раза в сутки, благоприятным профилем безопасности и приемлемой стоимостью. При выборе антимикробного препарата немаловажно также учитывать срок беременности, метаболизм лекарственного средства, а также его проникновение через плаценту и возможное влияние на состояние плода [6, 8, 9].

Согласно Федеральным клиническим рекомендациям, опубликованным в 2017 г., препаратами выбора для лечения острого цистита у беременных являются фосфомицина трометамол и 7-дневные курсы бета-лактамами антибиотиками и нитрофуранами, начиная со второго триместра беременности. Антимикробные препараты для лечения острого цистита у беременных (согласно Федеральным клиническим рекомендациям 2017 года), а также способы их применения представлены в табл. 2 [6].

При остром цистите у беременных, согласно Федеральным клиническим рекомендациям, фосфомицина трометамол назначают по 3 г однократно, а пероральные цефалоспорины, нитрофурантоин и амоксициллин/клавуланат следует принимать в течение 7 сут. Необходимо отметить, что в настоящее время, согласно данным ряда авторов, не продемонстрировано преимуществ ре-

Таблица 2. Способы применения антимикробных препаратов для лечения острого цистита у беременных

Препараты	Способы применения
Фосфомицина трометамол	3 г однократно
Цефиксим	По 400 мг 1 раз в сутки 7 дней
Цефтибутен	По 400 мг 1 раз в сутки 7 дней
Нитрофурантоин	По 100 мг 2 раза в сутки 7 дней, только во втором триместре
Цефуроксим	По 250–500 мг 2 раза в сутки 7 дней
Амоксициллин/клавуланат	По 625 мг 3 раза в сутки 7 дней

жизни применения какого-либо одного из рекомендуемых антимикробных препаратов для лечения острого цистита у беременных [2].

Фосфомицина трометамол. Многочисленной серией исследований было показано, что монодозная терапия или лечение короткими курсами острого цистита является достаточной, а более длительное лечение не имеет преимуществ. К преимуществам короткого курса терапии следует отнести: хорошее соблюдение его больным, низкие — стоимость лечения и частота нежелательных явлений и уменьшение влияния на периуретральную, вагинальную и ректальную флору в отношении селекции резистентных штаммов. В связи с тем, что частота неэффективности лечения, по данным значительного количества исследований, не превышает 10–20%, краткосрочную терапию можно также использовать в качестве своеобразного инструмента диагностики и проводить дальнейшее урологическое обследование только больным с сохраняющимися клиническими и лабораторными признаками цистита. Однократный приём фосфомицина трометамола в дозе 3 г, высокие концентрации которого в моче обнаруживаются до 3 дней после применения, признан высокоэффективным режимом лечения у данной категории пациенток. Согласно результатам исследования «ДАРМИС», чувствительность *E. coli* при внебольничных ИМП к фосфомицину — бактерицидному препарату для монодозной терапии, обеспечивающему высокие, превышающие минимально ингибирующие в 1000 раз концентрации в моче, составила 98,9% [6]. Бактерицидное действие этого препарата связано с ингибированием пирувилтрансферазы, катализирующей образование N-ацетилмурамовой кислоты на ранних этапах синтеза бактериальной клетки, что приводит к нарушению образования микробной клеточной стенки. Препарат препятствует адгезии бактерий к эпителию мочевых путей. Фосфомицин назначают внутрь в виде трометамоловой соли, которая хорошо растворима в воде, всасывается (более 60%) и в высоких концентрациях экскретируется с мочой в неизменённом виде. Известно, что применение фосфомицина трометамола не оказывает отрицательного влияния на течение беременности и развитие плода [12].

Бета-лактамы. Эти бактерицидные антимикробные препараты широкого спектра действия активны в отношении большинства грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов, в том числе штаммов, продуцирующих бета-лактамазы. Достоинствами бета-лактамов при лечении ИМП являются: широкий антибактериальный спектр действия, высокая бактерицидная активность, создание высоких концентраций в почках и моче, преимущественная экскреция почками и низкая ток-

сичность, а также возможность их применения во время беременности. Несмотря на это, в настоящее время регистрируются значительные уровни резистентности основных возбудителей ИМП к некоторым из этих препаратов, а применение беременными амоксициллина/клавуланата, по некоторым данным, может привести к повышению риска развития некротического энтероколита у недоношенных новорождённых [2, 9].

Нитрофурантоин. Этот бактериостатический препарат разрешён к применению во втором триместре, по результатам ряда популяционных исследований. Необходимо отметить существование неоднозначного отношения к его применению при беременности. Определено, что данный препарат необходимо отменять за 2–3 нед. до родов из-за угрозы развития гемолитической анемии у новорождённого, при наличии дефицита глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы [9]. В первом триместре беременности также следует избегать назначения нитрофурантоина из-за его способности повышать риск развития пороков плода [13].

К сожалению, в настоящее время в клинической практике наблюдаются трудности при выборе антимикробного препарата для лечения острого цистита, в том числе и у беременных, связанные с ростом уровня резистентности кишечной палочки и других бактерий семейства *Enterobacteriaceae* к различным антибиотикам. На сегодняшний день всё чаще регистрируется увеличение уровня резистентности основных возбудителей острого цистита к амоксициллину/клавуланату и пероральным цефалоспорином 2- и 3-го поколений, а также нитрофурантоину. По результатам исследования «ДАРМИС», уровень суммарной резистентности кишечной палочки к препаратам, применяющимся для лечения ИМП, составил: к амоксициллину/клавуланату — 15,5%, к цефиксиму — 15,8%, к нитрофурантоину — 14,5% [6]. Данное обстоятельство определяет необходимость бережного отношения к использованию (резервированию) этих актуальных при беременности антимикробных препаратов и регулярного анализа региональных и локальных данных об устойчивости к ним бактерий.

В связи с этим особый интерес представляют недавно опубликованные результаты исследования, проведённого М. Seitz и соавт., целью которого было определение актуальности и применимости действующих европейских рекомендаций к реальной городской урологической практике, а также необходимости коррекции эмпирической терапии острого цистита у женщин [14]. В этом исследовании, проведённом с января 2015 г. по январь 2017 г. в г. Мюнхен, наблюдали 502 женщины с острым циститом. Средний возраст пациенток составил 32,7 лет (в диапазоне от 18 до 65 лет). 42% женщин, включённых в исследование,

Таблица 3. Чувствительность штаммов (в %) кишечной палочки (n=365) к пероральным антимикробным препаратам (модифицированная [14])

Ампициллин	60,3
Амоксициллин	69,6
Амоксициллин/клавуланат	74,8
Цефуроксим	90,7
Цефподоксим	92,9
Нитрофурантоин	98,1
Фосфомицина трометамол	99,2

были в возрасте от 18 до 25 лет. Определено, что частота ИМП снижалась с течением времени и составила до 8—8,2% у женщин в возрасте 46—65 лет. Необходимо отметить, что среди пациенток в пременопаузе острый цистит встречался чаще, чем среди женщин в постменопаузе (86,9% против 13,1%). Факторами риска острого цистита у исследованных пациенток оказались: рецидивирующие ИМП (20,3%), предшествующие заболеванию половые акты (15,3%) и появление нового сексуального партнера (12,9%), наличие ИМП в анамнезе у ближайших родственников (6,8%), сахарный диабет (3%) и беременность (0,8%). После исключения из исследования пациенток, у которых выделили смешанные культуры, был проведен анализ результатов микробиологических исследований мочи 423 женщин. Наиболее распространенным патогеном оказалась *E.coli* — в 86,3% случаях. Доля *E.faecalis* составила 10,2%, а *K.pneumoniae* — 3,5%. Определение чувствительности выделенных бактерий к антимикробным препаратам показало высокую чувствительность штаммов *E.coli* к следующим пероральным антибиотикам: фосфомицина трометамолу (99,2%), нитрофурантоину (98,1%) и цефподоксиму (92,9%). Кишечная палочка оказалась устойчивой к амоксициллину/клавуланату в 25,2% случаев (табл. 3).

В этом проспективном наблюдательном исследовании удалось получить современные данные о возбудителях острого цистита и их резистентности к антимикробным препаратам в урологической практике. Традиционно, терапия острого цистита базируется на эмпирических данных, полученных в результате многоцентровых исследований. Установлено, что профили резистентности бактерий со временем могут изменяться. При этом такие изменения обусловлены временем и имеют существенные региональные

различия. В результате проведенного исследования был сделан вывод о том, что несмотря на имеющиеся в настоящее время региональные различия в профилях резистентности кишечной палочки к антимикробным препаратам, действующие рекомендации остаются актуальными и могут применяться в клинической практике, а основные принципы эмпирической терапии острого цистита не нуждаются в коррекции. Исследователи отметили, что в настоящее время всё чаще регистрируются региональные изменения чувствительности уропатогенов к рекомендованным альтернативным антимикробным препаратам, таким как аминопенициллины. В связи с этим для того, чтобы назначать данные препараты, по мнению авторов, необходимо располагать результатом микробиологического исследования мочи с подтвержденной чувствительностью к ним бактерий.

Заключение

Несмотря на наличие современных данных о возбудителях ИМП, их чувствительности к различным антимикробным препаратам и особенностях патогенеза, частота острого цистита у беременных существенно не уменьшается. Это обстоятельство может быть объяснено завуалированностью симптомов ИМП физиологическими изменениями при беременности, а также увеличением антибиотикорезистентности уропатогенов. Поэтому проведение скрининга, своевременные диагностика и лечение бессимптомной бактериурии, а также регулярный мониторинг региональной и локальной антибиотикорезистентности являются эффективными мероприятиями для профилактики и улучшения результатов терапии острого цистита у беременных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Рафальский В.В., Густаварова Т.А., Козырев Ю.В. Антимикробная терапия инфекций мочевыводящих путей у беременных. В кн.: Глыбочко П.В., Коган М.И., Набока Ю.Л., ред. Инфекции и воспаления в урологии. М.: МЕДФОРУМ; 2019. — 352—363. / Rafalskij V.V., Gustavavova T.A., Kozzyrev Ju.V. Antimikrobnaja terapija infekcij mochevyvodjashhih putej u beremennyh. V kn.: Glybochko P.V., Kogan M.I., Naboka Ju.L., red. Infekcii i vospaleniya v urologii. M.: MEDFORUM; 2019: 352—363. [in Russian]
2. Szveda H., Jóźwik M. Urinary tract infections during pregnancy — an updated overview. Dev Period Med 2016; 20 (4): 263—272.
3. Yagel Y., Nativ H., Riesenber K., Nesher L., Saidel-Odes L., Smolyakov R. Outcomes of UTI and bacteriuria caused by ESBL vs. non-ESBL Enterobacteriaceae isolates in pregnancy: a matched case-control study. Epidemiol Infect 2018 Apr; 146 (6): 771—774.

4. Matuszkiewicz-Rowińska J., Malyszko J., Wieliczko M. Urinary tract infections in pregnancy: old and new unresolved diagnostic and therapeutic problems. Arch Med Sci 2015; 11: 67—77.
5. Glaser A.P., Schaeffer A.J. Urinary tract infection and bacteriuria in pregnancy. Urol Clin North Am 2015; 42: 547—560.
6. Аляев Ю.Г., Аполихин О.И., Пушкарь Д.Ю., Козлов Р.С., Камалов А.А., Перепанова Т.С., ред. Антимикробная терапия и профилактика инфекций почек, мочевыводящих путей и мужских половых органов. Федеральные клинические рекомендации. М.: Прима-принт; 2017. — 72 с. / Aljaev Ju.G., Apolihin O.I., Pushkar' D.Ju., Kozlov R.S., Kamalov A.A., Perepanova T.S., red. Antimikrobnaja terapija i profilaktika infekcij почек, mochevyvodjashhih putej i mužskih polovyyh organov. Federal'nye klinicheskie rekomendacii. M.: Prima-print; 2017; 72. [in Russian]
7. Salvatore S., Salvatore S., Cattoni E., Siesto G., Serati M., Sorice P., Torella M. Urinary tract infections in women. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2011; 156: 131—136.

8. *Аляев Ю.Г., Глыбочко П.В., Пушкарь Д.Ю., ред.* Урология. Российские клинические рекомендации. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2015. — 480 с. / *Aljaev Ju.G., Glybochko P.V., Pushkar' D.Ju., red.* Urologija. Rossijskie klinicheskie rekomendacii. M.: GJeOTAR-Media; 2015; 480. [in Russian]
9. *Ветчинникова О.Н., Никольская И.Г., Бычкова Н.В.* Инфекция мочевыводящих путей при беременности. М.: ГБУЗ МО МОНИИАГ; 2016. — 51 с. / *Vetchinnikova O.N., Nikolskaja I.G., Bychkova N.V.* Infekcija mochevyvodjashhih putej pri beremennosti. M.: GBUZ MO MONIAG; 2016; 51. [in Russian]
10. *Аполихина И.А., Глыбочко П.В., Тетерина Т.А.* Генетическая предрасположенность к развитию неосложнённых инфекций мочевыводящих путей и рефрактерного гиперактивного мочевого пузыря у женщин. Экспериментальная и клиническая урология. — 2012. — № 4. — С. 14—19. / *Apolihina I.A., Glybochko P.V., Teterina T.A.* Geneticheskaja predraspolozhennost' k razvitiyu neoslozhnennyh infekcij mochevyvodjashhih putej i refrakternogo giperaktivnogo mochevogo puzyrja u zhenshhin. Jeksperimental'naja i klinicheskaja urologija, 2012; 4: 14—19. [in Russian]
11. *Попов С.В.* Антимикробная терапия острого неосложнённого цистита. Фарматека, 2012; 10: 42—45. / *Popov S.V.* Antimikrobnaja terapija ostrogo neoslozhnjonnogo cistita. Farmateka. — 2012. — № 10. — С. 42—45. [in Russian]
12. *Falagas M.E., Vouloumanou E.K., Samonis G., Vardakas K.Z.* Fosfomycin. Clin Microbiol Rev 2016; 29 (2): 321—347.
13. *Goldberg O., Moretti M., Levy A., Koren G.* Exposure to nitrofurantoin during early pregnancy and congenital malformations: a systematic review and meta-analysis. J Obstet Gynaecol Can 2015; 37: 150—156.
14. *Seitz M., Stief C., Waidelich R.* Local epidemiology and resistance profiles in acute uncomplicated cystitis (AUC) in women: a prospective cohort study in an urban urological ambulatory setting. BMC Infect Dis 2017; 17: 685.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Стуров Николай Владимирович — к. м. н., доцент, заведующий кафедрой общей врачебной практики, заместитель директора по учебной работе Медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва

Попов Сергей Витальевич — д. м. н., профессор кафедры общей врачебной практики Медицинского института

ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, врач-уролог. ORCID:0000-0002-0567-4616

Лесная Олеся Анатольевна — ассистент кафедры общей врачебной практики Медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, врач-акушер-гинеколог

Микоплазменная инфекция в патологии человека и роль антибактериальных препаратов

*А. А. ХРЯНИН^{1,2}, О. В. РЕШЕТНИКОВ³

¹ Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России, Новосибирск

² Ассоциация акушеров-гинекологов и дерматовенерологов, Новосибирск

³ НИИ терапии и профилактической медицины — филиал Института цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

Mycoplasma Infection in Human Pathology and the Role of Antibacterial Drugs

*A. A. KHRANIN^{1,2}, O. V. RESHETNIKOV³

¹ Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk

² Association of Obstetricians, Gynecologists, and Dermatovenerologists, Novosibirsk

³ Research Institute of Therapy and Preventive Medicine, Branch of Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk

В статье освещены современные вопросы классификации, патогенеза, лабораторной диагностики и лечения микоплазменной инфекции урогенитального тракта (*M.hominis*, *U.urealyticum*). Представлены данные о роли инфекции в развитии негонokokкового уретрита и бесплодия у мужчин, нарушения репродуктивной функции и неблагоприятных исходов беременности у женщин. Описаны показания и методы лабораторной диагностики. Приведены критерии назначения антибактериальной терапии, перечислены наиболее предпочтительные препараты.

Ключевые слова: микоплазменная инфекция, нарушения репродуктивной функции, антибактериальная терапия.

The article highlights current issues of classification, pathogenesis, laboratory diagnosis, and treatment of mycoplasma infection of the urogenital tract (*M.hominis*, *U.urealyticum*). Authors present the data on the role of infection in the development of non-gonococcal urethritis and infertility in men, as well as impaired reproductive function and adverse pregnancy outcomes in women. The article describes indications and laboratory diagnostic methods and lists the criteria for the appointment of antibiotic therapy, as well as the most preferred drugs.

Keywords: mycoplasma infection, reproductive dysfunction, antibiotic therapy.

Одной из основных проблем дерматовенерологии, гинекологии и урологии является лечение инфекций половых путей. Инфекции, передаваемые половым путем (ИППП), вызываются большим количеством (более 30) разнообразных возбудителей (вирусных и бактериальных агентов, простейших, грибов и др.) и являются причиной значительной заболеваемости и серьезных нарушений репродуктивной функции человека [1].

Наряду с классическими ИППП, вызывающими такие заболевания, как сифилис и гонорея, во многих популяциях и социальных группах существенно выше распространенность уретритов и цервицитов, вызванных патогенными микроорганизмами «нового поколения» (*Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*) [2].

Кроме того, половые пути и мужчин, и женщин часто колонизируются микоплазмами (уреаплазмами). Большинство микоплазм не являются

абсолютными патогенами. Передаваясь половым путем, они при определенных условиях вызывают инфекционно-воспалительные процессы в мочеполовых органах, чаще в ассоциации с другими патогенными или условно-патогенными микроорганизмами. Поэтому микоплазмы описываются как «микроорганизмы на службе у болезни» и их относят к группе микроорганизмов-резидентов (т. е. постоянно присутствующих в урогенитальном тракте человека), ассоциированных с ИППП [3].

Как правило, именно эти бактериальные резиденты создают определенные трудности в интерпретации лабораторных результатов и зачастую, к сожалению, имеют широкую спекулятивную славу среди практикующих врачей в РФ.

Высокая распространенность микоплазменной инфекции (*M.hominis*, *U.urealyticum*) и при этом, частое её выявление у практически здоровых лиц затрудняет решение вопроса о роли этих микроорганизмов в этиологии и патогенезе заболеваний урогенитального тракта.

Микоплазмы (*Mycoplasma* от греч. «mycos» — гриб, «plasma» — оформление) — мельчайшие мик-

© А. А. Хрянин, О. В. Решетников, 2019

*Адрес для корреспонденции: 630091, Новосибирск, Красный проспект, 52. Новосибирский ГМУ

роорганизмы с наименьшим среди прокариот размером генома и чрезвычайно простой организацией клетки. Это группа весьма разнообразных и характерных по морфологии микроорганизмов, способных как к автономному росту, так и к паразитированию на мембране эукариотической клетки [2–4].

В соответствии со структурной организацией микоплазмы занимают промежуточное положение между бактериями и вирусами (рис. 1).

Историческая справка

Основные исторические аспекты микоплазменной инфекции представлены в табл. 1.

Важно отметить, что 20 октября 1983 г. в бывшем СССР были выпущены первые методические рекомендации «Лабораторная диагностика *Ureaplasma urealyticum*», утверждённые начальником Управления лечебно-профилактической помощи МЗ СССР А. Джорбенадзе, а 17 марта 1988 г. — «Урогенитальные хламидиоз, уреаплазмоз, гарднереллёз (диагностика, лечение, профилактика)» утверждённые начальником Главного управления лечебно-профилактической помощи МЗ СССР В. И. Калининым. В методических рекомендациях (Москва, 1988) было указано следующее: «Все лица, у которых обнаружены уреаплазмы, хламидии или гарднереллы подлежат лечению. Во всех случаях лечения ... не зависимо от методики проводится профилактика кандидоза: нистатин или леворин по 2,0 млн ЕД в сутки или низорал по 0,2 × 2 раза в день. При вяло протекающих формах инфекции ... в стационаре до антибиотикотерапии проводится иммунотерапия и местное лечение. В амбулаторных условиях в целях предотвращения распространения инфекции антибиотик назначается одновременно с иммунотерапией с последующим назначением местного лечения».

Впоследствии появился Приказ МЗ СССР №286 от 1993 г.

Обязательный статистический учёт ИППП (с заполнением экстренного извещения): сифилис, гонорея, хламидиоз, трихомониаз, уреаплазмоз, микоплазмоз, кандидоз и гарднереллез. Данный приказ был отменён только через 6 лет в 1999 г.

В 1995 г. в России была введена МКБ-Х, согласно которой в классе А «Некоторые инфекционные и паразитарные болезни» имеется рубрика — А49.3 «Инфекция, вызванная микоплазмой, неуточнённая». С 2000 г. (приказ МЗ РФ

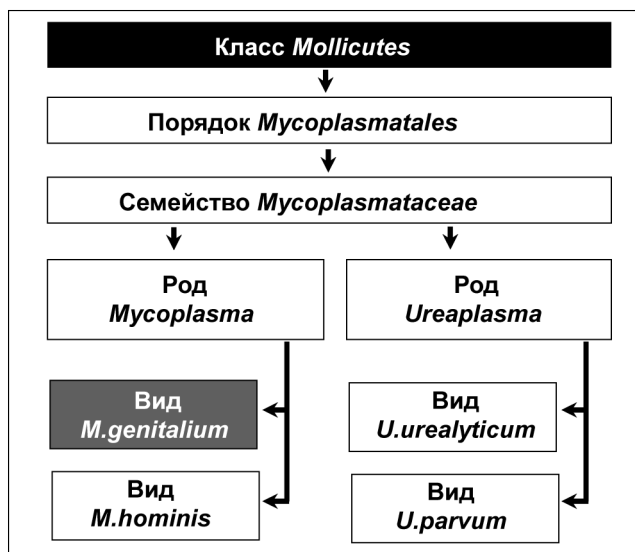


Рис. 1. Таксономия генитальных микоплазм.

№315 от 07.08.2000) в связи с введением в России МКБ-Х, вызванные микоплазмами инфекции были исключены из списка заболеваний, которые регистрировались как ИППП.

Современное состояние проблемы

Итак, *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma urealyticum* — условно патогенные микроорганизмы, реализация патогенных свойств которых происходит при определённых условиях (высокий уровень бактериальной обсеменности, иммуносупрессия и т. д.).

Вопрос о влиянии микоплазм (*M. hominis*, *U. urealyticum*) на репродуктивную функцию человека дискутируется. Женское бесплодие связано с воспалительными процессами гениталий, приводящими к нарушению или даже невозможности прохождения созревшей яйцеклетки в полость матки. Мужское бесплодие обусловлено, с одной стороны, воспалительными процессами, а с другой — воздействием уреаплазм на сперматогенез и сперматозоиды. Патогенное действие уреаплазм связано с их способностью адсорбироваться на поверхности сперматозоидов, изменять их подвижность и морфологию, влиять на хромосомный аппарат [2–4].

Несмотря на то, что в 1937 г. впервые выделены *M. hominis* (Dienes, Edsall) из воспалительного экссудата большой вестибулярной железы, в на-

Таблица 1. Исторические аспекты микоплазменной инфекции

Год	Научное событие	Авторы
1898	Первое описание микроорганизмов (атипичная пневмония крупного рогатого скота)	Nocard&Roux
1910	Уточнение морфологии описанных микроорганизмов	Bordet
1929	Предложено название «микоплазмы»	Nowac
1937	Выделение <i>M. hominis</i> из абсцесса большой вестибулярной железы	Dienes&Edsall
1954	Выделены Т-микоплазмы (<i>U. urealyticum</i>) из уретры больного НГУ	Shepard
в 60-х годах	Микоплазмы — Л формы бактерий	Wittlestone
в 70-х годах	Внедрение метода ДНК-гибридизации	Edward&Freundt
	Выделена самостоятельная группа микроорганизмов — <i>Mollicutes</i>	

стоящее время данное значение оценивается как сомнительное.

M.hominis выявляют при бактериальном вагинозе в ассоциации с другими представителями вагинального нормоценоза: *G.vaginalis*, *Bacteroides* sp., *Prevotella* sp., *Peptostreptococcus* sp., *Mobiluncus* и др. В то же время *M.hominis* выделяют из уретры и прямой кишки у 20–75% здоровых лиц обоего пола. Не имеется достоверных доказательств патогенности *M.hominis* и не получено однозначного ответа на вопрос о значении *M.hominis* в развитии акушерско-гинекологической и неонатальной инфекционной патологии [3].

U.urealyticum впервые выделена в 1954 г. у пациента с негонококковым уретритом (НГУ). Название *U.urealyticum* обусловлено способностью микроорганизма гидролизировать мочевины с образованием аммиака, т.е. уреазной активностью. С 2002 г. из рода *Ureaplasma* выделены 2 отдельных вида: *U.urealyticum* (биовар T960) и *U.parvum* (биовар Parvo) [3]. Таксономия генитальных микоплазм представлена на рис. 1.

У пациентов могут иметься одновременно несколько серотипов *U.urealyticum* (2, 4, 5, 7–13). В настоящее время, из 4 серотипов *U.parvum* (1, 3, 6, 14) связь некоторых из них с патогенностью и инвазивностью не доказана. Данные о возможной роли *U.parvum* в возникновении НГУ и других патологических процессов в настоящее время отсутствуют [5].

При этом связь *U.urealyticum* с острым НГУ отмечается в 5–10% наблюдений [6], доказано преобладание сероваров 2, 5, 8 и 9 *U.urealyticum* у больных негонококковым/нехламидийным уретритом [7], имеются предположения о возможной роли *U.urealyticum* в развитии хронического НГУ у мужчин [8]. Считается признанной роль *U.urealyticum* в нарушении репродуктивной функции мужчин (изменение морфологии сперматозоидов и потеря их подвижности).

Согласно последним рекомендациям CDC, роль *Ureaplasma* spp. в развитии НГУ является спорной [9].

Современные предположения относительно роли уреаплазм при НГУ следующие: *U.urealyticum* ассоциирована с НГУ; *U.parvum* — это «нормальная флора»; присутствие *U.parvum* маскирует ассоциацию *U.urealyticum* с НГУ; более ранние исследования, где не дифференцировали *U.urealyticum* от *U.parvum*, не могли выявить ассоциацию с НГУ.

В настоящее время вопрос о значении некоторых видов микоплазм (*M.hominis*, *U.urealyticum*) как моновозбудителя патологических процессов окончательно не решён. Позиции отечественных и зарубежных исследователей по данной проблеме достаточно противоречивы. Точных доказательств этиологической роли микоплазм для многих, предположительно связанных с ними

воспалительных заболеваниях органов малого таза, пока не установлено. Экспертами Всемирной организации здравоохранения (WHO 2006 г.) *U.urealyticum* определена как потенциальный возбудитель НГУ у мужчин и, возможно, ВЗМТ у женщин. В то же время, эксперты Центра по контролю и профилактике заболеваний США (CDC, 2010) не считают доказанной этиологическую роль и клиническое значение генитальных микоплазм (за исключением *M.genitalium*) [10].

Используя модифицированные постулаты Хенле–Коха (Henle–Koch, 1840), эксперты считают [3], что доказательством роли микроорганизма в развитии заболевания являются следующие причины:

1. Микроорганизм выявляют чаще и/или в больших количествах у больных, чем у здоровых.
2. Иммунологический ответ (антитела) при любых методах исследования выявляется у инфицированного хозяина.
3. Клиническое и микробиологическое излечение антимикробными препаратами, к которым микроорганизм чувствителен *in vitro*.
4. Микроорганизм способен инфицировать животное, от которого он может быть выделен и вызывать болезнь, сходную с заболеванием человека.

Колонизация генитального тракта микоплазмами происходит после первого полового контакта и возрастает в зависимости от числа половых партнёров. По мере увеличения числа половых партнёров уровень колонизации возрастает быстрее у женщин, чем у мужчин, что свидетельствует о большей чувствительности женщин к этим микроорганизмам. У мужчин *M.hominis* чаще всего колонизирует уретру и крайнюю плоть, у женщин — влагалище, реже шейку матки и уретру. Данные о распространении *M.hominis* среди населения разноречивы. Показатели инфицированности варьируют от 10 до 50%. Колонизация мочеполювого тракта человека *M.hominis* и *U.urealyticum* зависит от возраста, социально-экономического положения и сексуальной активности, причём у женщин они выделяются чаще, чем у мужчин. При этом *U.urealyticum* выявляется в 2–3 раза чаще, чем *M.hominis* [3, 4].

В метаанализе, проведённом в Иране в 2016 г., оказалось, что распространённость урогенитальных микоплазм среди женщин и мужчин была высокой и колебалась от 2–41% и 2–44%, соответственно. Обобщённый показатель распространённости у мужчин составлял 11,1% (95% ДИ 7,4–16,4%), а у женщин — 12,8% (95% ДИ 9,8–16,5%). Распространённость урогенитальных микоплазм была значительно выше у бесплодных мужчин по сравнению с мужчинами, имеющими детей. Авторы заключают, что поскольку урогенитальные микоплазмы могут играть определённую роль в мужском бесплодии, скрининг-стратегии (особенно у бессимптомных лиц), а также

Таблица 2. Частота выявления патогенных микроорганизмов при НГУ [12]

Микроорганизм	Частота выявления, %
<i>C.trachomatis</i>	11–50
<i>M.genitalium</i>	6–50
<i>Ureaplasma</i> sp.	5–26
<i>T.vaginalis</i>	1–20
<i>Adenoviruses</i>	2–4
<i>Herpes simplex virus</i>	2–3

лечение инфицированных лиц представляется обоснованным [11].

В эпидемиологических исследованиях установлено, что чаще речь идёт о бессимптомном или подостром течении уретрита, характеризующемся «утренней каплей», чувством зуда и дискомфорта. Возможно, микоплазменная инфекция играет определённую роль в развитии простатовезикулита и эпидидимита и инициирует пусковой механизм в патогенезе болезни Рейтера. К сожалению, в последние годы основательных исследований в этом направлении не проводилось.

Выявляемость наиболее распространённых патогенных микроорганизмов, выделенных от больных с НГУ, представлена в табл. 2 [12].

M.hominis и *U.urealyticum* могут в значительной степени определять неблагоприятные исходы беременности в тех случаях, когда присутствуют в верхнем, а не в нижнем отделе половых путей женщины, и усугублять риск преждевременных родов и летального исхода при рождении детей с очень низкой массой тела [3].

Уреаплазменная инфекция нередко активизируется во время беременности и может явиться причиной преждевременных родов и септических спонтанных аборт. В этих случаях *U.urealyticum* обнаруживают в организме плода и мёртворождённых детей. Однако ни одно из наблюдений пока не даёт однозначного ответа на вопрос, происходит ли гибель плода вследствие колонизации микоплазмами или он погибает по другой причине, с последующим внедрением микоплазм в мёртвую ткань.

Заболевания, ассоциированные с генитальными микоплазмами, представлены в табл. 3 [13].

Таким образом, генитальные микоплазмы, включая *M.hominis* и *U.urealyticum*, находятся во влагалищной среде у 70–80% сексуально активных женщин [14]. Хотя большинство *M.hominis* и *U.urealyticum* инфекции являются бессимптомными, эти инфекции связаны с повышенным риском неблагоприятных исходов беременности, таких как выкидыши, мёртворождения и преждевременные роды. *M.hominis* связаны с такими состояниями, как эндометрит и преждевременные роды, в то время как *U.urealyticum* может вызвать хориоамнионит, спонтанный аборт, мертворождения, преждевременные роды и другую патологию беременности [15].

Эпидемиологические исследования обнаружили высокую распространённость бактерий *Ureaplasma* spp. и *M.hominis* в популяции, не имеющей других заболеваний. При этом наличие бактерий *U.urealyticum*, *U.parvum* и *M.hominis* все чаще связаны с неблагоприятными исходами беременности: спонтанными преждевременными родами, преждевременным разрывом плодных оболочек, выкидышами, мёртворождением или низкой массой при рождении [16].

Способность *Ureaplasma* spp. и *M.hominis* вызывать пневмонию, бактериемию и менингит у новорождённых уже не может быть поставлена под сомнение. Существует убедительные доказательства того, что уреаплазмы вызывают воспалительную реакцию в матке, что может привести к хориоамниониту и хроническому поражению лёгких у новорождённых [17].

Наличие мощных молекулярных диагностических инструментов в дополнение к культуральному исследованию для обнаружения и определения характеристик уреаплазмы в клинических образцах позволило обнаружить два *Ureaplasma* биовара как отдельные виды, но необходимы дополнительные усилия, чтобы установить, есть ли дифференциальная патогенность между *Ureaplasma* spp. Роль *Ureaplasma* spp. при преждевременных родах, заболеваемость, связанная с генитальными микоплазмами при системных заболеваниях у новорождённых, а также взаимосвязь иммунного

Таблица 3. Заболевания, ассоциированные с генитальными микоплазмами [13]

Заболевание	<i>Ureaplasma</i> spp.	<i>M.hominis</i>	<i>M.genitalium</i>
Уретрит у мужчин	+	—	+
Простатит	±	—	±
Эпидидимит	±	—	—
Пиелонефрит	±	+	—
Бактериальный вагиноз	±	±	—
Цервицит	—	—	+
ВЗОМТ	—	+	+
Бесплодие	±	—	±
Хориоамнионит	+	±	—
Спонтанный аборт	+	±	—
Низкая масса тела ребенка	+	—	—
Гипотрофия плода	±	—	—
Послеродовая лихорадка	+	+	—

Таблица 4. Результаты обследования образцов ($n=1256$) эякулята пациентов с нарушением фертильности [18]

Микроорганизм	Количество образцов	Относительное содержание, %	Азооспермия	Инфертильные пациенты, %
<i>Enterococcus faecalis</i>	79	32,1	9	77,1
<i>Escherichia coli</i>	50	20,3	4	67,4
<i>Streptococcus agalactiae</i>	33	13,4	—	48,5
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	29	11,8	1	85,7
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	24	9,7	—	75
<i>Streptococcus anginosus</i>	23	9,3	2	66,6
<i>Morganella morganii</i>	8	3,2	—	87,5

статуса организма-хозяина для успешной терапии требует дальнейшего изучения.

Современная парадигма заключает, что *M.hominis* и *U.urealyticum* у женщин связаны с повышенным риском неблагоприятных исходов беременности, таких как выкидыши, мёртворождения и преждевременные роды. При этом у мужчин, эти инфекции не всегда проявляют себя клинически и симптоматически. В случае беременности очевидно, что женщин инфицируют их половые партнеры — мужчины. Таким образом, необходимо тестирование обоих партнеров перед предстоящим зачатием. Необходимо обследование мужчин на весь спектр урогенитальных инфекций для предотвращения инфицирования любым инфектом для профилактики нарушений репродуктивного здоровья у женщин.

В Китае была изучена взаимосвязь между микоплазменной инфекцией (*M.hominis*, *U.urealyticum*) и бесплодием у мужчин среди амбулаторных больных. Эпидемиологические данные, включая распространённость, распределение по возрасту и антибактериальный профиль резистентности больных с *U.urealyticum* или *M.hominis* инфекцией были собраны в период между 2009 и 2012 годами. Среди 7 тыс. обследованных мужчин, 3225 пациентов (43,7%) оказались инфицированными *U.urealyticum*, *M.hominis* и даже обеими микоплазмами. Среди положительных культур *U.urealyticum* был обнаружен наиболее часто, в то время как наличие *M.hominis* было достаточно редким [18].

Большой интерес у специалистов — репродуктологов вызывают исследования, посвящённые изучению различных показателей спермограммы при наличии инфекции или при её отсутствии. Так, E. Moretti и соавт. исследовали 1256 образцов эякулята пациентов с нарушением фертильности и обнаружили бактериальную контаминацию в 417 (33,2%) образцах (табл. 4). Идентификацию бактериальных культур проводили в 246 образцах, контрольная группа составила 20 человек [19].

J. Shi и соавт. выявили наличие перекрёстных антигенов между сперматозоидами и уреоплазмами, и в связи с этим авторы предполагают, что провоцируется образование антиспермальных антител [20]. В другом китайском исследовании Т. Wu и соавт. полагают, что *U.urealyticum* прикрепляется к рецепторам сперматозоидов, которые принимают участие в прикреплении к мембране ооцита и тем самым блокируют оплодотворение

[21]. X. Y. Xia и соавт. указывают на нарушение целостности мембран сперматозоидов [22]. Имеются единичные сведения, что нарушается акросомная реакция (меняется количество действующих акросом) при инкубации с *U.urealyticum* [23].

Однако в настоящее время пока отсутствует чёткое понимание о патогенном механизме влияния *U.urealyticum* на сперматогенез, и научная дискуссия по данной проблеме продолжается.

Частота *M.genitalium* была значительно выше у 165 бесплодных мужчин по сравнению с 165 мужчинами, имеющими детей (9,7 против 1,2%, $p=0,001$). Инфицированных индивидуумов исследуемой группы лечили антибиотиком (доксикалин 100 мг дважды в день в течение 7 дней). После лечения большинство параметров спермы были улучшены. Жёны ранее инфицированных бесплодных мужчин (43,8%) забеременели через 4 мес. после завершения лечения [24].

Следует признать, что в последние годы наблюдается неуклонная тенденция к ассоциации возбудителей ИППП, возникновению сочетанных инфекций, что, несомненно, существенно ухудшает течение и прогноз заболевания. Наиболее вероятной причиной формирования коинфекций является неэффективность антибактериальной терапии. Неправильный выбор препарата, его дозы, несоблюдение больным режима приёма, что, как правило, приводят лишь к стиханию острых симптомов и развитию хронического процесса [25]. Кроме этого, вероятны снижение чувствительности возбудителей к химиотерапии, мутации с формированием резистентных штаммов, устаревшие, малоинформативные методы диагностики [26], в том числе у полового партнёра и т. д.

По данным многих авторов, хламидии, вирусы, уреа- и микоплазмы практически не встречаются в качестве моновозбудителей воспалительных заболеваний гениталий, а, как правило, входят в состав сложных микробных ассоциаций. Так, в Москве микст-формы выявлены в 52% случаев, из них более трети (34,3%) имели сочетание 3 и более возбудителей. Общая распространённость урогенитального хламидиоза среди популяции больных с воспалительными заболеваниями гениталий составила 23,1%, уреа- и (или) микоплазмоза — 11,5%, вирусных поражений — 3,2%, кандидоз половых органов отмечен в 33,1% случаев [27].

Для сравнения, в недавнем исследовании в Южной Корее среди женщин, обратившихся с жа-

лобами, мультиплексный ПЦР-анализ выявил, что 91,7% с *T.vaginalis* были инфицированы 2 и более патогенами; *M.hominis* была на 1-м месте, за ней следовали *U.urealyticum* и *Chlamydia trachomatis* [28].

В Японии 424 мужчины с симптомами острого уретрита были обследованы при помощи ДНК-диагностики уретральных мазков и проб мочи. Гонорея (*Neisseria gonorrhoeae*) была выявлена у 127 (30,0%). Из 297 мужчин с НГУ, *C.trachomatis* выявлена у 143 (48,1%). У 154 лиц с нехламидийным, негонококковым уретритом были выявлены: *M.genitalium* (22,7%), *M.hominis* (5,8%), *U.parvum* (9,1%), *U.urealyticum* (19,5%), *H.influenzae* (14,3%), *Neisseria meningitidis* (3,9%), *T.vaginalis* (1,3%), *Human adenovirus* (16,2%), *Herpes simplex* 1 типа (7,1%) и 2 типа (2,6%). Авторы заключают, что у мужчин с негонококковым уретритом на основе демографических и клинических данных трудно понять микробиологическое разнообразие негонококкового уретрита, но это необходимо для управления пациентов с негонококковым уретритом в соответствии с этиологическим агентом [29].

Таким образом, анализ существующих тенденций, причём в разных регионах мира свидетельствует, что значительная часть инфекционной патологии урогенитального тракта является сочетанной. Поэтому в случаях предполагаемого наличия коинфекции диагностика должна носить комплексный характер.

Согласно современным отечественным клиническим рекомендациям (РОДВК), показаниями к обследованию на *U.urealyticum* и *M.hominis* являются:

- наличие клинико-лабораторных признаков воспалительного процесса в области урогенитального тракта при отсутствии патогенных возбудителей ИППП;

При отсутствии клинических проявлений обследованию подлежат:

- пациенты с диагнозом «бесплодие»;
- пациенты, имеющие в анамнезе невынашивание беременности и перинатальные потери;
- доноры спермы [10].

С позиций доказательной медицины применение биологических, химических и алиментарных провокаций с целью повышения эффективности диагностики заболеваний, вызванных *U.urealyticum* и *M.hominis* нецелесообразно [10].

Учитывая высокую распространённость микоплазм в нижних отделах мочеполовой системы у практически здоровых лиц репродуктивного возраста, а также неуточнённости их истинного этиологического значения, проведение скринингового обследования на генитальные микоплазмы нецелесообразно [10].

Лабораторная диагностика является одним из ключевых факторов контроля над распространением ИППП на территории Российской Федерации. Установление точного этиологического диагноза и

назначение адекватного лечения без лабораторного подтверждения не представляется возможным.

Современная лабораторная база располагает обширным арсеналом общеизвестных и инновационных технологий, которые могут быть с успехом использованы для диагностики ИППП. Из перечня проводимых диагностических исследований ИППП необходимо исключить рутинные, малоинформативные и несоответствующие современным требованиям методы и включать современные высокотехнологичные методы, обладающие высокой чувствительностью и специфичностью.

В настоящее время приоритетными в диагностике ИППП являются прямые методы исследования. Выявление возбудителя или его генетического материала служит абсолютным подтверждением окончательного диагноза.

Отсутствие чётких морфологических характеристик, а также полиморфизм, присущий всему семейству микоплазм, исключает возможность идентификации возбудителя (*M.hominis* и *U.urealyticum*) в мазках от больных, поэтому микроскопический метод не используется.

Однако микроскопическое исследование клинического материала из уретры, влагалища и цервикального канала позволяет определить прежде всего:

- оценки состояния эпителия уретры, влагалища, цервикального канала;
- оценки степени лейкоцитарной реакции;
- исключения сопутствующих ИППП (гонококковая инфекция, урогенитальный трихомониаз);
- оценки состояния микробиоценоза влагалища [10].

Для выявления микоплазменной инфекции (*M.hominis* и *U.urealyticum*) применимы количественный (культуральный метод на плотных и жидких питательных средах) и качественный (полимеразная цепная реакция и другие способы амплификации ДНК и РНК) методы лабораторной диагностики с использованием тест-систем, разрешённых к медицинскому применению в РФ и культуральное исследование.

Другие методы лабораторных исследований, в том числе прямая иммунофлуоресценция (ПИФ), иммуноферментный анализ (ИФА) для обнаружения антител к *U.urealyticum* и *M.hominis* недопустимо использовать для диагностики заболеваний, вызванных *U.urealyticum* и *M.hominis* [10].

Таким образом, крайне важно использовать только достоверные и регламентирующие методы лабораторной диагностики для выявления ИППП. Предпочтение в диагностике ИППП отдаётся современным прямым методам исследования.

Необходимо лечить не сомнительные результаты лабораторных анализов, а только больного человека при выявлении у него патогенных микроорганизмов достоверными и регламентирующими методами лабораторной диагностики ИППП.

В настоящее время правомерна формулировка диагноза с учётом 2 рубрик: 1-я соответствует локализации воспалительного процесса, а 2-я — B96.8 (другие бактериальные агенты как причина болезней, классифицированных в других рубриках). Пример: N34 +B96.8 Уретрит, вызванный *Ureaplasma* spp. и/или *M.hominis*.

Большинство исследователей считают, что критериями назначения этиологической терапии при выявлении генитальных микоплазм (*M.hominis* и *U.urealyticum*) являются:

- клинические и лабораторные признаки воспалительного процесса в органах мочеполовой системы;
- результаты комплексного микробиологического обследования на наличие патогенных и условно-патогенных микроорганизмов с количественным обнаружением *M.hominis* и *U.urealyticum* $>10^4$ ЦОЕ/мл);
- предстоящие оперативные или другие инвазивные мероприятия на органах мочеполовой системы (гистероскопия, трансуретральная резекция, деструкция кондилом, введение внутриматочных контрацептивов, крио-, электро-, лазеротерапия эктопии шейки матки и др.).
- бесплодие, когда, кроме генитальных микоплазм, не установлено других его причин;
- оценка акушерско-гинекологического анамнеза, течения настоящей беременности [3, 4, 6, 10].

В Германии определяли чувствительность 290 изолятов *M.hominis* и 179 изолятов уреаплазмы, выделенных в 1983–2004 гг. к 11 антибактериальным препаратам. Доксициклин был самым активным тетрациклином с МИС₉₀ 1 и 8 мг/л для уреаплазмы и *M.hominis*, соответственно. Значительно более *M.hominis* изоляты (примерно 10–13%), чем уреаплазмы (примерно 1–3%) были устойчивы к тетрациклинам. Офлоксацин был эффективен против обоих видов ($>95\%$ восприимчивости). Ципрофлоксацин был умеренно активен в отношении *M.hominis* и менее активен в отношении уреаплазм (70,3 и 35,2% восприимчивости, соответственно). Кларитромицин и джозамицин были самыми мощными макролидами (МИС₉₀ из 0,5 мг/л) против уреаплазмы. Эритромицин имел самую низкую активность (МИС₉₀ 8 мг/л) против уреаплазмы, как и клиндамицин, который был самым мощным средством против *M.hominis*. Перекрёстная резистентность была обнаружена между тетрациклинами (53–93%), макролидами и эритромицином (70–100%), а также между эритромицином и ципрофлоксацином (43–55%). *M.hominis* стала более устойчива к тетрациклинам и фторхинолонам в период с 1989 по 2004 г., хотя было мало изменений в 2005–2008 гг. Доксициклин по-прежнему является препаратом первого выбора для лечения уреаплазменной инфекции и может быть использован для лечения совместной инфекции с *M.hominis* [30].

В Чехии женщины с репродуктивными проблемами были протестированы на *M.hominis* и *U.urealyticum* качественными и количественными лабораторными методами, включающие культуральное исследование и ПЦР. Противомикробную восприимчивость к азитромицину, ципрофлоксацину, доксициклину и эритромицину выделенных штаммов *M.hominis* и *U.urealyticum* также тестировали методом микродиффузии. *U.urealyticum* был обнаружен в образцах у 39,6% женщин, *M.hominis* — у 8,1%. Наиболее эффективным антибиотиком против обоих видов был доксициклин [31].

В Италии миграционные потоки из других стран вызывают изменения локального эпидемиологического профиля инфекционных заболеваний у пациентов врачей общей практики. Авторы оценили возможные различия в распространённости и антимикробной восприимчивости *U.urealyticum* и *M.hominis* в популяции 433 коренных итальянцев и иммигрантов — амбулаторных больных. Распространённость положительных образцов составила 44,5% у итальянских пациентов и 53,4% иммигрантов. Образцы, положительные для *U.urealyticum* и суммарных изолятов, были более частыми у африканских пациентов: *U.urealyticum*, 51,5 против 33,3%; ($p=0,046$); всего изолятов, 54,5 против 34,3% ($p=0,035$). Среди образцов, положительных для *U.urealyticum*, 66,4% были устойчивы к ципрофлоксацину, в то время как 27,6% к офлоксацину. Среди *M.hominis* изолятов, 66,7% были устойчивы к азитромицину и рокситромицину. Это итальянское исследование показало как распространённость генитальных микоплазм и профилей устойчивости к антибиотикам изменяются в зависимости от страны происхождения [32].

В недавнем обследовании 1761 беременной эти же авторы обнаружили при помощи мультитеплексной ПЦР общую распространённость: *U.parvum* — 38,3%, *U.urealyticum* — 9%, *M.hominis* — 8,6% и *M.genitalium* — 0,6%. Доля иностранных пациентов, положительных для *U.parvum*, была значительно выше по сравнению с итальянскими пациентками (37 против 30,1%, $p=0,007$), а также для общей микоплазменной колонизации (53,4 против 45,8%, $p=0,011$). Доля женщин с симптомами, положительными на *M.hominis*, была значительно выше, чем у бессимптомных (2,9 против 1%, $p=0,036$). Значительная положительная тенденция колонизации микоплазмами была обнаружена при увеличении срока беременности для *U.urealyticum* ($p=0,015$), *M.hominis* ($p=0,044$) и для общей микоплазменной колонизации ($p=0,002$) [33].

Распространённость *U.urealyticum*, *M.hominis* изучена у 965 пациентов с инфекцией половых путей в Шанхае в 2011–2014 гг. и проанализирована резистентность *U.urealyticum* и *M.hominis* для 12 видов противомикробных препаратов. Общая степень инфицирования за 4 года увеличилась. *U.ure-*

Таблица 5. Резистентность *Ureaplasma urealyticum* к антибиотикам (в % ко всем выделенным штаммам) [29–33]

Автор, год	Препарат				N
	Азитромицин	Джозамицин	Доксициклин	Офлоксацин	
Choi, 2012	12,9	0	6,5	54,8	126
Leli, 2012	0	0	0	27,6	433
Zhu, 2012	15,2	12	1,6	33	3306
Chang-tai, 2011	0	1,4	1,4	2,7	126
Farkas, 2011	12	Нет данных	4	21	4154
Bayraktar, 2010	22,2	0	0	85,2	100
Koh, 2009	6,7	0	6,7	4,8	Нет данных
Kechagia, 2008	8,1	0	0	18,2	147
Kilic, 2004	Нет данных	0	4,2	16,7	50

Таблица 6. Резистентность *M.hominis* к антибиотикам (в % ко всем выделенным штаммам) [29–33]

Автор, год	Препарат				N
	Азитромицин	Джозамицин	Доксициклин	Офлоксацин	
Dhawan, 2012	100	0	0	0	147
Leli, 2012	66,7	0	0	0	433
Zhu, 2012	86	5,3	1,8	47,4	3 306
Farkas, 2011	Нет данных	Нет данных	4	8	4154
Bayraktar, 2010	40	0	0	60	100
Krausse, 2010	98,6	3,4	10	10	469
Koh, 2009	100	0	0	0	Нет данных
Kechagia, 2008	80	0	0	20	369
Kilic, 2004	Нет данных	0	0	12,5	50

alyticum и *M.hominis* выявили относительно низкие показатели резистентности к миноциклину, доксициклину и джозамицину (6,5, 7,2, и 13,5%, соответственно). Однако для эритромицина, рокситромицина, тиамфеникола и клиндамицина показатели устойчивости были относительно высокими (41,9, 47,2, 62,3 и 74,9%, соответственно) [34].

Результаты исследований (сводные данные 33 исследований из 17 стран мира, 2006–2016 гг.) по резистентности *U.urealyticum* и *M.hominis* к антибиотикам представлены в табл. 5, 6 и на рис. 2 [29–33].

Таким образом, доксициклин по-прежнему является препаратом выбора для уреаплазменной инфекции, и одновременно эффективен в отношении *M.hominis*. Клиндамицин очень активен в отношении *M.hominis* и может использоваться в качестве альтернативы тетрациклам. Джозамицин рекомендуется, особенно у беременных женщин и новорождённых.

Определение чувствительности к антибиотикам следует проводить только при неэффективности терапии и рецидивировании воспалительного процесса [10].

Не обосновано назначение длительных или повторных курсов антибиотиков пациентам без клинических проявлений воспалительного процесса, только на основании обнаружения микоплазменной инфекции. Вызывает сомнение целесообразность применения иммуностимуляторов без выявленных иммунологических нарушений, а также местного лечения микоплазменной инфекции (*M.hominis* и *U.urealyticum*) [10].

Основные требования к результатам лечения — это разрешение клинических и лабораторных признаков воспаления. Эрадикация *M.hominis* и *U.urealyticum* не является требованием к результатам лечения [10].

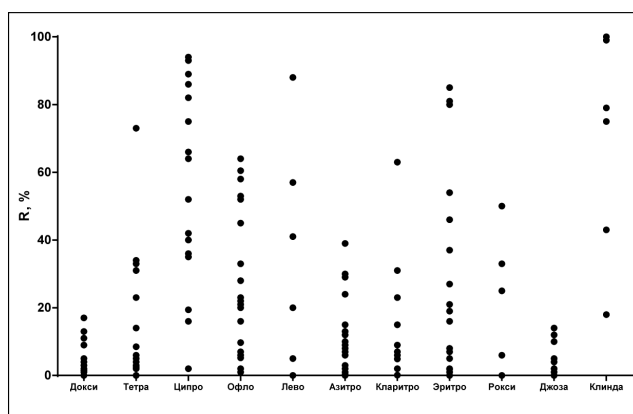


Рис. 2. Резистентность *Ureaplasma* spp. (в % от числа исследованных штаммов). Сводные данные 33 исследований из 17 стран мира, 2006–2016 г. [33].

Таким образом, микоплазменная инфекция (*M.hominis* и *U.urealyticum*) остаётся основной загадкой в урологии и дерматовенерологии. Наряду с доказательствами причинной роли инфекции у мужчин с НГУ и у женщин с ВЗОМТ остаются неясными реальные патогенетические и патофизиологические механизмы воздействия инфектов на организм-хозяин. Не определены медикаментозные режимы воздействия на микроорганизмы. Нет доказательной базы необходимости эрадикации инфектов, не определены группы пациентов, их клиническая характеристика и особенности воздействия антибактериальных препаратов разных групп.

В заключение, в настоящее время вопрос о микоплазменной инфекции (*M.hominis*, *U.urealyticum*) как моновозбудителя патологических процессов окончательно не решён, и дискуссия продолжается. Позиции отечественных и зару-

бежных исследователей по данной проблеме достаточно противоречивы. Точных доказательств этиологической роли микоплазм для многих, предположительно связанных с ними воспали-

тельных заболеваний, пока не установлены. Доксициклин и джозамицин являются препаратами выбора при наличии клинико-лабораторных признаков инфекционно-воспалительного процесса.

ЛИТЕРАТУРА

- Хрянин А.А., Решетников О.В. Рациональная терапия сочетанных урогенитальных инфекций: анализ существующих тенденций. Фарматека. — 2016. — № 12. С. 22–29. / Khryanin A.A., Reshetnikov O.V. Rational'naya terapiya sochetannykh urogenital'nykh infektsij: analiz sushchestvuyushchikh tendentsij. Farmateka 2016; 12: 22–29. [in Russian]
- Хрянин А.А. *Mycoplasma genitalium*: современное состояние проблемы. Рациональная фармакотерапия в урологии (Руководство для практикующих врачей), М.: Изд. Дом «Литтерра», 2005. — Т. 10. — С. 63–66. / Khryanin A.A. *Mycoplasma genitalium*: sovremennoe sostoyanie problemy. Rational'naya farmakoterapiya v urologii (Rukovodstvo dlya praktiku-yushchikh vrachej), M.: Izd. Dom «Litterra», 2005; 10: 63–66. [in Russian]
- Taylor-Robinson D. Genital mycoplasma infections. Clin Lab Med 1989; 9: 501–523.
- Хрянин А.А., Решетников О.В. Микоплазменная инфекция. М.: Медиа Пресс, 2011/ — 62 с. / Khryanin A.A., Reshetnikov O.V. Mikoplazmennaya infektsiya. M.: Media Press, 2011; 62. [in Russian]
- Wetmore C.M. *Ureaplasma urealyticum* is associated with nongonococcal urethritis among men with fewer lifetime sexual partners: A case-control study. J Infect Dis 2011; 204 (8): 1274–1282.
- Кисина В.И., Сидурский С.В., Фаттахетдинов Р.Ш., Ширишова Е.В. Сравнительная эффективность лечения негонекоккового уретрита у мужчин с помощью генетического и оригинального азитромицина. Клин. дерматол. и венерол. — 2008. — № 5. — С. 64–68. / Kisina V.I., Sidurskiy S.V., Fattyakhetdinov R.Sh., Shirshova E.V. Sravnitel'naya effektivnost' lecheniya negonokokkovogo uretrita u mužchin s pomoshch'yu geneticheskogo i original'nogo azitromitsina. Klin dermatol i venerol 2008; 5: 64–68. [in Russian]
- Povlsen K., Douglas J.M., Ragsdale F.M. Relationship of *U.urealyticum* biovar 2 to nongonococcal urethritis. Eur J Clin Microbiol Inf Dis 2002; 21 (2): 97–101.
- Horner P., Thomas B., Gilroy C.B. et al. Role of *M.genitalium* and *U.urealyticum* in acute and chronic nongonococcal urethritis. Clin Inf Dis 2001; 32 (7): 995–1003.
- Workowski K.A., Berman S. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines, 2010. MMWR Recomm Rep 2010; 59: RR 12: 1–10.
- Российское общество дерматовенерологов. Инфекции, передаваемые половым путем. Клинические рекомендации. Дерматовенерология. Под ред. А.А. Кубановой. М: ДЭКС-Пресс 2012. — 112 с. / Rossijskoe obshchestvo dermatovenerologov. Infektsii, peredavaemye polovym putem. Klinicheskie rekomendatsii. Dermatovenerologiya. Pod red. A.A. Kubanovoj. M: DEKS-Press 2012; 112. [in Russian]
- Ahmadi M.H., Mirsalehian A., Bahador A. Prevalence of Urogenital Mycoplasmas in Iran and Their Effects on Fertility Potential: A Systematic Review and Meta-Analysis. Iran J Public Health 2016; 45 (4): 409–422.
- 2016 European Guideline on the management of non-gonococcal urethritis. Horner P.J., Blee K., Falk L. et al. /http://www.iusti.org/regions/Europe/pdf/2013/Editorial_Board.pdf
- Waïtes K.B., Katz B., Schelonka R.L. Mycoplasmas and ureaplasmas as neonatal pathogens. Clinical Microbiology Reviews 2005; 18 (4): 757–789.
- Redelinghuys M.J., Ehlers M.M., Dreyer A.W. et al. Antimicrobial susceptibility patterns of *Ureaplasma species* and *Mycoplasma hominis* in pregnant women. BMC Infect Dis 2014; 14: 171.
- Stellrecht K.A., Woron A.M., Mishrik N.G., Venezia R.A. Comparison of multiplex PCR assay with culture for detection of genital mycoplasmas. J Clin Microbiol 2004; 42: 1528–1533.
- Пыдер А., Халдре М. Урогенитальный микоплазмоз и беременность. Акуш и гин. — 2017. — № 12. — С. 5–15. doi: <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2017.12.5-15>. / Pyder A., Khaldre M. Urogenital'nyj mikoplazmoz i beremennost'. Akush i gin 2017; 12: 5–15. doi: <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2017.12.5-15>. [in Russian]
- Novy M.J., Duffy L.B., Axthelm M. et al. *Ureaplasma parvum* or *Mycoplasma hominis* as sole pathogens cause chorioamnionitis, preterm delivery and fetal pneumonia in rhesus macaques. Reproductive Sciences 2009; 16: 56–70.
- Zhu X., Li M., Cao H., Yang X., Zhang C. Epidemiology of *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* in the semen of male outpatients with reproductive disorders. Exp Ther Med 2016; 12 (2): 1165–1170.
- Moretti E., Capitani S., Figura N., Pammolli A., Federico M.G., Giannerini V., Collodel G. The presence of bacteria species in semen and sperm quality. J Assist Reprod Genet 2009; 26 (1): 47–56.
- Shi J., Yang Z., Wang M., Cheng G., Li D., Wang Y., Zhou Y., Liu X., Xu C. Screening of an antigen target for immunoncontraceptives from cross-reactive antigens between human sperm and *Ureaplasma urealyticum*. Infect Immun 2007; 75 (4): 2004–2011.
- Wu T., Lu M., Hu Y., Guo Q., Xu C. Influence of *Ureaplasma urealyticum* infection on the sperm-egg binding associated molecule, sulfogalactosyl-glycerolipid. Zhonghua Nan Ke Xue 2004; 10 (9): 651–654.
- Xia X.Y., An L.M., Li W.W., Li K., Shao Y., Shang X.J., Yao B., Cui Y.X., Huang Y.F. *Ureaplasma urealyticum* infection affects sperm plasma membrane integrity in infertile men. Zhonghua Nan Ke Xue 2011; 17 (12): 1069–1072.
- Rose B.I., Scott B. Sperm motility, morphology, hyperactivation, and ionophore-induced acrosome reactions after overnight incubation with mycoplasmas. Fertil Steril 1994; 61 (2): 341–348.
- Ahmadi M.H., Mirsalehian A., Gilani M.A.S. et al. Improvement of semen parameters after antibiotic therapy in asymptomatic infertile men infected with *Mycoplasma genitalium*. Infection 2018; 46 (1): 31–38. doi: 10.1007/s15010-017-1075-3.
- Ветошкина Л.Н., Умерова А.Р., Дорфман И.П., Ткаченко Т.А. Взгляд клинического фармаколога на лечение урогенитальных инфекций. Русский медицинский журнал. — 2015. — № 19. — С. 1137–1141. / Vetosshkina L.N., Umerova A.R., Dorfman I.P., Tkachenko T.A. Vzglyad klinicheskogo farmakologa na lechenie urogenital'nykh infektsij. Russkij meditsinskij zhurnal 2015; 19: 1137–1141. [in Russian]
- Хрянин А.А., Решетников О.В., Кривенчук Н.А., Гушин А.Е., Алаева О.А. Хламидиоз у женщин: сопоставление разных методов диагностики, факторы риска и клинические проявления. Вестник дерматологии и венерологии. — 2006. — № 2. — С. 40–43. / Khryanin A.A., Reshetnikov O.V., Krivenchuk N.A., Gushchin A.E., Alaeva O.A. Khlamidioz u zhenshin: sopostavlenie raznykh metodov diagnostiki, faktory riska i klinicheskie proyavleniya. Vestnik dermatologii i venerologii 2006; 2: 40–43. [in Russian]
- Кира Е.Ф. Инфекции и репродуктивное здоровье. Журнал акушерства и женских болезней. — 1998. — № 3–4. — С. 71–78. / Kira E.F. Infektsii i reproduktivnoe zdorov'e. Zhurnal akusherstva i zhenskikh boleznej 1998; 3–4: 71–78. [in Russian]
- Goo Y.K., Shin W.S., Yang H.W. et al. Prevalence of *Trichomonas vaginalis* in women visiting 2 obstetrics and gynecology clinics in Daegu, South Korea. Korean J Parasitol 2016; 54 (1): 75–80. doi: 10.3347/kjp.2016.54.1.75.
- Ito S., Hanaoka N., Shimuta K. et al. Male non-gonococcal urethritis: From microbiological etiologies to demographic and clinical features. Int J Urol 2016; 23 (4): 325–331.
- Krausse R., Schubert S. In-vitro activities of tetracyclines, macrolides, fluoroquinolones and clindamycin against *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma ssp.* isolated in Germany over 20 years. Clin Microbiol Infect 2010; 16: 1649–1655.
- Sleha R., Boštková V., Hampl R. et al. Prevalence of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in women undergoing an initial infertility evaluation. Epidemiol Mikrobiol Immunol 2016; 65 (4): 232–237.
- Leli C., Mencacci A., Bombaci J.C. et al. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* in a population of Italian and immigrant outpatients. Infez Med 2012; 20 (2): 82–87.
- Leli C., Mencacci A., Latino M.A. et al. Prevalence of cervical colonization by *Ureaplasma parvum*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* and *Mycoplasma genitalium* in childbearing age women by a commercially available multiplex real-time PCR: An Italian observational multicentre study. J Microbiol Immunol Infect 2018 Apr; 51 (2): 220–225. doi: 10.1016/j.jmii.2017.05.004.
- He M., Xie Y., Zhang R. et al. Prevalence and antimicrobial resistance of *Mycoplasmas* and *Chlamydiae* in patients with genital tract infections in Shanghai, China. J Infect Chemother 2016; 22 (8): 548–552. doi: 10.1016/j.jiac.2016.05.007.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Хрянин Алексей Алексеевич — д. м. н., профессор кафедры дерматовенерологии и косметологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, вице-президент РОО

«Ассоциация акушеров-гинекологов и дерматовенерологов», Новосибирск

Решетников Олег Вадимович — д. м. н., ведущий научный сотрудник НИИТПМ — филиал ИЦиГ СО РАН, Новосибирск

Изменения в статье: Вакцинопрофилактика взрослого населения против пневмококковой инфекции

Н. И. БРИКО, И. В. ФЕЛЬДБЛЮМ, А. В. БИКМИЕВА, С. Н. АВДЕЕВ, О. М. ДРАПКИНА,
Г. Л. ИГНАТОВА, И. В. ДЕМКО, А. В. ЖЕСТКОВ

АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ 2019; 64: 1–2

Старая редакция	Новая редакция
Стр. 40 Для проведения вакцинации против пневмококковой инфекции в России зарегистрированы и применяются две вакцины: 13-валентная пневмококковая конъюгированная вакцина (ПКВ13), применяемая у детей, начиная с двухмесячного возраста и 23-валентная пневмококковая полисахаридная вакцина (ППВ23) для лиц старше 2 лет. Многочисленными исследованиями доказаны хорошая переносимость и иммунологическая эффективность обеих вакцин, при этом было установлено, что полисахаридная вакцина обеспечивает более широкое покрытие серотипов <i>S.pneumoniae</i>, но не эффективна у детей младше 2 лет и иммунокомпрометированных лиц, также она не вырабатывает иммунологическую память и не оказывает влияния на уровень носительства <i>S.pneumoniae</i>. В отличие от ППВ 23, на введение ПКВ 13 вырабатывается достаточный иммунный ответ у детей двухмесячного возраста и сохраняется иммунологическая память, вакцина также эффективна в снижении носительства <i>S.pneumoniae</i> [6, 39].	Для проведения вакцинации против пневмококковой инфекции в России зарегистрированы и применяются две вакцины: 13-валентная пневмококковая конъюгированная вакцина (ПКВ13), применяемая у детей, начиная с двухмесячного возраста и далее без ограничения по возрасту, и 23-валентная пневмококковая полисахаридная вакцина (ППВ23) для лиц старше 2 лет. Многочисленными исследованиями доказаны хорошая переносимость и иммунологическая эффективность обеих вакцин, при этом было установлено, что полисахаридная вакцина обеспечивает более широкое покрытие серотипов <i>S.pneumoniae</i>, но не эффективна у детей младше 2 лет и иммунокомпрометированных лиц, сомнительная эффективность относительно пневмоний без бактериемии, также она не вырабатывает иммунологическую память и не оказывает влияния на уровень носительства <i>S.pneumoniae</i>. В отличие от ППВ 23, на введение ПКВ 13 вырабатывается достаточный иммунный ответ у детей двухмесячного возраста и сохраняется иммунологическая память, вакцина также эффективна в снижении носительства <i>S.pneumoniae</i> [6, 39].
Стр. 41 Иммунокомпрометированным пациентам любого возраста, ранее не получавшим иммунизации против пневмококковой инфекции, рекомендуется последовательное введение вакцин ПКВ13 и ППВ23 с интервалом не менее чем 8 нед., через 5 лет вводится ревакцинирующая доза ППВ23. Если пациенты ранее получали ППВ23, им не ранее, чем через 1 год с момента последней вакцинации ППВ23, рекомендуется однократное введение конъюгированной вакцины (ПКВ13) с последующей ревакцинацией через 5 лет ППВ23 от предшествующего введения ППВ23. Вакцинация пациентов, страдающих ВИЧ-инфекцией, проводится на любой стадии заболевания, независимо от уровня CD4-клеток. Наибольший эффект от вакцинации наблюдается при иммунизации на ранней стадии заболевания [40].	Иммунокомпрометированным пациентам любого возраста, ранее не получавшим иммунизации против пневмококковой инфекции, рекомендуется последовательное введение вакцин ПКВ13 и ППВ23 с интервалом не менее чем 8 нед., через 5 лет вводится ревакцинирующая доза ППВ23. Если пациенты ранее получали ППВ23, им не ранее, чем через 1 год с момента последней вакцинации ППВ23, рекомендуется однократное введение конъюгированной вакцины (ПКВ13) с последующей ревакцинацией через 5 лет ППВ23 от предшествующего введения ППВ23. Вакцинация пациентов, страдающих ВИЧ-инфекцией, проводится на любой стадии заболевания, независимо от уровня CD4-клеток. Наибольший эффект от вакцинации наблюдается при иммунизации на ранней стадии заболевания.
Стр. 41 Иммунокомпетентным лицам в возрасте от 18 до 64 лет, являющихся курильщиками или страдающих алкоголизмом, имеющим профессиональные вредности для дыхательной системы (сварщики, пыль, мука и др.), медицинским работникам, а также лицам, направляемым и находящимся в организованных коллективах как специальных условиях пребывания: призывникам, лицам работающим вахтовым методом, находящимся в местах заключения, пребывающим в социальных учреждениях (домах инвалидов, домах сестринского ухода, интернатах и т. д.), рекомендуется однократная иммунизация ППВ23; реконвалесцентам острого среднего отита, менингита, пневмонии рекомендуется однократная вакцинация ПКВ13; лицам подлежащим призыву на военную службу или при помещении их в специальные условия содержания заранее (за 1–2 мес.) вводят 1 дозу ППВ23; лицам страдающим хроническими заболеваниями лёгких (ХОБЛ, бронхиальная астма, эмфизема), сердца (ИБС, кардиомиопатия, сердечная недостаточность), сахарным диабетом, печени (в т. ч. цирроз), почек, как относящимся к группе иммунокомпетентных вводится ППВ23. Однако при наличии сочетанной патологии и признаков иммунологической компрометации им рекомендуется последовательное введение вакцин ПКВ13 и ППВ23 с интервалом не менее 1 года [41].	Иммунокомпетентным лицам в возрасте от 18 до 64 лет, являющихся курильщиками или страдающих алкоголизмом рекомендуется однократное введение ППВ23. Лицам в возрасте от 18 до 64 лет, имеющим профессиональные вредности для дыхательной системы (сварщики, пыль, мука и др.), медицинским работникам, а также лицам, направляемым и находящимся в организованных коллективах как специальных условиях пребывания: лицам работающим вахтовым методом, находящимся в местах заключения, пребывающим в социальных учреждениях (домах инвалидов, домах сестринского ухода, интернатах и т. д.), рекомендуется последовательная вакцинация: первое введение ПКВ13, через год — ППВ23; реконвалесцентам острого среднего отита, менингита, пневмонии рекомендуется однократная вакцинация ПКВ13; лицам подлежащим призыву на военную службу или при помещении их в специальные условия содержания заранее (за 1–2 мес.) вводят 1 дозу ППВ23; лицам страдающим хроническими заболеваниями лёгких (ХОБЛ, бронхиальная астма, эмфизема), сердца (ИБС, кардиомиопатия, сердечная недостаточность), сахарным диабетом, печени (в т. ч. цирроз), почек рекомендуется последовательное введение вакцин ПКВ13 и ППВ23 с интервалом не менее 1 года [40, 41].

ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РОЗАЦЕА

РОЗАМЕТ

метронидазол
крем 1%

КОМПЛЕКСНОЕ ДЕЙСТВИЕ:

- ◆ Антимикробное
- ◆ Антипаразитарное
- ◆ Противовоспалительное



РУ П N012373/01 от 23.07.2010



ООО «ЯДРАН», 119330 Москва, Ломоносовский пр-т, д. 38, офис VII
Тел.: +7 (499) 143 33 71. email: jadran@jgl.ru, www.jadran.ru

ИМЕЮТСЯ ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ. НЕОБХОДИМО
ОЗНАКОМИТЬСЯ С ИНСТРУКЦИЕЙ ПО ПРИМЕНЕНИЮ



Интеллект
на защите здоровья

НАУЧНО- ТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ФИРМА



ОДИН ИЗ КРУПНЕЙШИХ
РОССИЙСКИХ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Компания «ПОЛИСАН» – это:

- Оригинальные лекарственные препараты
- Производство фармацевтических субстанций
- Премии правительства РФ в области науки и техники
- Производство по стандартам GMP
- География: РФ, СНГ, Юго-Восточная Азия, Латинская Америка
- Более 25 лет на фармацевтическом рынке



polysan.ru

Реклама