

ISSN 0235-2990

АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

Том 59



1-2'2014

Научно-практический журнал

офлоксацин 1% + метилурацил 4% + лидокаин 3%

ОФЛОМЕЛИД®

Антибактериальная, противовоспалительная,
заживляющая и местноанестезирующая
мазь для лечения ран и ожогов
на полиэтиленоксидной гидрофильной основе



Формы выпуска:



В тубах по 30 г, 50 г, 100 г



В банках полимерных по 200 г, 400 г



В банках оранжевого стекла по 1000 г



Заживёт
быстро!



- Для современного эффективного лечения ран и ожогов
- Высокий обезболивающий и дегидратирующий эффекты
- Мазь на водорастворимой основе



Подтвержденная эффективность в клинических исследованиях, проведенных в НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского (Москва) и ФГУ «Институт хирургии им. А.В. Вишневского» (Москва).

www.oflomelid.ru



ОАО «Акционерное Курганское общество медицинских препаратов и изделий «СИНТЕЗ»

Тел.: (3522) 48-16-89; 48-12-67 Факс: (3522) 48-16-14; 48-19-77

E-mail: real@kurgansintez.ru

www.kurgansintez.ru

Учредители:

Министерство здравоохранения
Российской Федерации

Государственный научный
центр по антибиотикам

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

«Antibiotics and Chemotherapy»
Published 12 times a year
Founded in 1956

АДРЕС РЕДАКЦИИ:

117105 Москва, Нагатинская ул., д. 3а,
ГНЦА
Тел.: 8-499-611-20-77
Факс: 8-499-611-42-38
E-mail: journalgnca@yandex.ru
Зав. редакцией Л. Б. Смирнова
Корректор: А. Н. Лобусева

ОТДЕЛ РЕКЛАМЫ:

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

ИЗДАТЕЛЬ:

Издательство «ОКИ»



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. № 01110694 от 25 мая 1993 г.

Установочный тираж 5000 экз.

© ГНЦА 2013

Типография:

ООО «Новелла»

Дата выхода: 16.04.2014

Свободная цена

АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

ANTIBIOTICS AND CHEMOTHERAPY

Том 59

1—2'2014

ЕЖЕМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ
MONTHLY JOURNAL

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

Зам. главного редактора — к. м. н. Буданов С. В.
Отв. секретарь — к. м. н. Гучев И. А.
Отв. за выпуск — Белоусов Д. Ю.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Член-корр РАМН, проф., д. м. н. Белоусов Ю. Б.
Проф., д. м. н. Белобородов В. А.
Проф. Говорун В. М.
Проф. Гомберг М. А.
Д. б. н. Даниленко В. Н.
Проф. Клишко Н. Н.
Акад. РАМН, проф., д. м. н. Лобзин Ю. В.
Проф., д. м. н. Никитин А. В.
Проф., д. х. н. Преображенская М. Н.
Проф. Руднов В. А.
Проф. Тишков В. Н.
Проф., д. б. н. Фирсов А. А.
Проф., д. м. н. Яковлев С. В.
Проф. Яроцкий С. В.

Научные редакторы
к.м.н. Кузнецова С. М.
к.б.н. Белявская И. В.

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

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

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

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

Оригинальные статьи

Логонова С. Я., Борисевич С. В., Русинов В. Л., Уломский У. Н., Чарушин В. Н., Чупахин О. Н.
Изучение противовирусной активности триазавирина в отношении возбудителя клещевого энцефалита в культуре клеток
Кулапина О. И., Вострикова А. М.
Экспрессное определение цефалексина в биосредах
Мальдов Д. Г., Галегов Г. А., Андронова В. Л., Ильичев А. В., Бельков А. П.
Действие препарата Стимфорте на основные проявления воспаления при заражении экспериментальных животных вирусом простого герпеса 1

В помощь практикующему врачу

Блатун Л. А., Терехова Р. П.
Мазь Офломелид: активность в отношении госпитальных штаммов микроорганизмов
Соколова В. И., Санадзе А. Г., Сычев Д. А., Бабарина М. Б., Зайков Д. А.
Основные принципы лечения бронхолегочной инфекции у больных миастенией
Ербаская А. В., Иванова В. В., Говорова Л. В., Белова В. В., Буловская Л. Н.
Эффективность действия антибиотиков у детей при ОРИ, осложнённых пневмониями, в условиях Крайнего Севера в зависимости от типа ацетилирования
Ло Скиаво Л. А., Гончар Н. В., Суворов А. Н., Шабалов Н. П., Григорьев С. Г.
Значение использования пробиотика в снижении частоты инфекционных осложнений у недоношенных детей

Обзоры

Булгакова В. Г., Виноградова К. А., Орлова Т. И., Кожевин П. А., Полин А. Н.
Действие антибиотиков как сигнальных молекул
Никитин А. В.
Механизмы нефротоксического действия иммунодепрессантов — ингибиторов кальцинейрина

Original Papers

- 3 Loginova S. Ya., Borisevich S. V., Rusinov V. L., Ulomsky U. N., Charushin V. N., Chupakhin O. N.
Investigation of Triazavirin Antiviral Activity Against Tick-Borne Encephalitis Pathogen in Cell Culture
- 6 Kulapina O. I., Vostrikova A. M.
Rapid Determination of Cephalexin in Biological Media
- 10 Maldov D. G., Galegov G. A., Andronova V. L., Ilichev A. V., Belkov A. P.
Stimforte Action on the Main Inflammation Characteristics in Experimental Animals Contaminated by *Herpes simplex-1*

Guidelines for Practitioners

- 15 Blatun L. A., Terekhova R. P.
Oflo-melid Ointment: Activity Against Hospital Microbial Strains
- 20 Sokolova V. I., Sanadze A. G., Sychev D. A., Babarina M. B., Zaykov D. A.
Treatment Approaches for Bronchopulmonary Infection in Myasthenia Gravis Patients
- 24 Erbasskaya A. V., Ivanova V. V., Govorova L. V., Belova V. V., Bulovskaya L. N.
Efficiency of Antibiotics in Children with Acute Respiratory Infection Complicated by Pneumonia Dependent on the Acetylation Type in the Far North Regions
- 30 Lo Schiavo L. A., Gonchar N. V., Suvorov A. N., Shabalov N. P., Grigoriev S. G.
Value of Probiotic in Reducing Frequency of Infectious Complications in Premature Infants

Reviews

- 36 Bulgakova V. G., Vinogradova K. A., Orlova T. I., Kozhevina P. A., Polin A. N.
Action of Antibiotics as Signalling Molecules
- 44 Nikitin A. V.
Mechanisms of Nephrotoxic Action of Immunodepressants, Calcineurine Inhibitors

По страницам журналов 48 Abstracts

* 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.

Изучение противовирусной активности триазавирина в отношении возбудителя клещевого энцефалита в культуре клеток

С. Я. ЛОГИНОВА¹, С. В. БОРИСЕВИЧ¹, В. Л. РУСИНОВ², У. Н. УЛОМСКИЙ², В. Н. ЧАРУШИН², О. Н. ЧУПАХИН²

¹ Научно-исследовательский центр «33 Центральный научно-исследовательский испытательный институт» Министерства обороны Российской Федерации, *Сергиев Посад*

² Уральский государственный технический университет им. первого Президента России Б. Н. Ельцина, *Екатеринбург*

Investigation of Triazavirin Antiviral Activity Against Tick-Borne Encephalitis Pathogen in Cell Culture

S. YA. LOGINOVA, S. V. BORISEVICH, V. L. RUSINOV, U. N. ULOMSKY, V. N. CHARUSHIN, O. N. CHUPAKHIN

Central Research Institute No. 33, Ministry of Defense of the Russian Federation, *Sergiev Posad*
B. N. Eltsin Urals State Technical University, *Ekaterinburg*

Проведённый сравнительный анализ эффективности Триазавирина в отношении вируса клещевого энцефалита в чувствительной культуре клеток и эффективного лекарственного препарата Рибавирина® показал, что исследуемый препарат в концентрации 128 мкг/мл эффективно подавляет репродукцию вируса клещевого энцефалита, штамм Софьин (по накоплению в культуре клеток СПЭВ).

Ключевые слова: клещевой энцефалит, Триазавирин, Рибавирин®, противовирусная эффективность, культура клеток.

The efficacy of Triazavirin against the tick-borne encephalitis virus was estimated in the sensitive cell culture vs. the active drug Ribavirin®. In a concentration of 128 mcg/ml Triazavirin was shown active in inhibition of the tick-borne encephalitis virus reproduction (strain Sofiin) by accumulation in the SKEV cell culture.

Key words: tick-borne encephalitis, Triazavirin, Ribavirin®, antiviral efficacy, cell culture.

Клещевой энцефалит (КЭ) по эпидемической значимости для большинства регионов России, тяжести течения инфекции и летальности занимает существенное место среди природно-очаговых вирусных инфекций [1, 2].

В настоящее время эпидемиологическая обстановка в отношении КЭ в Российской Федерации остаётся неблагоприятной. Наблюдается расширение нозоареала инфекции в Сибири, на Урале, в Волго-Вятском районе, а также в Северной Европе. За последние 10 лет ежегодно регистрируется от 5163 до 10298 случаев заболевания. За последние 15–20 лет изменилась структура заболеваемости. До 80% больных КЭ составляют невакцинированные городские жители [3]. Таким образом, профессиональный фактор в определении группы риска утратил ведущее значение. Территориально большинство регионов России являются эндемичными в отношении КЭ [4].

Специфическая профилактика КЭ, основанная на вакцинации групп риска, является одним

из важных средств защиты против этого заболевания [5]. Однако необходимость многократной вакцинации, наличие тенденции к неконтролируемому расширению групп риска и опасность возникновения аллергических реакций и тяжёлых поствакцинальных осложнений, в том числе демиелинизирующего энцефалита, наличие значительной иммунодефицитной прослойки населения являются практически неустраняемыми недостатками системы специфической профилактики КЭ.

Первым этапом лабораторного изучения противовирусной эффективности препаратов являются исследования, проводимые с использованием культур клеток [6–8].

Целью представленной работы являлась оценка эффективности Триазавирина *in vitro* в отношении вируса клещевого энцефалита. Основой данных исследований является оценка влияния изучаемого препарата на репродукцию вируса в культуре клеток.

Материал и методы

Вирус. В работе использовали вирус клещевого энцефалита, штамм Софьин. Штамм хранится в Специализированной коллекции НИЦ ФГКУ «33 ЦНИИИ» МО РФ.

© Коллектив авторов, 2014

Адрес для корреспонденции: 141306 Московская обл., Сергиев Посад-6. Центральный научно-исследовательский испытательный институт

Изучение влияния Триазавирина на репродукцию вируса клещевого энцефалита в культуре клеток СПЭВ

Препарат	Доза препарата, мкг/мл	Уровень накопления вируса, lg БОЕ/мл	Подавление репродукции вируса	
			Δ , lg	%
Триазавирин	128	2,9±0,1	2,3±0,1	99,50
	64	3,5±0,2	1,7±0,2	98,00
	1	4,0±0,1	1,2±0,1	93,30
	0,5	4,5±0,1	0,7±0,1	80,30
	100	2,0±0,2	3,2±0,2	99,99
Рибавирин®	100	2,0±0,2	3,2±0,2	99,99
Контроль (без препарата)		5,2±0,2	—	—

Культура клеток. Использована постоянная культура клеток почек свиньи — СПЭВ. В качестве ростовой среды и среды поддержания использовали полусинтетическую среду (ПС-4) на растворе Хенкса, содержащую 7,5 и 2% сыворотки крупного рогатого скота, соответственно.

Исследуемый препарат. Исследуемый препарат Триазавирин синтезирован специалистами ИОС Уральского отделения РАН, г. Екатеринбург, Россия.

Контрольный препарат. Рибавирин® — производства ЗАО «ВЕРОФАРМ», Россия.

Противовирусную эффективность препаратов *in vitro* оценивали по следующим показателям:

- коэффициент ингибирования (Ки, %);
- подавление репродукции вируса, (Δ , lg).

Оценка противовирусной эффективности используемых лекарственных препаратов осуществлена в соответствии с требованиями МЗ РФ [9].

Результаты и обсуждение

Изучение противовирусных препаратов в культуре клеток складывается из нескольких этапов: оценки токсичности соединения для культуры клеток и определения уровня подавления репродукции вируса. Показателем токсичности соединения для культуры клеток служит показатель максимально переносимой концентрации (МПК), который составляет 1/2 максимальной концентрации препарата, не оказывающей на клетки токсичного действия (по данным прижизненного морфологического исследования). Изучение эффективности Триазавирина проводили в концентрациях, соответствующих МПК и ниже.

Вирус клещевого энцефалита хорошо размножается только в культуре клеток СПЭВ [10]. Известно, что оптимальная множественность инфицирования культуры клеток при оценке противовирусной эффективности препаратов должна составлять от 0,01 до 0,0001 БОЕ/клетку [7, 8].

Величина инфицирующей дозы вируса клещевого энцефалита при оценке эффективности составляла 0,003 БОЕ/клетку. На каждую дозу препарата использовали не менее 5 пробирок с монослоем культуры клеток двухсуточного возраста. После адсорбции вируса в течение 60 мин при температуре от 36,5 до 37,5°C монослой трижды промывали питательной средой ПС-4 на растворе Хенкса, содержащей 2% сыворотки КРС и по 100 ЕД/мл пенициллина и стрептомицина,

затем вносили свежую среду. Для изучения противовирусной эффективности препараты вносили в поддерживающую среду через 1 ч после инфицирования и инкубировали в течение 48 ч при температуре от 36,5 до 37,5°C. По окончании инкубации проводили криодеструкцию клеток: трёхкратным быстрым замораживанием (в криостате при температуре минус 30°C) и быстрым оттаиванием (водяная баня при комнатной температуре). Уровень накопления возбудителя в исследуемых пробах определяли посредством титрования проб при использовании метода получения негативных колоний вируса в монослое культуры клеток СПЭВ под твёрдым агаровым покрытием.

Результаты изучения подавления репродукции вируса клещевого энцефалита, представленные в таблице, свидетельствуют о том, что Триазавирин в культуре клеток СПЭВ в концентрации, соответствующей максимально возможной концентрации (128 мкг/мл), эффективно подавляет репродукцию вируса клещевого энцефалита. Отмечено снижение уровня накопления вируса на 2,3 lg. При этом коэффициент ингибирования составил 99,5%. Показана зависимость уровня подавления репродукции вируса от концентрации препарата. При внесении Триазавирина в концентрации 0,5 мкг/мл (составляющей 1/256 МПК) в ростовую среду уровень ингибирования репродукции вируса клещевого энцефалита составил 80,3%.

Следовательно, Триазавирин в широком диапазоне концентраций эффективно подавляет репродукцию вируса клещевого энцефалита.

Следует отметить, что сравнительный анализ препарата сравнения Рибавирина® и Триазавирина показал сопоставимые показатели их противовирусной эффективности в отношении вируса клещевого энцефалита *in vitro*.

Таким образом, в опытах *in vitro* Триазавирин проявил высокую эффективность в отношении вируса клещевого энцефалита и может рассматриваться как перспективный препарат для профилактики и терапии инфекции, вызываемой этим возбудителем, после изучения его активности на адекватной модели с использованием лабораторных животных.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Коренберг Э.И., Ковалевский Ю.В.* Основные черты эко-эпидемиологии клещевого энцефалита. Материалы. круглого стола в рамках VI Российско-Итальянской науч. Конф. «Инфекционные болезни: диагностика, лечение, профилактика», 14–16 декабря 2000, С.-Пб.: 2000; 13–20.
2. *Болотин Е.И.* Анализ географических различий проявления клещевого энцефалита. *Паразитология* 1999; 33: 5: 369–375.
3. *Злобин В.И., Львов Д.К.* Современная эпидемиологическая обстановка и стратегия профилактики клещевого энцефалита. Материалы тезисов докладов Всероссийской научной конференции «Современные научные и прикладные аспекты клещевого энцефалита», 15–16 ноября 2007, М.:2007; 46–48.
4. Письмо Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека «О перечне территорий, эндемичных клещевому вирусному энцефалиту», № 01/1520-8-32 от 27.02.2008 г.
5. СП 3.1.3.2352-07 «Профилактика клещевого вирусного энцефалита». М.: 2008.
6. *Вотьяков В.И., Галегов Г.А., Бореко Е.И. и др.* Первичное изучение антивирусных свойств синтетических и природных соединений. Метод реком. Минск, 1986.
7. *Чижов Н.П., Еришов Ф.И., Индулен М.К.* Основы экспериментальной химиотерапии вирусных инфекций. Рига, 1988.
8. *Вотьяков В.И., Андреева О.И., Мишаева Н.П.* Оценка специфического действия антивирусных веществ при экспериментальных вирусных энцефалитах. Минск, 1986.
9. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: Минздрав РФ, 2005.
10. *Кравченко А.Т., Васильев В.Н.* Сравнительное изучение свойств двух штаммов вируса клещевого энцефалита в культуре тканей. *Вопр вирусол* 1960; 6: 649–653.

Экспрессное определение цефалексина в биосредах

О. И. КУЛАПИНА¹, А. М. ВОСТРИКОВА²

¹ Кафедра детских болезней Саратовского государственного медицинского университета им. В. И. Разумовского, Саратов

² Кафедра аналитической химии и химической экологии Саратовского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского, Саратов

Rapid Determination of Cephalexin in Biological Media

O. I. KULAPINA, A. M. VOSTRIKOVA

Department of Children Diseases, V. I. Razumovsky Saratov State Medical University, Saratov

Department of Analytical Chemistry and Chemical Ecology, N. G. Chernyshevsky Saratov State University, Saratov

Спектрофотометрическим методом изучена фармакокинетика цефалексина в лекарственных и биологических средах. Определены диапазоны линейности показателей содержания и пределы обнаружения цефалексина. Показаны возможности спектрофотометрического определения цефалексина в смешанной слюне и сыворотке крови. Выявлены оптимальные условия осаждения белков при анализе. Проведено определение цефалексина в жидкости ротовой полости больных с инфекцией верхних дыхательных путей.

Ключевые слова: цефалексин, водные среды, ротовая жидкость, сыворотка крови, спектрофотометрия.

The behavior of cephalexin in pharmaceutical and biological media was studied by spectrophotometric method. The ranges of linearity and the limits of cephalexin detection were determined. The possibilities of spectrophotometric cephalexin determination in mixed saliva and in blood serum were shown. Optimal conditions of proteins precipitation were revealed. Pharmacokinetic parameters of cephalexin in oral fluid of patients with sinusitis were determined.

Key words: cephalexin, aqueous media, oral fluid, saliva, blood serum, spectrophotometry.

Введение

Беталактамы (β-лактамы) — группа препаратов, которую объединяет наличие в структуре β-лактамного кольца. Механизм антибактериального действия этих антибиотиков заключается в блокировании конечной стадии синтеза стенки бактерий, в результате чего происходит лизис клетки, а также может возникнуть перекрестная аллергия у некоторых пациентов [1, 2]. Пенициллины, цефалоспорины и монобактамы чувствительны к гидролизующему действию особых ферментов — β-лактамаз, вырабатываемых рядом бактерий. С учётом высокой клинической эффективности и низкой токсичности β-лактамы антибиотиков составляют основу антимикробной химиотерапии на современном этапе, занимая ведущее место при лечении большинства инфекций [3, 4].

Цефалексин — цефалоспориновый антибиотик I поколения, обладает бактерицидным эффектом и широким спектром антибактериального действия. Цефалексин почти полностью всасывается в желудочно-кишечном тракте [1]. Для определения цефалексина в лекарственных

препаратах предложены спектрофотометрия [5–7], кинетическая спектрофотометрия [8–9], единичные работы посвящены спектрофлуориметрическому определению цефалексина в плазме крови, моче [10].

Слюнные железы и полость рта являются одной из зон возможного распределения лекарственных веществ. Ротовая жидкость стабилизирует значения отношения концентраций веществ к таковой в плазме крови [11].

Цель настоящего исследования заключалась в разработке экспрессных спектрофотометрических методик определения цефалексина в биологических средах практически здоровых лиц и больных с инфекцией верхних дыхательных путей.

Материал и методы

В качестве объектов исследования были выбраны смешанная слюна (жидкость ротовой полости — ЖРП) и сыворотка крови.

В работе использовали капсулы цефалексина (Неморфарм, Сербия), активное вещество — [6R-[6-альфа, 7-бета(R*)]]-7-[(аминофенилацетил)амино]-3-метил-8-оксо-5-тиа-1-азабицикло[4.2.0]окт-2-ен-карбоновая кислота, (C₁₆H₁₇N₃SO₄) (рис. 1).

Спектрофотометрические измерения проводили на спектрофотометре Shimadzu UV-1800, совмещённым с IBM PC, с использованием кювет из кварцевого стекла. Для измерения рН применяли рН — метр рХ-150Мп, погрешность измерения ± 0,01 рН. Для отделения белковых компонентов из биосред использовали центрифугу Wirowka MPW-6.

© О. И. Кулапина, А. М. Вострикова, 2014

Адрес для корреспонденции: 410012 г.Саратов, ул. Б.Казачья, 112. Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского

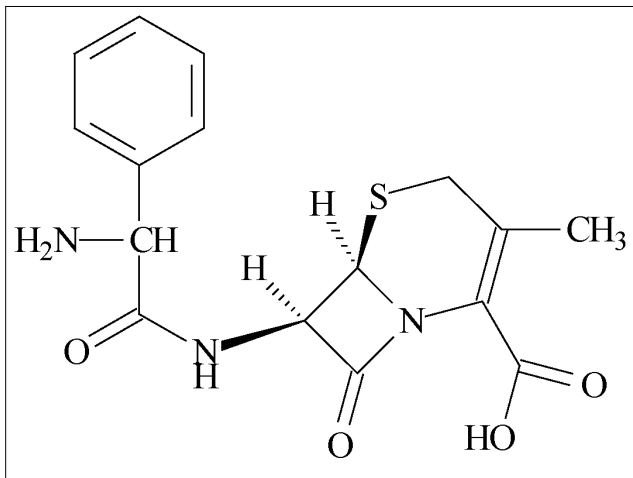


Рис. 1. Структурная формула цефалексина.

Раствор цефалексина 1 мг/мл готовили путём растворения навески 0,0276 г, содержащей 0,0250 г антибиотика (с учётом содержания основного вещества) в небольшом количестве дистиллированной воды с последующим фильтрованием. Промывали осадок на фильтре дистиллированной водой до 25 мл. Для отделения вспомогательных веществ можно рекомендовать также центрифугирование навески пробы в небольшом количестве дистиллированной воды с последующим промыванием осадка дистиллированной водой. Объём промывных вод вместе с объёмом исходной пробы ~ 25 мл. В дополнительных порциях промывных вод (на фильтре и при центрифугировании) полосы поглощения цефалексина отсутствуют. Раствор в концентрации 100 мкг/мл готовили разбавлением исходного.

В работе использовали ацетатные буферные растворы (рН 3-6), стандартный 0,1 М раствор хлористоводородной кислоты, 0,1 М раствор гидроксида натрия, 0,5% раствор сульфата цинка.

Методика спектрофотометрического определения цефалексина в ротовой жидкости и сыворотке крови.

Пробоподготовка ЖРП: отбор проб смешанной слюны практически здоровых лиц осуществляли путём сплевывания ротовой жидкости в чистые сухие полиэтиленовые пробирки. Пробы отбирали спустя 1–2 ч после приёма пищи, перед сбором ротовую полость ополаскивали водой.

Пробоподготовку проводили двумя способами:

I способ (механический): пробу ЖРП центрифугировали в течение 15 мин при 3500 об/мин; отбирали надосадочную жидкость, вносили добавки стандартных растворов антибиотика и помещали в кювету для измерения;

II способ (с осаждением белков): пробу ЖРП центрифугировали в течение 15 мин при 3500 об/мин. Затем к 7,5 мл пробы добавляли 0,5 мл гидроксида натрия ($c=0,12$ моль/л) и 2,5 мл сульфата цинка ($c=5,4$ г/л), нагревали на водяной бане в течение 10 мин. После осаждения белков отбирали надосадочную жидкость и снова центрифугировали 15 мин при 3500 об/мин.

Аналогичным образом отбирали и готовили пробы ротовой жидкости больных с инфекцией верхних дыхательных путей, принимающих цефалексин (использовали I способ).

Пробоподготовка сыворотки крови: пробу сыворотки крови центрифугировали в течение 15 мин при 3500 об/мин. Затем к 5 мл пробы добавляли 0,5 мл гидроксида натрия ($c=0,12$ моль/л) и 2,5 мл сульфата цинка ($c=5,4$ г/л). Нагревали на водяной бане в течение 10 мин. Отбирали надосадочную жидкость и снова центрифугировали 15 мин при 3500 об/мин.

Для приготовления серии растворов цефалексина (1–50 мкг/мл) на фоне ЖРП и сыворотки крови (после предвари-

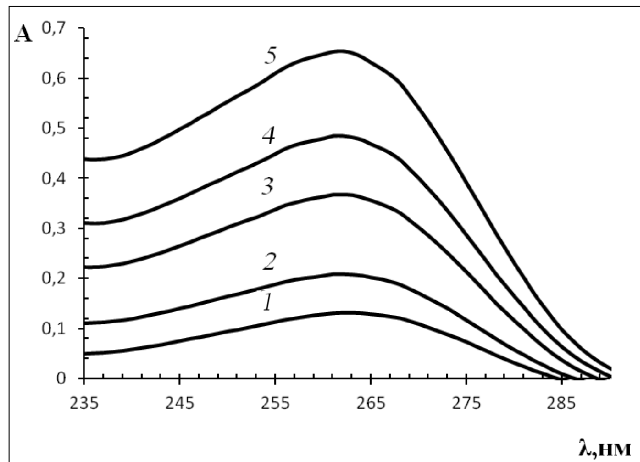


Рис. 2. Спектры поглощения свежеприготовленных водных растворов цефалексина при различных концентрациях: 1 – 10,0 мкг/мл; 2 – 16,7 мкг/мл; 3 – 26,7 мкг/мл; 4 – 33,3 мкг/мл; 5 – 43,3 мкг/мл; $\lambda_{\max}=262$ нм.

тельного осаждения белков), дозатором отбирали 0,03–0,5 мл раствора антибиотика ($c=100$ мкг/мл) и до 3 мл добавляли надосадочной жидкости биосред, растворы перемешивали и снимали спектры поглощения цефалексина относительно биосред без добавки антибиотика. Строили градуировочные графики в координатах оптическая плотность – концентрация цефалексина.

Исследования проведены для группы практически здоровых лиц ($n=6$, средний возраст 21 ± 2 года) и больных с инфекцией верхних дыхательных путей, принимающих два раза в сутки по 500 мг цефалексина. Фармакокинетические исследования проводили по пробам ЖРП, полученным через 2, 3, 4, 5, 6 и т. д. ч после перорального приёма больными 0,5 г цефалексина. Концентрацию цефалексина в жидкости ротовой полости определяли способом градуировочного графика. Статистическую обработку проводили согласно [12].

Результаты и обсуждение

Спектры поглощения водных растворов цефалексина при различных концентрациях приведены на рис. 2.

Показано, что λ_{\max} не различается для исследуемых растворов и соответствует 262 нм. Кислотность при всех концентрациях антибиотика не меняется и составляет рН $5,20 \pm 0,12$.

Для построения градуировочного графика снимали спектры поглощения водных растворов цефалексина различных концентраций; строили зависимость оптической плотности ($\lambda_{\max}=262$ нм) от концентрации водных растворов цефалексина.

Наблюдалась линейная зависимость оптической плотности от концентрации цефалексина в водных и биологических средах. Градуировочные графики обрабатывали по методу наименьших квадратов (МНК) и оценивали при этом коэффициенты корреляции, которые показывают, что зависимость оптической плотности от концентрации цефалексина линейная (рис. 3 а, б). Коэффициент корреляции практически равен 1 ($y=0,0151x-0,0151$; $R^2=0,9976$), что свидетельству-

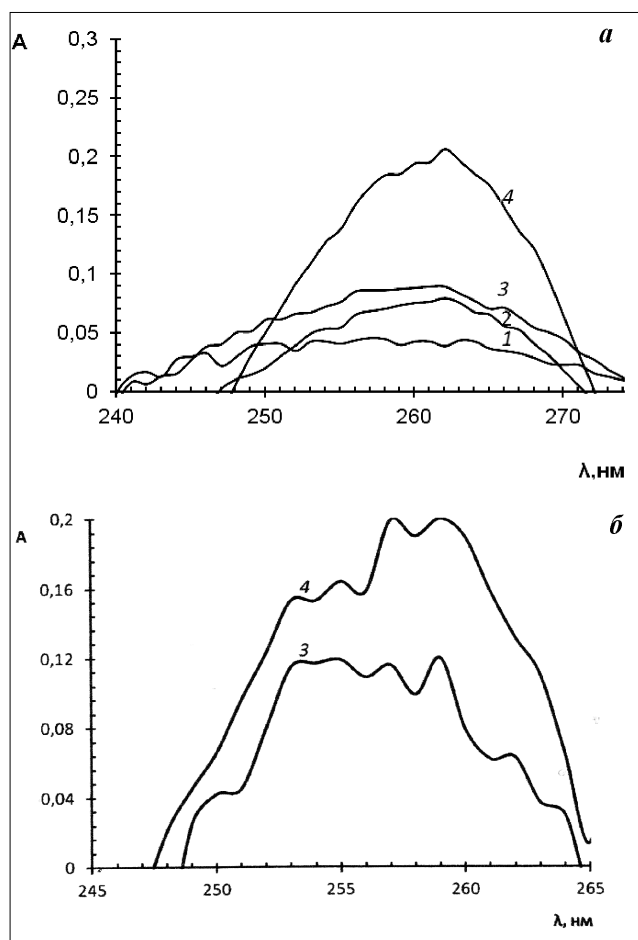


Рис. 3. Спектры поглощения цефалексина на фоне ротовой жидкости (а) и сыворотки крови (б) практически здоровых лиц: 1 — 3,3 мкг/мл; 2 — 10,0 мкг/мл; 3 — 16,9 мкг/мл; 4 — 42,4 мкг/мл.

ет о незначительном разбросе точек от усреднённой зависимости. Предел обнаружения антибиотика данным методом составляет 3 мкг/мл.

Водные растворы цефалексина устойчивы в течение суток, затем происходит деградация антибиотика — оптическая плотность резко падает. Поскольку цефалексин — амфотерный антибиотик, содержащий карбоксильную и аминогруппу, его состояние зависит от кислотности среды: цефалексин существует в виде аниона- L^- (в щелочной среде), цвиттер-иона- NL^\pm (в нейтральной среде) или катиона- H_2L^+ (в кислой среде), которые находятся в равновесии [13]. Для цефалексина характерны две константы кислотной диссоциации: K_1 соответствуют диссоциации катиона с отщеплением протона от карбоксильной группы и образованию цвиттер-иона $H_2L^+ \leftrightarrow NL^\pm + H^+$. K_2 соответствуют диссоциации цвиттер-иона с отщеплением протона координированного аминогруппой и образованием аниона: $NL^\pm \leftrightarrow L^- + H^+$.

Были сняты спектры поглощения цефалексина при различных значениях pH от 3,22 до 10,86. Показано, что в связи с существованием цефа-

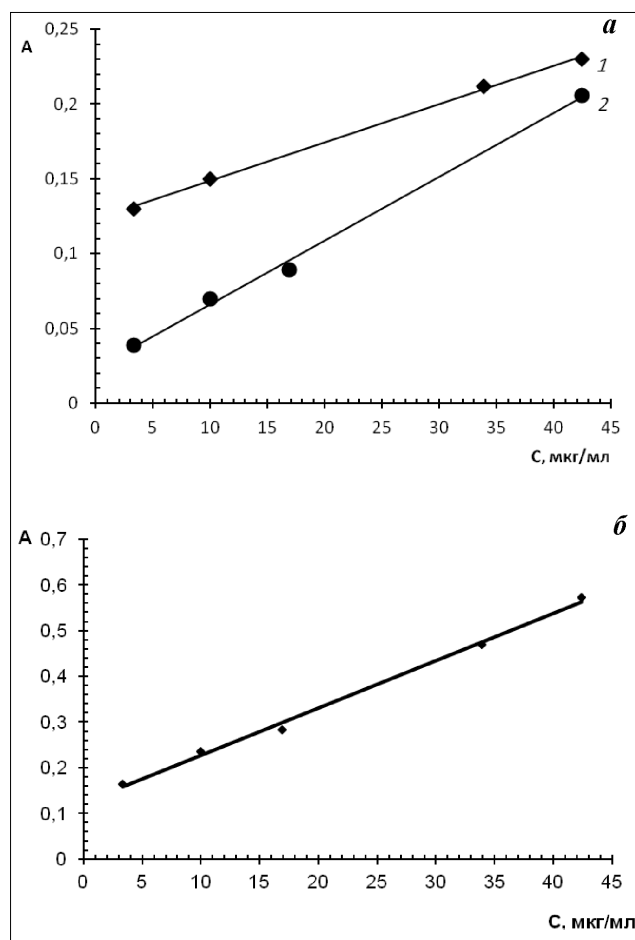


Рис. 4. Зависимость оптической плотности от концентрации цефалексина в сыворотке крови (1) и ротовой жидкости: с предварительным осаждением белков (2), после центрифугирования (3).

лексина в различных формах, его определение необходимо проверить при фиксированной кислотности среды (pH 5—7).

Для оценки возможности спектроскопического определения цефалексина была проведена апробация метода на смешанной слюне и сыворотке крови практически здоровых лиц с внесённым антибиотиком.

Для спектров поглощения цефалексина на фоне ЖРП установлено, что $\lambda_{max} = 259$ нм, при осаждении белков $\lambda_{max} = 262$ нм (рис. 3 а).

Зависимость оптической плотности от концентрации растворов цефалексина на фоне ЖРП была линейна, $y = 0,0104x + 0,1242$; $R^2 = 0,9961$ — после центрифугирования (рис. 4 б); $y = 0,0043x + 0,0237$; $R^2 = 0,9961$ — после осаждения белков (рис. 4 а, кривая 2). Диапазон определяемых содержаний цефалексина в ЖРП составляет 3,3—42,4 мкг/мл, предел обнаружения антибиотика 3,3 мкг/мл.

Исследовано поведение цефалексина на фоне ЖРП во времени. Показано, что антибиотик устойчив в течение суток, затем происходит его деградация.

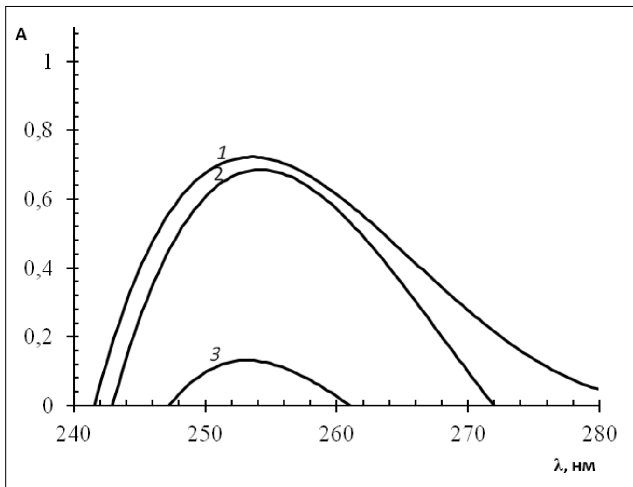


Рис. 5. Спектры поглощения цефалексина на фоне жидкости ротовой полости больной В. для проб, отобранных в различные промежутки времени после приема антибиотика: 1— 2 ч; 2— 4 ч; 3— 6 ч.

Для спектров поглощения цефалексина на фоне сыворотки крови установлено, что $\lambda_{\max} = 259$ нм (рис. 3 б).

Показано, что зависимость оптической плотности от концентраций цефалексина на фоне сыворотки крови линейна, $y = 0,0023x + 0,1335$; $R^2 = 0,9834$. Диапазон определяемых содержаний цефалексина в сыворотке крови составляет 3,3—42,4 мкг/мл, минимально определяемое содержание антибиотика составляет 3,3 мкг/мл (рис. 4 а, кривая 1).

Спектроскопическим методом исследования поведения цефалексина на фоне сыворотки крови во времени (1—14 сут) показано, что антибиотик устойчив в течение суток.

ЛИТЕРАТУРА

1. Яковлев В.П., Яковлев С.В. Рациональная антимикробная фармакотерапия. М.: 2007; 784.
2. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках. М.: 2004; 528.
3. Савельев В.С., Гельфанд Б.Р. Антибактериальная терапия абдоминальной хирургической инфекции. М.: 2006; 168.
4. Страчунский Л.С., Белоусов Ю.Б., Козлов С.Н. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии. М.: 2002; 350.
5. Fernández-González A., Badía R., Díaz-García M.E. Comparative study of the micellar enhanced spectrophotometric determination of β -lactamic antibiotics by batch and flow injection analysis using a multisimplex design. J Pharm Biomed Anal 2002; 29: 669—679.
6. Ahmed A.S.M., Elbashir A.A., Aboul-Enein H.Y. New spectrophotometric method for determination of cephalosporins in pharmaceutical formulations. Arab J Chem 2011; 76: 332—346.
7. Alwarthan A., Abdel Fattah S., Zahran N.M. Spectrophotometric determination of cephalixin in dosage forms with imidazole reagent. Talanta 1992; 39: 6: 703—710.
8. Omar M.A., Abdelmageed O.H., Attia T.Z. Kinetic spectrophotometric determination of cephalosporins in pharmaceutical formulations. Int J Anal Chem 2009; 209: 7: 645—656.
9. El-Shaboury S.R., Mohamed F.A., Saleh G.A. et al. Analysis of cephalosporin antibiotics. J Pharm Biomed Analysis 2007; 45: 1: 1—19.
10. Hefnawy M., El-Shabrawy Y., Belal F. Spectrofluorometric determination of alpha-aminocephalosporins in biological fluids and pharmaceutical preparations. J Pharm Biomed Analysis 1999; 21: 4: 703—707.
11. Гончаров И.Б., Ковачевич И.В., Репенкова Л.Г. и др. Влияние антиортоstaticческой гипокинезии на фармакокинетику ацетаминофена и распределение его в слюне здоровых добровольцев. Химфарм журн 2009; 43: 5: 3—6.
12. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. М.: 2002; 312.
13. Алексеев В.Г. Бионеорганическая химия пенициллинов и цефалоспоринов. Тверь: 2009; 104.

Спектры поглощения цефалексина на фоне ротовой жидкости и сыворотки крови были идентичны (см. рис. 3 а, б). Наличие линейной зависимости оптической плотности от концентрации цефалексина в исследуемых биосредах (см. рис. 4 а) свидетельствует о возможности использования для определения антибиотика ротовой жидкости вместо сыворотки крови больных.

Проведено определение цефалексина в смешанной слюне больных с инфекцией верхних дыхательных путей, принимающих перорально препарат по 500 мг 2 раза в сут (8:00—20:00) в течение 5 сут. Отбор проб смешанной слюны проводили через каждый час. Пробы центрифугировали 15 мин при 3500 об/мин, помещали в кварцевые кюветы по 3 мл проб смешанной слюны больных, снимали спектры поглощения относительно жидкости ротовой полости доноров (без содержания антибиотика). По градуировочному графику (см. рис. 4 б) определили содержание цефалексина в ЖРП.

На рис. 5 в качестве примера представлены спектры поглощения цефалексина в жидкости ротовой полости больной В. для проб, отобранных в различные промежутки времени в первый день приёма антибиотика.

При пероральном приёме в 8:00 утра 500 мг препарата среднее значение концентрации в ЖРП через час составляет 60 ± 4 мкг/мл, через 4 часа снижается до 50 мкг/мл, к 14:00 часам (через 8 ч) цефалексин практически отсутствует в анализируемых пробах.

Таким образом, показана возможность использования для определения концентрации цефалексина вместо сыворотки крови ротовой жидкости больных.

Действие препарата Стимфорте на основные проявления воспаления при заражении экспериментальных животных вирусом простого герпеса I

Д. Г. МАЛЬДОВ¹, Г. А. ГАЛЕГОВ², В. Л. АНДРОНОВА², А. В. ИЛЬИЧЕВ¹, А. П. БЕЛКОВ¹

¹ ЗАО «Скай ЛТД», Москва

² ФГБУ Институт вирусологии им. Д. И. Ивановского МЗ, Москва

Stimforte Action on the Main Inflammation Characteristics in Experimental Animals Contaminated by *Herpes simplex-1*

D. G. MALDOV, G. A. GALEGOV, V. L. ANDRONOVA, A. V. ILICHEV, A. P. BELKOV

Sky Co., Ltd, Moscow

D. I. Ivanovsky Institute of Virology, Moscow

При заражении мышей вирусом простого герпеса (ВПГ-1) в мозгу и лёгких инфицированных животных наблюдается резкое увеличение количества окрашиваемых тиобарбитуровой кислотой продуктов окисления липидов и протеолитической активности, что свидетельствует о протекании воспалительного процесса. Препарат Стимфорте снижает эти показатели воспаления до уровня, близкого таковому в мозгу незаражённых животных. Вместе с тем препарат вызывает снижение титра вируса в мозгу, лёгких и сыворотке крови у инфицированных животных и купирует инфекционный процесс благодаря стимуляции иммунной системы. Обсуждается механизм ингибирования воспалительного процесса.

Ключевые слова: экспериментальные животные, вирус простого герпеса, Стимфорте.

In the brain and lungs of the experimental animals contaminated by *Herpes simplex-1* there were detected much higher levels of the thiobarbituric acid-stained lipid oxidation products and proteolytic activity, evident of the inflammation process. Stimforte lowered the inflammation indices to the level, close to that in the brain of the noninfected animals. Yet the drug provided lower titers of the virus in the brain, lungs and serum in the contaminated animals and arrested the infection process by stimulation of the immune system. The mechanism of the inflammation suppression is discussed.

Key words: experimental animals, *Herpes simplex*, *Stimforte*.

Введение

При заражении вирусами экспериментальных животных, как правило, в области развития инфекционного процесса наблюдается воспаление, которое сопровождается оксидативным стрессом [1]. Такого рода реакция характерна для инфекций, вызванных всеми типами ДНК-содержащих и РНК-содержащих вирусов [1]

Сильный оксидативный стресс характеризуется возрастанием количества активных соединений кислорода и нитросоединений. Данные соединения определяют чувствительность клеток к вирусной репликации, регулируют воспалительный процесс, иммунный ответ и поражают как вирус, так и клетки хозяина [2]. Богатая липидами нервная система наиболее чувствительна к образованию липидных перекисей. Её поражение

активным кислородом наиболее характерно для остропротекающего энцефалита, вызываемого вирусом простого герпеса типа I (ВПГ-1) и реовирусами. Причём продукция активного кислорода происходит в самих клетках нервной системы. При определении оксидативных процессов, происходящих в нервных клетках (эмбриональной карциномы Р19), методом детекции флуоресцирующих продуктов перекисей липидов было установлено, что заражение ВПГ-1 вызывает в этих клетках оксидативный стресс [3].

Другой неперенный признак воспаления — повышенная протеазная активность в зоне воспаления. Для ВПГ-1 показана активация металлопротеаз [4]. Главным образом в этом процессе участвуют сериновые протеазы гранул нейтрофилов.

Ранее нами было показано, что препарат Стимфорте является иммуностимулятором и активирует как НАДФН-оксигеназу нейтрофилов, так и экскрецию материала гранул этих клеток [5, 6]. Целью данного исследования было изучение

© Коллектив авторов, 2014

Адрес для корреспонденции: 123098, Москва, ул. Гамалеи, 16. Институт вирусологии им. Д. И. Ивановского

влияния герпесвирусной инфекции на развитие оксидативного стресса и протеолитической активности в различных органах и тканях инфицированных животных, а также влияние на эти процессы препарата Стимфорте. Ингибирование этих процессов в данном случае может служить маркером подавления репродукции вируса в поражённых органах.

Материал и методы

Стимфорте — иммуномодулирующий препарат животного происхождения, являющийся природным конгломератом из 20 веществ. По данным гель- и ультрафильтрации, а также масс-спектрометрии молекулярная масса составляет 800-1300 Да. Препарат стимулирует выделение активного кислорода нейтрофилами, экскрецию гранул, фагоцитоз и Т-клеточный иммунный ответ [5, 6].

Вирусы. В работе использовали эталонный штамм вируса герпеса простого типа 1 (ВПГ-1) штамм L₂, полученный из Государственной коллекции вирусов НИИ вирусологии им. Д. И. Ивановского РАН, адаптированный к мозгу мышей.

Мыши. В исследовании использовали самцов белых линейных мышей BALB/c весом 12–14 г по 18 (15+3) животных в группе, полученных из питомника «Столбовая» (пос. Столбовая, Московская обл.). Мышей заражали внутрибрюшинно. Доза вируса составляет 5×10^8 БОЕ /0,2 мл на мыш, которая обеспечивала летальность животных (53,33%) в контрольной нелеченой группе. Препараты вводили внутрибрюшинно в объёме 0,2 мл двукратно: через 24 и 72 ч после заражения животных в разовой дозе 100 мкг/мыш.

Защитное действие препарата *in vivo* оценивали по снижению смертности животных и увеличению средней продолжительности жизни (СПЖ) в опытных группах по сравнению с контрольной. Срок наблюдения за животными составлял 14 суток.

Определение величины инфекционного титра вируса в органном материале. По 3 мыши из каждой группы забивали на 4-е сутки после заражения, органнй материал (головной мозг, лёгкие) гомогенизировали при температуре 4°C и готовили 10% суспензию в изотоническом растворе хлорида натрия. Инфекционный титр в супернатанте (условия центрифугирования: 5000 об/мин в течение 10 мин, 4°C) и сыворотке крови инфицированных животных определяли путём титрования в культуре клеток в соответствии с методом бляшкообразования [7].

Активность протеаз. 10% суспензии органного материала в фосфатном буфере (рН 7,2) центрифугировали при 6000 об/мин. 20 мкл супернатанта смешивали с 20 мкл субстрата, добавляли 2 мкл 100 мМ раствора NaN₃ и инкубировали в течение 3 суток при 37°C. Определение протеазной активности производилось флуоресцентным методом по S. S. Twining [8], как описано ранее [5]. Использовали казеин, флуоресцеин изотиоцианат фирмы Sigma (Германия), спектрофлуориметр Shimadzu RF-1501 (Япония). Для калибровочной кривой использовали полностью лизированный трипсином казеин, меченный флуоресцеин изотиоцианатом.

Ингибиторный анализ. При некрозе тканей мозга, вызванном собственными протеазами, этот процесс осуществляется в основном тиоловыми (катепсины В и L) и аспаргиновыми протеазами (катепсин D), а при атаке клеток протеазами гранул клеток иммунной системы — сериновыми и металлопротеазами. Поэтому для выявления специфичности процесса некроза был проведён ингибиторный анализ. Для проведения анализа к препаратам, указанным выше, добавлялись: фенилметилсульфонил фторид (ФМСФ) фирмы Sigma — до концентрации 1 мМ в 2 мкл 96% этанола; лейпептид фирмы Sigma — до концентрации 1 мМ в 2 мкл воды; пепстатин фирмы Sigma — до концентрации 1 мМ в 2 мкл воды,

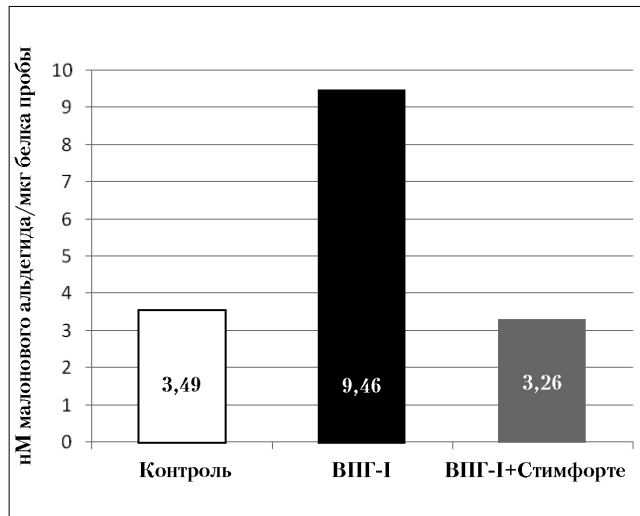


Рис. 1. Количество ТБК-окрашенных продуктов в мозгу мышей, заражённых ВПГ-1 и леченых Стимфорте.

этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА) фирмы Sigma — до концентрации 50 мМ. Ингибирование протеаз определялось по стандартным методикам [9].

Оксидативный стресс. Образование реактивных продуктов тиобарбитуровой кислоты (ТБК) выявляли в гомогенатах мозга методом [10] в модификации [11]. 1 мл гомогенатов тканей головного мозга с 0,5 мг белка смешивали с 1 мл смеси, содержащей 0,67% тиобарбитуровую и 30% трихлоруксусную кислоты (в соотношении 1:1). Образцы нагревали в течение 20 мин при 100° и затем 15 мин центрифугировали при 5000 об/мин. Поглощение супернатанта определяли при 535 нм на спектрофотометре. Для вычислений использовали молярный коэффициент поглощения 8, равный $1,56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

Результаты и обсуждение

Конечными стабильными (в течение нескольких суток) продуктами окисления липидов являются малоновый альдегид и сходные с ним продукты, окрашиваемые тиобарбитуровой кислотой (ТБК-окрашиваемые продукты). Заражение мышью ВПГ-1 вызывало резкое увеличение количества ТБК-окрашиваемых продуктов в мозге животных ($9,46 \pm 3,86$ нМ/мг белка по малоновому альдегиду) во время пика заболевания (на 6-е сутки) по сравнению с соответствующим показателем для группы неинфицированных животных — $3,49 \pm 0,11$ нМ/мг белка, принятым в наших исследованиях за норму (рис. 1). Это указывает на значительный оксидативный стресс в тканях заражённых животных, приведший к образованию большого количества окисленных продуктов. В группе животных, получавших иммуностимулятор Стимфорте, количество ТБК-окрашиваемых продуктов в мозгу мышей не превышало нормы — $3,26 \pm 0,08$.

Аналогичные результаты были получены при изучении лёгких мышей (рис. 2). При этом усиление образования продуктов окисления липидов у инфицированных мышей было менее выражено, по сравнению с неинфицированными, чем в головном мозге — всего в 1,5 раза. При введении

Таблица 1. Влияние Стимфорте на репродукцию ВПГ-1 в различных органах и тканях белых мышей BALB/c

Препарат	Инфекционный титр вируса, lg БОЕ/мл		
	головной мозг	лёгкие	кровь
Контроль вируса (n=3)	3,40	2,30	1,65
	3,54	1,70	1,74
	3,60	2,18	1,54
Стимфорте старый (n=3)	Тср 3,51±0,01	Тср 2,06±0,40	Тср 1,65±0,06
	2,30	0,70	0,70
	2,30	1,00	1,00
Стимфорте новый (n=3)	1,70	1,30	0,70
	Тср 2,10±0,20	Тср 1,00±0,22	Тср 0,80±0,10
	2,30	0,70	0
	2,40	1,40	1,00
	2,18	1,00	0,70
	Тср 2,29±0,06	Тср 1,03±0,20	Тср 0,57±0,30

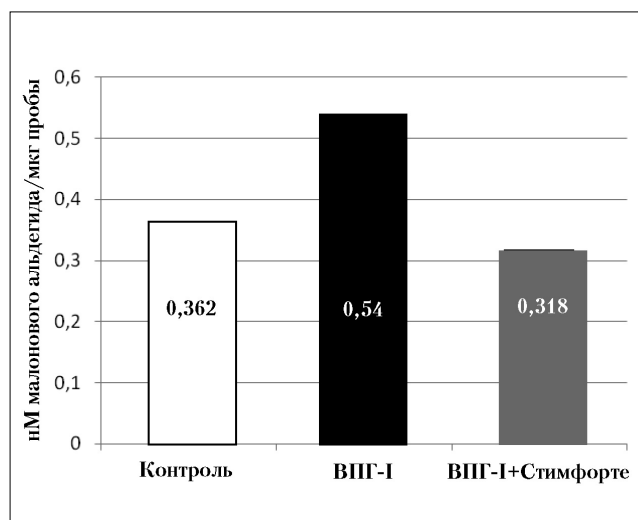


Рис. 2. Количество ТБК-окрашенных продуктов в лёгких мышей, заражённых ВПГ-1 и леченных Стимфорте.

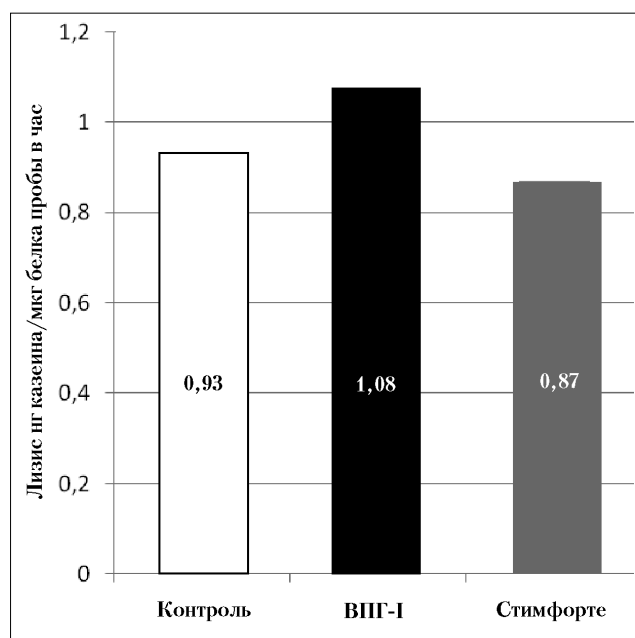


Рис. 4. Количество лизированного белка при протеолизе в лёгких мышей, заражённых ВПГ-1 и леченных Стимфорте.

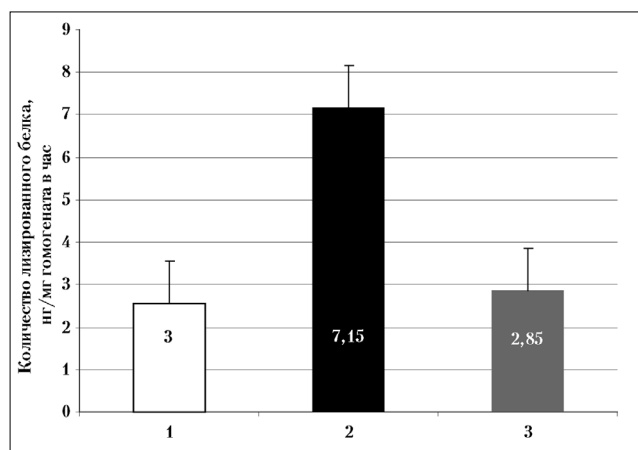


Рис. 3. Количество лизированного белка при протеолизе в мозге мышей, заражённых ВПГ-1 и леченных Стимфорте.

Стимфорте количество ТБК-окрашиваемых продуктов также не превышало норму. Полученные данные согласуются с результатами изучения репродукции ВПГ в мозге и лёгких инфицированных животных (табл. 1). В мозге репродукция ви-

руса протекает эффективнее, о чем свидетельствует величина инфекционного титра.

Протеолиз казеина в мозге заражённых мышей во время пика заболевания (на 6-е сутки) почти в 2.5 раза выше, чем в мозге контрольных мышей (рис. 3): $3,0 \pm 0,835$ и $7,15 \pm 0,35$ нг/мкг гомогената в 1 час соответственно. При введении им Стимфорте протеолитическая активность значительно снижается и достигает нормы ($2,85 \pm 1,65$). В лёгких мышей, которые также поражаются при герпесвирусной инфекции, наблюдаемое усиление протеолиза значительно слабее, чем в мозге (рис. 4). При введении Стимфорте количество ТБК-окрашенных продуктов также снижается до нормы. Таким образом, Стимфорте оказывает противовоспалительное действие, понижая в мозге заражённых мышей как окислительные процессы, так и протеолитическую активность.

Таблица 2. Результаты ингибиторного анализа протеазной активности (в %) в лёгких мышей

Показатель	Контроль	ВПП-1	ВПП-1 + Стимфорте
Без ингибиторов	0	0	0
ФМСФ	42	43	41
Лейпептин	20	29	26
Пепстатин	20	33	27
ЭДТА	27	36	33

Таблица 3. Влияние препаратов Стимфорте на развитие инфекционного процесса ВПП-1 в различных органах и тканях белых мышей BALB/c

Препараты	Смертность		Защита в % от контроля	СПЖ, сутки
	отношение числа погибших животных к общему числу животных в группе	% погибших животных		
Контроль вируса	8/15	53,33	—	12,07±2,24
Стимфорте *	6/15	40,00	13,33	15,00±1,97
Стимфорте **	7/15	46,67	6,66	14,27±1,94

Примечание. * – опытно-промышленная партия V; ** – опытно-промышленная партия IX. Партия IX проходит по всем критериям (индукция фактора некроза опухоли и интерлейкина β [12], стимуляция активности NADPH-зависимой оксигеназы нейтрофилов [6], торможение роста миеломы) по минимуму, наиболее активная по тем же критериям из полученных партий – партия V.

Изменяются и типы протеаз: кроме ингибируемых ФМСФ и ЭДТА сериновых и металлопротеаз, активация которых наблюдается при воспалительных процессах при заражении ВПП-1 под влиянием иммунной системы, выявляются характерные для лизосом тиоловые протеазы, ингибируемые лейпептином, и ингибируемые пепстатином аспарагиновые протеазы (табл. 2). Следовательно, поражение мозга и лёгких ВПП-1 сопровождается некрозом ткани. Добавление Стимфорте значительно снижает выраженность некротического процесса.

Так как Стимфорте снимает признаки воспаления, можно было ожидать и усиления инфекционного процесса. Однако при введении Стимфорте наблюдалось ингибирование репродукции вируса (статистически значимое снижение титра в мозге, лёгких и сыворотке крови) по сравнению с контрольной группой (см. табл. 1) и соответственно увеличение как продолжительности жизни, так и количества выживших животных (табл. 3), что указывает на подавление инфекционного процесса.

Если благотворное действие Стимфорте на острую течения заболевания можно объяснить ослаблением воспалительных процессов, то снижение титра вируса в органном материале инфицированных животных может быть результатом иммуностимулирующего действия препарата, так как собственным этиотропным противовирусным действием Стимфорте не обладает. При пассировании ВПП-1 на клетках *vero*, ингибирование процесса репликации этого вируса (по показателю БОЕ/мл) в присутствии Стимфорте (100 мкг/мл) не превышает 15%. Таким образом, Стимфорте действует одновременно как иммуностимулятор и как противовоспалительное

средство. Естественно, действия эти обуславливаются различными механизмами.

В самых общих чертах механизм токсического действия ВПП-1 *in vivo* состоит в следующем. В мозге инфицированных экспериментальных животных активизируется синтез хинолиновой кислоты, под действием которой поражается гипокамп [13]. Непосредственное введение животным антиоксидантов (мелатонина и изопренила) [14], одновременно с хинолиновой кислотой препятствует этому токсическому действию, причём авторами доказан нерецепторный путь действия обоих препаратов. Поражающее действие ВПП ослабляется при высоком содержании в питании мышей обладающего антиоксидантным действием витамина Е и значительно усиливается при дефиците этого витамина [15], что также указывает на то, что основным поражающим действием обладают в данном случае кислородные радикалы.

Кроме антиоксидантов, токсическое действие ВПП-1 снимается препаратом ацикловир (Зовиракс), оказывающего этиотропное противовирусное действие (непосредственно ингибирует репликацию вирусной ДНК). Действие ацикловира носит дозозависимый характер [16] и проявляется в блокировании процессов разрушения гипокампа, что указывает на то, что воздействие на репликацию ВПП не менее эффективно, чем на сам процесс оксидативного стресса.

Другой возможный механизм действия Стимфорте может быть связан с TLR 4 (основа действия Стимфорте [11]), как это показано для TLR 2 и TLR 4 в эпителии поджелудочной железы [17].

Причиной снижения выраженности воспалительных процессов и снижения риска их развития может быть активность ряда цитокинов, таких как IL5 [18] и IL10 [19]. Стимфорте явля-

ется индуктором не только провоспалительных цитокинов, но и IL10. Кроме того, при клинических испытаниях Стимфорте было показано быстрое снятие воспаления в группе пациентов с рецидивирующим герпесом, получавших препарат [20]. Таким образом, применение Стим-

форте, особенно с учётом чрезвычайно широкого распространения герпесвирусных инфекций и лёгкости развития их хронизации, обеспечивает не только непосредственный лечебный эффект, но и предотвращает развитие тяжёлых осложнений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Schwarz K.B. Oxidative stress during viral infection. *Free Radic Biol Med* 1996; 21: 5: 641—649.
2. Valyi-Nagy T., Dermody T.S. Role of oxidative damage in the pathogenesis of viral infections of the nervous system. *Histol Histopathol* 2005; 20: 3: 957—967.
3. Kavouras J.H., Prandovszky E., Valyi-Nagy K., Kovacs S.K., Tiwari V., Kovacs M., Shukla D., Valyi-Nagy T. Herpes simplex virus type 1 infection induces oxidative stress and the release of bioactive lipid peroxidation by-products in mouse P19N neural cell cultures. *J Neuroviral* 2007; 13: 5: 416—425.
4. Pham C. T. N. Neutrophil serine proteases fine-tune the inflammatory response. *Int J Biochem Cell Biol* 2008; 40: 6—7: 1317—1333.
5. Ильичев А.В., Бельков А.П., Мальдов Д.Г., Асташкин Е.И. Секретция гранул нейтрофилов человека под действием формил пептида и препарата «Стимфорте». *Иммунология* 2009; 3: 159—161
6. Мальдов Д.Г., Бельков А.П., Ильичев А.В., Асташкин Е.И. Влияние комплексного гидрофильного низкомолекулярного препарата «Стимфорте» на функциональную активность фагоцитов крови человека. *Иммунология* 2009; 2: 95—97.
7. Sarisky R.T., Nguyen T.T., Duffy K.E., Wittrock R.J., Leary J.J. Difference in incidence of spontaneous mutations between *Herpes simplex* virus types 1 and 2. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 6: 1524—1529.
8. Twining S.S. Fluorescent isothiocyanate-labeled casein assay for proteolytic enzymes. *Anal Biochem* 1984; 143: 1: 30—34.
9. Ramachandran R., Hollenberg M.D. Proteinases and signalling: pathophysiological and therapeutic implications via PARs and more. *Br J Pharmacol* 2008; 153: S1: S263—S282.
10. Buege J.A., Aust S.D. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1978; 52: 302—310.
11. Мальдов Д.Г., Чирвон Е.А., Ильичев А.В., Бабаян С.С. Активация препаратом «Стимфорте» моноцитов и макрофагов. *Иммунология* 2011; 4: 105—112.
12. Дерябин П.Г., Исаева Е.И., Мальдов Д.Г., Ильичев А.В., Пичугина Л.В., Львов Д.К. Действие Стимфорте на устойчивый к интерферону генотип штамма вируса гепатита С. *Вопр вирусологии* 2009; 2: 17—20.
13. Stone T.W., Behan W.M., MacDonald M., Darlington L.G. Possible mediation of quinolinic acid-induced hippocampal damage by reactive oxygen species. *Amino Acids*. 2000; 19: 1: 275—281.
14. Behan W.M., MacDonald M., Darlington L.G., Stone T.W. Oxidative stress as a mechanism for quinolinic acid-induced hippocampal damage: protection by melatonin and deprenyl. *Br J Pharmacol* 1999; 128: 8: 1754—1760.
15. Sheridan P.A., Beck M.A. The immune response to *Herpes simplex* virus encephalitis in mice is modulated by dietary vitamin E. *J Nutr* 2008; 138: 1: 130—137.
16. Müller A.C., Maharaj H., Maharaj D.S., Daya S. Aciclovir protects against quinolinic acid-induced oxidative neurotoxicity. *J Pharm Pharmacol* 2005; 57: 7: 883—888.
17. Messlik A., Schmechel S., Kisling S., Bereswill S., Heimesaat M.M., Fischer A., Göbel U., Haller D. Loss of Toll-like receptor 2 and 4 leads to differential induction of endoplasmic reticulum stress and proapoptotic responses in the intestinal epithelium under conditions of chronic inflammation. *J Proteome Res* 2009; 8: 10: 4406—4417.
18. Chandler W. L., Loo S.-C., Nguyen S.V., Schmer G., Stratton J.R. Standardization of methods for measuring plasminogen activator inhibitor activity in human plasma. *Clin Chem* 1989; 35: 5: 787—793.
19. Caligiuri G., Rudling M., Ollivier V., Jacob M.P., Michel J.B., Hansson G.K., Nicoletti A. Interleukin-10 deficiency increases atherosclerosis, thrombosis, and low-density lipoproteins in apolipoprotein E knockout mice. *Mol Med* 2003; 9: 1—2: 10—17.
20. Зыкова И.Н., Шульженко А.Е., Пинегин Б.В., Мальдов Д.Г., Ильичев А.В. Применение препарата «Стимфорте» в комплексной терапии рецидивирующей герпес-вирусной инфекции. *Герпес* 2009; 2: 30—36.

Мазь Офломелид: активность в отношении госпитальных штаммов микроорганизмов

Л. А. БЛАТУН, Р. П. ТЕРЕХОВА

Институт хирургии им. А. В. Вишневского, Москва

Oflomelid Ointment: Activity Against Hospital Microbial Strains

L. A. BLATUN, R. P. TEREKHOVA

A. V. Vishnevsky Institute of Surgery, Moscow

Проведено сравнительное изучение чувствительности 100 госпитальных штаммов различных микроорганизмов к офлоксацину диско-диффузионным методом и антибактериальной активности мази Офломелид методом «колодцев». Полученные результаты показали, что мазь Офломелид была активна в отношении всех видов госпитальных штаммов микроорганизмов. К офлоксацину сохранили чувствительность *S.epidermidis*, промежуточную чувствительность — *Acinetobacter* spp., *Escherichia coli* и *Proteus* spp. Такая разница в чувствительности микроорганизмов, очевидно, обусловлена известными свойствами полиэтиленгликолей, входящих в состав мази.

Ключевые слова: офлоксацин, мазь Офломелид, госпитальные штаммы, чувствительность.

Ofloxacin susceptibility was tested with the use of 100 hospital isolates by the disk diffusion method vs. the activity of Oflomelid ointment tested by the cavity method. It was shown that the hospital isolates of all the species were susceptible to the Oflomelid ointment, while susceptibility to ofloxacin was preserved in *S.epidermidis*, the susceptibility of *Acinetobacter* spp., *E.coli*, *Proteus* spp. being intermediate. Such a difference in the susceptibility of the isolates was evidently due to the properties of polyethylene glycols in the ointment composition.

Key words: ofloxacin, Oflomelid ointment, hospital isolates, susceptibility.

Введение

Основным методом лечения гнойных ран, позволяющим быстро очистить рану от некротических тканей, полноценно её дренировать и создать оптимальные условия для заживления, является адекватная хирургическая обработка, дополненная промыванием раны растворами антисептиков. Таким путём удастся значительно сократить сроки заживления раны, добиться оптимальных косметических и функциональных результатов. Важно подчеркнуть, что полноценная хирургическая обработка раны должна быть основополагающим компонентом лечения, только в этом случае можно сократить сроки окончательного закрытия раневого дефекта.

Однако нередки случаи, когда одномоментное с первичной обработкой гнойного очага раннее оперативное закрытие раны невозможно без предварительной её подготовки, тогда возникает целесообразность проведения местного медикаментозного лечения раны с учётом фазы раневого процесса. Известно, что раневой процесс пред-

ставляет собой сложный комплекс реакций, развивающихся в организме в ответ на повреждение тканей. Биологические законы заживления раны едины для ран любого происхождения, разница лишь в их тяжести и сроках заживления.

Течение раневого процесса принято условно подразделить на три основные фазы:

- фаза воспаления, которая состоит из двух последовательных периодов, а именно: сосудистых изменений и очищения раны за счёт подавления микрофлоры и отторжения (рассасывания) нежизнеспособных тканей;

- фаза регенерации — заполнение раны грануляционной тканью;

- фаза образования и реорганизации рубца, т. е. процесс активной эпителизации [1].

Приведённая классификация достаточно точно отражает основные этапы течения раневого процесса и позволяет применить патогенетически обоснованное местное лечение раневого процесса. Развитие гнойного процесса в ране происходит путём разрушения иммунолейкоцитарного барьера экзо- и эндотоксинами бактерий, оказывающих некротическое действие на ткани, и под воздействием протеолитических ферментов и гиалуронидазы, вызывающих деполяризацию ос-

© Л. А. Блатун, Р. П. Терехова, 2014

Адрес для корреспонденции: 113811 Москва, Б.Серпуховская ул., 27. Институт хирургии им. А. В. Вишневского

новного вещества соединительной ткани. Таким образом, инфекция проникает в глубоко расположенные ткани, вызывая их некроз и создавая тем самым благоприятные условия для дальнейшей жизнедеятельности микроорганизмов. Первичные некрозы в ране возникают в результате прямого воздействия механической травмы и микробных токсинов в зоне повреждения. Механизм образования вторичных некрозов более сложен.

Характер раневого отделяемого, его цвет, запах, консистенция и количество в значительной степени определяются видом микробного возбудителя, но во всех случаях он является гнойным. Некротические ткани в начальной фазе воспаления обычно плотно фиксированы ко дну и краям раны; количество их при неблагоприятном течении процесса может нарастать за счёт формирования вторичных некрозов. Заживление раны происходит либо первичным натяжением — при малом объёме поражения, либо вторичным натяжением, когда расстояние между краями раны значительно, и заживление тогда идёт через нагноение и гранулирование. Предупредить нагноение раны или предупредить распространение инфекционного процесса за пределы первичной локализации возможно при правильном подборе препарата для местного лечения раневого процесса, препарата высокоактивного в отношении основного возбудителя (как аэробного, так и анаэробного), препарата, обладающего активными некротическими свойствами, длительной осмотической активностью или свойствами, направленными на предупреждение высыхания раневой поверхности, способностью стимулировать рост грануляций и эпителизацию раны.

В настоящее время создан ряд принципиально новых по механизму действия на раневой процесс лекарственных препаратов, соответствующих не только определённой фазе раневого процесса, но и обладающих широким спектром антимикробной активности.

Так, для лечения ран в I фазе раневого процесса используются в основном сорбенты, ферменты, растворы антисептиков, пенообразующие аэрозоли, а с начала 80-х годов прошлого столетия золотым стандартом различного генеза и локализации стали многокомпонентные мази на полиэтиленгликолевой основе. Достоинствами этих мазей были: различная осмотическая активность, избирательная антимикробная активность в отношении основных возбудителей хирургической инфекции, выраженное локальное обезболивающее действие, способность стимулировать клеточные и гуморальные факторы защиты, ускорение процессов клеточной регенерации.

К сожалению, сегодня из 13 мазей (левомеколь, левосин, диоксиколь, 5% диоксидиновая мазь, 10% мазь мафенида ацетата, сульфамеколь, фурагель, 0,5% мазь хинифурила, 1% йодопириновая мазь, мазь йодметриксилена, стрептонитол, нитацид, стрептолавен), разработанных, внедрённых в практическое здравоохранение и проверенных в различных клинических ситуациях не только мирного времени, но и при оказании помощи пострадавшим в военных конфликтах, техногенных и природных катастрофах, остались доступны только две из них — левомеколь и 5% диоксидиновая мазь. Остальные мази, благодаря стараниям «успеш-

Таблица 1. Антимикробная активность мази Офломелид и чувствительность к офлоксацину изученных госпитальных штаммов

Микроорганизмы	Распределение штаммов по степени чувствительности в зависимости от диаметра зон задержки роста (в мм)	
	мазь Офломелид*	офлоксацин**
<i>S. aureus</i> (MRSA), n=10	39,1±0,5 (S)	10 (R)
<i>S. aureus</i> (MSSA), n=10	41,3±0,5 (S)	11 (R)
CNS, n=10	45,2±0,4 (S)	23 (S)
<i>Enterococcus</i> spp., n=10	34,2±0,3 (S)	0 (R)
<i>P. aeruginosa</i> , n=10	31,4±0,2 (S)	0 (R)
<i>Acinetobacter</i> spp., n=10	44,1±0,3 (S)	15 (I)
<i>E. coli</i> , n=10	35,1±0,3 (S)	15 (I)
<i>Klebsiella</i> spp., n=10	26,8±0,4 (S)	0 (R)
<i>Enterobacter</i> spp., n=10	35,1±0,4 (S)	0 (R)
<i>Proteus</i> spp., n=10	36,4±0,4 (S)	16 (I)

Примечание. * — метод «колодцев» в агаре; ** — диско-диффузионный метод (ДДМ). S — чувствительность; R — резистентность; I — промежуточная чувствительность.

Таблица 2. Средние величины диаметров зон задержки роста (в мм)

Группы микроорганизмов	Зоны задержки роста, мм
Грамположительные	40
Грамотрицательные	35

ных» менеджеров наших ведущих фармацевтических предприятий, сняты с производства, хотя ориентировочно потребность в таких мазях составляет не менее 25 тонн в год.

Возможно, появление в клиниках новых российских препаратов для местного лечения ран в какой-то степени поможет решить проблему активного местного воздействия на очаги инфекции.

Одним из таких препаратов является многокомпонентная мазь Офломелид — разработка и производство ОАО «Синтез» (г. Курган).

В состав мази Офломелид включены офлоксацин, метилурацил, лидокаина гидрохлорид, вспомогательные вещества — нипагин (метилпарагидроксибензоат) или метилпарабен, нипазол (пропилпарагидроксибензоат) или пропилпарабен, пропилен-гликоль, полиэтиленоксид-1500, полиэтиленоксид-400.

Целью настоящего исследования было изучить активность мази Офломелид в отношении 100 госпитальных штаммов микроорганизмов, выделенных от больных с гнойной инфекцией,

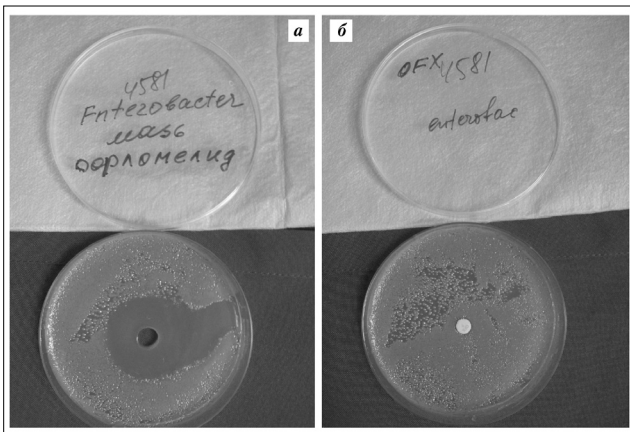


Рис. 1. а — зона задержки роста *Enterobacter* spp., полученная методом «колодцев», составляет 35 мм, что означает высокую чувствительность к мази Офломелид; б — определение чувствительности ДДМ — отсутствие зоны задержки роста означает резистентность к офлоксацину.

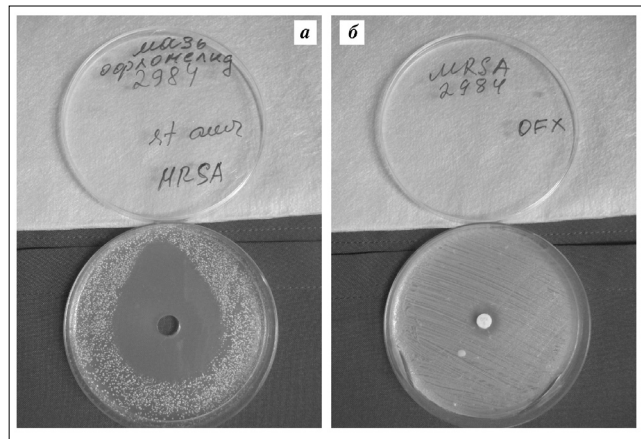


Рис. 3. а — зона задержки роста *S.aureus* (MRSA), полученная методом «колодцев», составляет 39 мм, что означает высокую чувствительность к Офломелиду; б — зона задержки роста при определении чувствительности ДДМ — 10 мм, что указывает на устойчивость этого микроорганизма к офлоксацину.

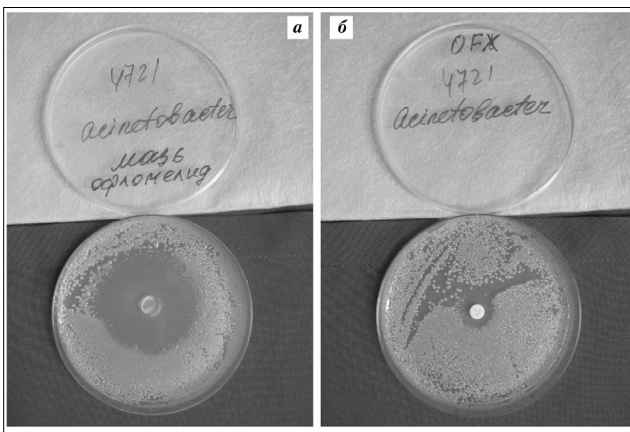


Рис. 2. а — зона задержки роста *Acinetobacter* spp., полученная методом «колодцев», составляет 44 мм, что означает высокую чувствительность к мази Офломелид; б — определение чувствительности методом ДДМ — зона задержки роста в 15 мм означает промежуточную чувствительность к офлоксацину.

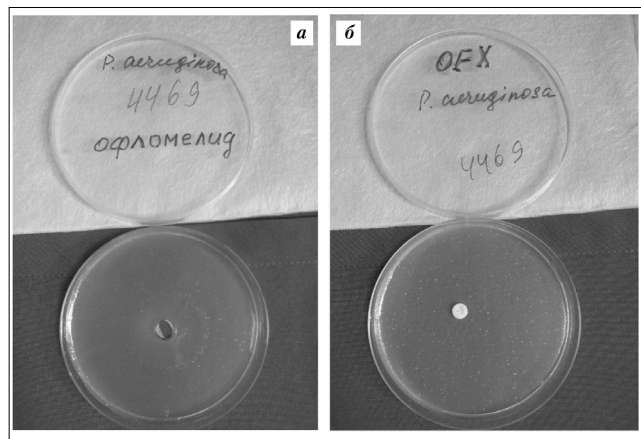


Рис. 4. а — зона задержки роста *P.aeruginosa*, полученная методом «колодцев», составляет 31 мм, что означает высокую чувствительность к Офломелиду; б — при определении чувствительности ДДМ — отсутствие зоны задержки роста указывает на резистентность к офлоксацину.

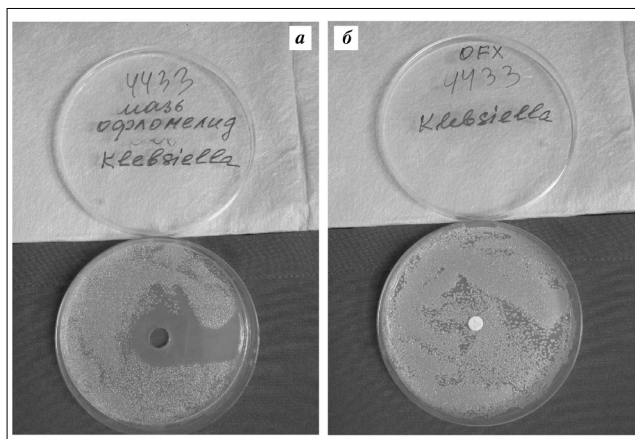


Рис. 5. а — зона задержки роста *Klebsiella* spp., полученная методом «колодцев», составляет 26 мм, что указывает на высокую чувствительность к Офломелиду; **б** — при определении чувствительности ДДМ — зона задержки роста отсутствует, что указывает на устойчивость к офлоксацину.

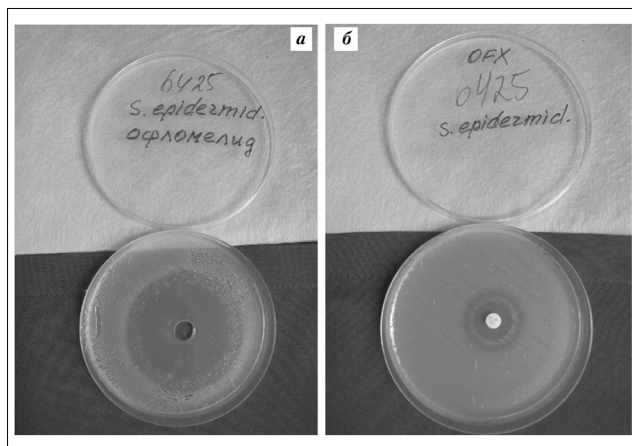


Рис. 7. а — зона задержки роста *S. epidermidis*, полученная методом «колодцев», составляет 45 мм, что указывает на высокую чувствительность к Офломелиду; **б** — при определении чувствительности ДДМ — зона задержки роста 23 мм, что означает чувствительность к офлоксацину.

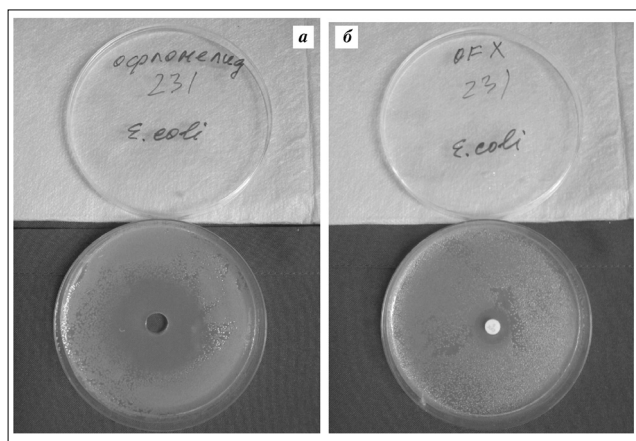


Рис. 6. а — зона задержки роста *E. coli*, полученная методом «колодцев», составляет 35 мм, что указывает на высокую чувствительность к Офломелиду; **б** — при определении чувствительности ДДМ — зона задержки роста равна 15 мм, что указывает на промежуточную чувствительность этого микроорганизма к офлоксацину.



Рис. 8. а — зона задержки роста *S. aureus* (MSSA), полученная методом «колодцев», составляет 41 мм, что означает высокую чувствительность к Офломелиду; **б** — при определении чувствительности ДДМ — зона задержки роста, равна 11 мм, что указывает на устойчивость этого микроорганизма к офлоксацину.

проходивших лечение в Институте хирургии им. А. В. Вишневского (Москва).

Материал и методы

Исследования по изучению антимикробной активности мази проводили согласно «Методическим указаниям по экспериментальному (доклиническому) изучению лекарственных препаратов для местного лечения гнойных ран» [2].

Изучение проводилось методом «колодцев» в чашках Петри с агаром Мюллера-Хинтон, в качестве тест-культур использовали госпитальные штаммы микроорганизмов. Микробная нагрузка составила 10^5 КОЕ/мл.

Критерии оценки зон задержки роста были следующие:

- отсутствие зон задержки роста, а также зона задержки до 10 мм в диаметре указывали на то, что микроорганизм не чувствителен к препарату;

- зоны задержки роста диаметром 11–15 мм указывали на малую чувствительность;

- зоны задержки роста диаметром 15–25 мм расценивались как показатель чувствительности микроба к испытываемому препарату;

- зоны задержки роста, диаметр которых превышает 25 мм, свидетельствовали о высокой чувствительности микрофлоры к изучаемым препаратам.

Так как в состав мази входит офлоксацин, было очень интересно посмотреть чувствительность этих же выделенных штаммов к офлоксацину с помощью диско-диффузионного метода и сравнить с полученными результатами определения чувствительности к мази Офломелид.

В группу грамположительных микроорганизмов были включены *S. aureus* (50% штаммов составляют метициллино-резистентные стафилококки — MRSA), коагулазонегативные стафилококки (CNS), среди которых были и метциллиноре-

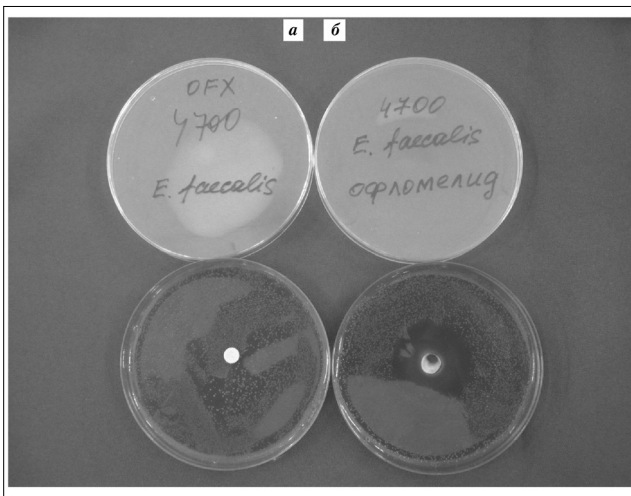


Рис. 9. а — зона задержки роста *E. faecalis* при постановке ДДМ равна 0, что указывает на резистентность к офлоксацину; б — зона задержки роста, полученная методом «колодцев» составляет 34 мм, что указывает на высокую чувствительность к Офломелиду.

зистентные штаммы (MRSE), *Enterococcus* spp. (*E. faecalis*, *E. faecium*). В группу грамотрицательных микроорганизмов вошли неферментирующие бактерии: *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. и бактерии семейства Enterobacteriaceae — *E. coli*, *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Proteus* spp. Всего было изучено по 10 штаммов каждого вида микробов.

Результаты и обсуждение

Результаты сравнительного изучения чувствительности штаммов микроорганизмов к офлокса-

ЛИТЕРАТУРА

1. Кузин М.И. Раны и раневая инфекция. М.: Руководство для врачей Медицина. 1981. — С. 688.

цину методом «колодцев» в чашках Петри с агаром Мюллера-Хинтон и с помощью диско-диффузионного метода представлены в таблице 1.

Поскольку в исследование были включены и грамположительные и грамотрицательные микроорганизмы, правомерно было посмотреть средние показатели по каждой группе микробов (табл. 2).

Заключение

Анализируя полученные данные, представленные в табл. 1, можно констатировать, что антимикробная активность мази Офломелид является высокой, согласно критериям оценки, по отношению ко всем группам микроорганизмов, как грамположительных, так и грамотрицательных.

Как видно на рисунках 1—9, зона задержки роста всех проанализированных штаммов микроорганизмов превышала уровень пороговой чувствительности (11 мм).

Проведённые лабораторные испытания позволяют сделать вывод о том, что мазь Офломелид является препаратом с широким спектром антимикробной активности, что позволяет рассматривать этот препарат как высокоэффективное средство при обнаружении в ранах высокорезистентных госпитальных микроорганизмов.

2. «Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» под общей редакцией чл-корр. РАМН профессора Р. У. Хабриева. М.: 2005.

Основные принципы лечения бронхолёгочной инфекции у больных миастенией

В. И. СОКОЛОВА, А. Г. САНАДЗЕ, Д. А. СЫЧЕВ, М. Б. БАБАРИНА, Д. А. ЗАЙКОВ

Кафедра клинической фармакологии и терапии Российской медицинской академии последипломного образования, Москва

Treatment Approaches for Bronchopulmonary Infection in Myasthenia Gravis Patients

V. I. SOKOLOVA, A. G. SANADZE, D. A. SYCHEV, M. B. BABARINA, D. A. ZAYKOV

Department of Clinical Pharmacology and Therapy, Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Moscow

В группу исследования вошли 19 больных с бронхолёгочной инфекцией, протекающей на фоне миастении. При микробиологическом исследовании 24 образцов мокроты и бронхиального секрета были выявлены как грамположительные, так и грамотрицательные возбудители, которые проявляли высокую чувствительность к применяемому антибиотику — цефоперазону/сульбактаму. С целью повышения клинической эффективности, опсонизации инфекционных очагов и ускорения сроков излечения больных использовались иммуноглобулины (ВВИГ). Клиническая эффективность антибиотико- и иммуноотерапии наблюдалась у 16 (84,2%) из 19 больных.

Ключевые слова: миастения, нейромышечная проводимость, пиридостигмин, метилпреднизолон, иммунитет, бронхолёгочная инфекция, микробиологический пейзаж, цефоперазон/сульбактам, внутривенные иммуноглобулины.

Nineteen patients with bronchopulmonary infection and myasthenia gravis were enrolled in the study. The microbiological analysis of the specimens of phlegm and bronchial secretion revealed both grampositive and gramnegative bacteria. All the isolates were susceptible to the antibiotic used (cefoperazone/sulbactam). Intravenous immunoglobulins (IvIgs) were used to increase the treatment efficacy, to opsonize the infection foci and to decrease the hospitalization terms. The antibiotic therapy and simultaneous use of intravenous immunoglobulins provided higher clinical efficacy in 16 out of 19 patients (84.2%).

Key words: myasthenia gravis, neuromuscular conductivity, pyridostigmine, methylprednisolone, immunity, bronchopulmonary infection, microbiological profile, cefoperazone / sulbactam, intravenous immunoglobulins.

Миастения является классическим аутоиммунным заболеванием, в основе которого лежит аутоиммунный процесс, направленный против ацетилхолинового рецептора постсинаптической мембраны мышцы [1]. Ведущим звеном в развитии миастении является нарушение нейромышечной проводимости, что клинически выражается в развитии нарастающей мышечной слабости различной локализации. В настоящее время достигнуты большие успехи в изучении патогенеза заболевания, в диагностике и в лечении различных групп больных миастенией [2]. Однако, несмотря на патогенетическую терапию, не существует специфических подходов к полному излечению от этого заболевания. Исход развития болезни зависит от эффективности подобранной терапии и скорости прогрессирования нарастающей мышечной слабости, которое может привести к полной невозбудимости определённых групп мышц.

Наиболее клинически значимым у больных миастенией является вовлечение в патологический процесс основной и вспомогательной дыхательной мускулатуры, что, в конечном итоге, выражается в разной степени дыхательной недостаточности [3]. Данные изменения приводят к нарушению вентиляционной функции лёгких, вызывая застойные явления, которые способствуют развитию инфекционно-воспалительного процесса. В исследовании, проведённом в госпитале Университета Джона Хопкинса в 1990—1998 гг., было показано, что у 46% пациентов, испытывающих те или иные дыхательные нарушения на фоне миастении, развивается пневмония [4].

Картина развития инфекционного процесса определяется лечением, проводимым у больных с различной формой миастении. Помимо основной терапии антихолинэстеразными препаратами, лечение миастении направлено на подавление активности аутоиммунного процесса, что осуществляется путём применения препаратов, подавляющих общий иммунный ответ организма. В лечение миастении входит пульс-терапия

© Коллектив авторов, 2014

Адрес для корреспонденции: 125367 Москва, Ивановское шоссе, д.7, ЦКБ гражданской авиации. E-mail: dmitry.alex.sychev@gmail.com, deniszaykov@gmail.com.

глюкокортикостероидами, применение цитотоксических иммунодепрессантов (азатиоприн, циклофосфамид), тимэктомия. Перечисленные методы лечения, в связи с подавлением иммунитета, создают дополнительный фон для развития бактериальных осложнений. Важно отметить, что для некоторых лекарственных препаратов, например циклофосфана, отмечено прямое токсическое действие на лёгочную ткань. Таким образом, роль миастении при развитии бронхолёгочной инфекции совершенно очевидна [4].

Актуальность проблемы развития бронхолёгочных заболеваний связана и со сложностью лечения подобных осложнений у больных с миастенией. Некоторые препараты, которые применяются в стандартной практике лечения сопутствующих заболеваний (курареподобные препараты, D-пеницилламин, интерферон-альфа, соли магния, бета-блокаторы, блокаторы кальциевых каналов и т.д.), противопоказаны при миастении из-за их угнетающего воздействия на нейромышечную проводимость. К препаратам, которые абсолютно противопоказаны при миастении, относятся также некоторые антибиотики: аминогликозиды, макролиды, фторхинолоны. Это накладывает определённые ограничения у данных больных при лечении инфекционных осложнений, как уже было отмечено ранее, столь часто проявляющихся со стороны дыхательной системы.

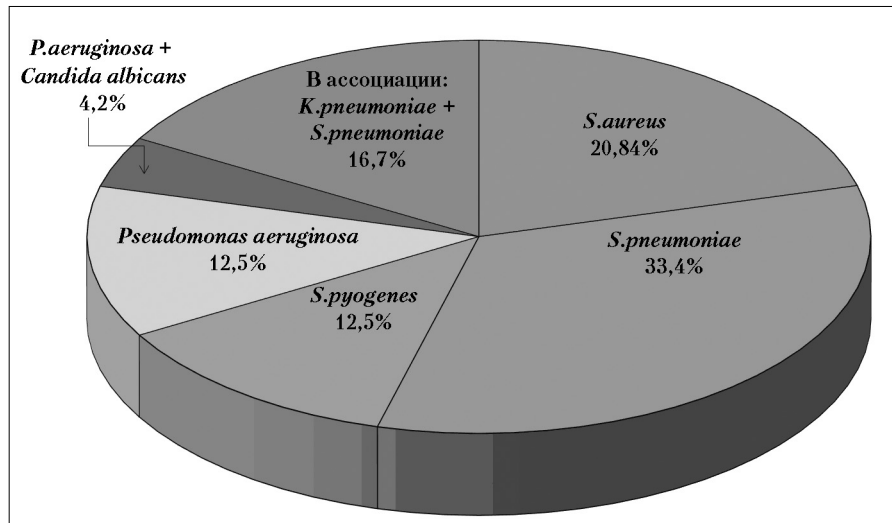
Таким образом, из-за сложности лечения инфекционных осложнений у больных с миастенией возникает необходимость в поиске новых подходов в терапии данной группы больных.

Цель настоящего исследования — изучить микробиологический пейзаж мокроты и трахеобронхиального секрета, оценить клиническую эффективность антибиотико- и иммунотерапии у больных с инфекционно-воспалительными заболеваниями на фоне миастении.

Материал и методы

Группу исследования составили 19 больных с генерализованной формой миастении (6 мужчин, 13 женщин, возраст больных — от 22 до 81 года); из них 3 мужчин и 7 женщин — с обострением хронического трахеобронхита, 3 мужчин и 1 женщина — с остаточными признаками перенесённой госпитальной пневмонии; 2 женщины — с хроническим обструктивным бронхитом; 1 женщина — с синдромом Ламберта — Итона; 2 женщины — с бактериальной очаговой пневмонией (у одной из них — тимэктомия в анамнезе).

Клиническими признаками обострения инфекционного процесса были: кашель со слизисто-гнойной мокротой, уве-



Выделенные возбудители из мокроты у больных с бронхолёгочной инфекцией на фоне миастении.

личение её продукции, одышка, быстрая утомляемость, у некоторых больных наблюдался субфебрилитет. Перед началом лечения проводили: общепринятое клинико-лабораторное исследование, изучение микробиологического состава мокроты, секрета из трахеи (или трахеостомы), исследование показателей ФВД, рентгенографию или КТ грудной клетки. У всех больных при исследовании ФВД выявлялись нарушения вентиляционной функции лёгких: снижение ОФВ1 составляло в среднем от 60 до 49%.

Образцы, полученные от больных, доставляли в течение 2 часов в бактериологическую лабораторию, где проводилась микроскопия мазка для оценки качества биоматериала и посев на стандартные питательные среды. Образцы мокроты считались приемлемыми, если число лейкоцитов было больше 25, а число эпителиальных клеток — меньше 10 в одном поле зрения. У выделенных возбудителей проводилась видовая идентификация с помощью тест-системы Crystal (BBL). Чувствительность микроорганизмов к антибиотикам определяли диско-диффузионным методом в агаре Мюллера—Хинтона.

В качестве антибиотикотерапии все больные получали цефоперазон/сульбактам внутривенно или внутримышечно в дозе 1,0 г 2 раза в сутки. Длительность терапии составляла 7–10 дней (в зависимости от степени активности инфекционного процесса). С целью улучшения реологических свойств мокроты всем пациентам назначали муколитик ацетилцистеин (флуимуцил) по 300 мг 2 р/сут через небулайзер или *per os*.

В программу лечения с иммунозаместительной целью был включен человеческий внутривенный иммуноглобулин G (ВВИГ): октагам, биавен, октаглобин. Лечение проводилось на фоне основной базовой терапии, включавшей метилпреднизолон, пиридогистамин и хлористый калий.

Результаты и обсуждение

Было изучено 24 образца мокроты и бронхиального секрета, выделенных у больных с бронхолёгочными заболеваниями. Исследование мокроты у больных с обострением хронического бронхита и пневмонии на фоне миастении позволило выявить неоднородность микробиологического пейзажа. Основными клинически значимыми микроорганизмами были: *Streptococcus pneumoniae* (33,4%), *Staphylococcus aureus* (20,8%), *Streptococcus pyogenes* (12,5%) (см. рисунок), среди неферментирующих грамотрицательных бакте-

Таблица 1. Результаты клинического анализа крови больного К.

Показатель	Результаты		Норма
	до лечения	после лечения	
Гемоглобин, г/л	144		130,0—160,0
Эритроциты, $\times 10^{12}/л$	4,3		4,5—5,0
Тромбоциты, $\times 10^9/л$	121	131	180,0—320,0
Лейкоциты, $\times 10^9/л$	23,49	15,0	4,5—11,0
П/я нейтрофилы, %	4		1—6
С/я нейтрофилы, %	69		41
Эозинофилы, %	1		0,5—5
Лимфоциты, %	25		19—37
Моноциты, %	1		3—11
СОЭ, мм/ч	4		2—10
С-реактивный белок, мг/мл	25,0—>5,0		0,0—5,0
РЭА, нг/мл	2,5		<5,0
Глюкоза, ммоль/л	5,5		3,9—6,4

Примечание. * — раковый эмбриональный антиген.

рий — *Pseudomonas aeruginosa* (12,5%). В четырех образцах биоматериала наблюдался рост микробной ассоциации: *P.aeruginosa* + грибы рода *Candida* (4,2%), еще в одном образце — *K.pneumoniae* + *S.pneumoniae* (16,7%). При изучении чувствительности выделенных возбудителей к цефоперазону/сульбактаму отмечено, что все выделенные штаммы микроорганизмов вошли в антимикробный спектр действия цефоперазона/сульбактама, и лишь в одном образце (*P.aeruginosa* + *Candida albicans*) антибиотик проявлял слабую активность.

Выраженный положительный клинический эффект (исчезновение интоксикационного синдрома, отсутствие мокроты, улучшение общего состояния) отмечался у 16 из 19 пролеченных больных. Анализ отрицательных результатов лечения у 3 больных показал следующее. У одной пациентки развился стеноз трахеи вследствие длительной искусственной вентиляции лёгких, проводимой в связи с миастеническим кризом, что явилось основанием для направления на хирургическое лечение. У другого больного был рак языка, осложнившийся кандидозной инфекцией. Известно, что в таких случаях ситуация усугубляется: снижается иммунологическая защита, нарушается эвакуация трахеобронхиального секрета, что способствует колонизации нозокомиальными резистентными штаммами микроорганизмов и развитию гнойно-инфекционных осложнений. Ещё у одного пациента тяжесть состояния была связана непосредственно с приёмом антихолинэстеразного препарата пиридостигмина (калимина), который обычно назначается при миастении. На фоне приёма пиридостигмина у больного усиливалось выделение мокроты до 300 мл/сут. В связи с этим пациент был вынужден отказаться от приёма препарата и самостоятельно проводить позиционный утренний дренаж.

Необходимо подчеркнуть, что инфекционный процесс респираторного тракта у больных проте-

кал торпидно, несмотря на адекватную антимикробную терапию. Известно, что при миастении имеет место общая депрессия иммунной системы вследствие угнетения как специфических, так и неспецифических факторов защиты, что требует коррекции иммунных «поломов» [1, 2, 6].

Нам представляется важным описать клинический случай в данном исследовании. Больной К., 74 года, имел диагноз «генерализованная миастения» с декабря 2010 г. В соответствии с тяжестью состояния принимал 80 и 40 мг метилпреднизолона по альтернирующей схеме (через день). Обратился в августе 2012 года с жалобами на резкую слабость, быструю утомляемость, нарастающую одышку при незначительном физическом усилии. При объективном исследовании больного отмечено состояние средней тяжести, периферические лимфоузлы не увеличены, стопы пастозны. При перкуссии грудной клетки определялся коробочный звук, экскурсия с обеих сторон — 3 см (1,5+1,5). При аускультации — дыхание в проекции S_{4-5} справа резко ослаблено, хрипы отсутствовали, число дыхательных движений сидя 18 в минуту, ЧСС — 85/мин, АД — 130/85 мм рт. ст., температура 36,8°C. Пальпация живота безболезненна, абдоминальные органы не увеличены. На снимках КТ органов грудной клетки слева в проекции S_{1-2} определяется полостное образование неправильной формы с неровными, несколько инфильтрированными контурами на фоне ограниченного пневмофиброза, слева S_9 — крупный инфильтрат неоднородной структуры. Была произведена диагностическая бронхоскопия: бронхи проходимы, слизистая бледно-розового цвета, атрофична. Заключение: хронический атрофический трахеобронхит II ст. на фоне генерализованной миастении.

Итак, у больного на фоне миастении развилась пневмония с деструкцией лёгочной ткани. Этиологический фактор выявить не представилось возможным из-за отсутствия мокроты. Важно отметить, что на фоне длительного приёма высоких доз метилпреднизолона у пациента появились признаки тромбоцитопении, проявляющиеся кожными кровоподтеками на теле. Начат курс комплексной антибиотико- и иммунотерапии. Внутривенно капельно вводился цефоперазон/сульбактам в течение 10 дней. Одновременно вводился человеческий внутривенный иммуноглобулин (ВВИГ) — октагам в курсовой дозе 15,0 г. Проведённая терапия позволила добиться более быстрой ремиссии инфекционно-воспалительного процесса, что нашло подтверждение в клинико-лабораторных данных (табл.1) и результатах повторных КТ исследований лёгких, где отмечалась положительная динамика

Таблица 2. Результаты исследования водно-солевого и минерального обмена больного К.

Показатель	Значения	Норма
Кальций ионизированный, ммоль/л	1,15	1,03—1,23
Фосфор, ммоль/л	1,11	0,87—1,45
Креатинин, мкмоль/л	105,8	80—115
Мочевина, ммоль/л	11,08	1,7—8,3
25(ОН)Д3, мкг/л*	13,5	30—100
Щелочная фосфатаза, ЕД/л	46	10—150

Примечание. * — 25-гидрооксихолекальциферол.

процесса. В частности, наблюдалось повышение уровня тромбоцитов — до $131 \times 10^9/\text{л}$, снижение лейкоцитоза до $15,0 \times 10^9/\text{л}$, снижение уровня С-реактивного белка — до 5,0.

Однако у больного на фоне патогенетического лечения нарастала боль в поясничном отделе позвоночника, особенно при физической нагрузке. Пациент был консультирован эндокринологом: у больного отмечаются жалобы на боли в спине при ходьбе и физических нагрузках, снижение роста на 4 см за 3 года, чувство усталости в спине сидя. При осмотре определяется грудной кифоз. Результаты лабораторно-инструментального обследования представлены в табл. 2.

По рентгенографии позвоночника в боковой проекции выявлены компрессионные переломы I и II поясничных позвонков. Результаты двуэнергетической рентгеновской абсорбциометрии: минеральная плотность костной ткани по Т-критерию в поясничном отделе позвоночника — 3,0 SD, минеральная плотность костной ткани по Т-критерию в шейке бедра -2,0 SD.

Диагноз: лекарственный (глюкокортикоидный) остеопороз с компрессионными переломами тел позвонков. Рекомендовано: рациональное питание с увеличением употребления продуктов, богатых кальцием и витамином D, поддержание адекватной физической активности и выполнение упражнений с нагрузкой, соответствующей состоянию здоровья; альфакальцидол (АльфаД3, Тева) — 0,75 мкг ежедневно, ибандроновая кислота (Бонвива) — 3,0 мл болюсно 1 раз в 3 месяца. Больной направлен под амбулаторное наблюдение.

Важно отметить основные свойства использованного антибиотика. Цефоперазон/сульбактам проявлял активность в отношении как грамположительных, так и грамотрицательных микроорганизмов, в том числе *P.aeruginosa*. Известно, что цефоперазон/сульбактам стабилен к действию бета-лактамаз благодаря необратимому ингибитору — сульбактаму, синергидно повышающему активность применяемого цефоперазона (до 4 раз

снижается МПК цефоперазона в отношении чувствительных к нему штаммов микроорганизмов). Немаловажное значение имеет хорошая переносимость больными этого препарата, антибиотик не влияет на нервно-мышечную проводимость, что имеет немаловажное значение при его применении у больных с миастенией.

В настоящее время кроме дезинтоксикационной, антибактериальной и патогенетической терапии, широко используются ВВИГ при различной локализации инфекционно-воспалительного процесса, особенно в лечении генерализованных и резистентных форм миастении [5—8]. ВВИГ (октагам, биавен, пентаглобин и др.) содержат набор антител, способных инактивировать широкий спектр антигенов. Иммуноглобулины, являясь факторами приобретённого иммунитета, осуществляющего опсонизацию инфекционных очагов, способствуют быстрой элиминации бактериального агента и его метаболитов, активируя целый каскад иммунных реакций.

Заключение

Таким образом, наш многолетний опыт позволяет использовать комплексную терапию, включающую ВВИГ, при бактериальной инфекции респираторного тракта у больных с миастенией. Значимо улучшается течение болезни, ускоряются сроки излечения больных, а главное снижается риск колонизации резистентными штаммами микроорганизмов и соответственно снижается риск повторного эпизода инфекции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Санадзе А. Г. Миастения и миастенические синдромы. 2012; 252.
2. Щербакова Н.И. Патогенетические обоснования стратегии и тактики лечения миастении. Автореферат докторской диссертации). 2007, 3—50.
3. Varelas P.N., Chua H.C., Natterman J. et al. Ventilatory care in myasthenia gravis crisis: assessing the baseline adverse event rate. Crit Care Med 2002 Dec; 30: 12: 2663—2668.
4. Sulkowski S., Sulkowska M. Alveolar cells in cyclophosphamide-induced lung injury. II. Pathogenesis of experimental endogenous lipid pneumonia. Histol Histopathol 1999 Oct; 14 4: 1145—1152.
5. Санадзе А.Г., Соколова В.И., Щербакова Н.И., Никифоров Н.М. Эффективность применения минимальных доз иммуноглобулина в лечении тяжёлой миастении, осложнённой абсцедирующей пневмонией. Актуал вопр клин транспор мед 2001; 6: 280—286.
6. Skeie G.O. et al. Guidelines for treatment of autoimmune neuromuscular transmission disorders. J Neurology 2010; 17: 893—902.
7. Serrano M.C., Rabinstein A.A. Causes and outcomes of acute neuromuscular respiratory failure. Arch Neurol Sep 2010; 67: 9: 1089—1092.
8. Латышева Е.А., Латышева Т.В. Применение внутривенных иммуноглобулинов в интенсивной терапии. Общая реаниматол 2012; 8: 3: 45—49.

Эффективность действия антибиотиков у детей при ОРИ, осложнённых пневмониями, в условиях Крайнего Севера в зависимости от типа ацетилирования

А. В. ЕРБАССКАЯ, В. В. ИВАНОВА, Л. В. ГОВОРОВА, В. В. БЕЛОВА, Л. Н. БУЛОВСКАЯ

ФГБУ «НИИ детских инфекций ФМБА России», С.-Петербург

Efficiency of Antibiotics in Children with Acute Respiratory Infection Complicated by Pneumonia Dependent on the Acetylation Type in the Far North Regions

A. V. ERBASSKAYA, V. V. IVANOVA, L. V. GOVOROVA, V. V. BELOVA, L. N. BULOVSKAYA

Research Institute of Children's Infections, St.Petersburg

Характерные клинические особенности ряда заболеваний определены фенотипом метаболических реакций, в частности реакции N-ацетилирования. Генетический полиморфизм, обусловленный уровнем активности фермента N-ацетилтрансферазы (N-AT), распространён в большинстве популяций человека. Фенотипически различают лиц с «медленным» и «быстрым» ацетиляторным фенотипом. N-AT катализирует реакцию ацетилирования ряда лекарственных средств (ЛС), в том числе антибиотиков. Эффективность фармакотерапии во многом определяется индивидуальными особенностями процессов биотрансформации ЛС. Под генным контролем находятся процессы биотрансформации с участием ацетилтрансферазы, монооксигеназы и других ферментных систем. Цель исследования: охарактеризовать особенности клинического течения острых респираторных инфекций (ОРИ), осложнённых пневмониями, в зависимости от фенотипа ацетилирования для прогнозирования характера течения заболевания и оптимизации проводимой антибиотикотерапии в популяциях коренного (якуты) и пришлого (русские) населения Крайнего Севера (Саха, Якутия). Обследовано 112 детей, больных ОРИ, осложнённых пневмониями, и 49 практически здоровых детей. Для детей с низким уровнем N-AT активности (менее 30%) рекомендовано применение гентамицина, непосредственно участвующего в процессах ацетилирования, и в 80% случаев обеспечивающего эффективность антибиотикотерапии. Применение антибиотиков цефалоспоринового ряда (β -лактамы), метаболизм которых непосредственно не связан с реакциями ацетилирования, лишь в 20% случаев оказывается эффективным при лечении ОРИ у детей с низким уровнем ацетилирования.

Ключевые слова: острые респираторные инфекции, пневмонии, дети, антибиотикотерапия, цефалоспорины, гентамицин, ацетилирование.

Clinical characteristics of some diseases are defined by the phenotype of metabolic reactions, for example N-acetylation. Genetic polymorphism due to the activity of N-acetyltransferase (N-AT) is common in the majority of human populations. Consequently, persons with «slow» or «fast» acetylation phenotype should be identified. N-AT catalyzes acetylation of a number of medical products. Efficiency of pharmacotherapy is mostly associated with the specific features of medical products biotransformation. The processes of biotransformation with participation of acetyltransferase, monooxygenase or other ferment systems are under the gene control. The aim of the study was to characterize the features of the clinical course of acute respiratory infection complicated by pneumonia as dependent on the acetylation phenotype to predict the character of the disease and optimize the used antibiotic therapy among the native population (Yakut) and the arrived (Russian) in the Far North Regions (Sakha, Yakutia). 112 children with acute respiratory infections complicated by pneumonia and 49 practically healthy ones were examined. For the children with low N-AT activity (less than 30%) it was recommended to be treated with gentamicin which directly takes part in the acetylation and provides the antibiotic therapy efficiency in 80% of the cases. The use of cephalosporin antibiotics (β -lactams), the metabolism of which is not directly connected with acetylation reactions provided the efficiency in 20% of the cases.

Key words: acute respiratory infections, pneumonia, children, antibiotic therapy, cephalosporins, gentamicin, acetylation.

Индивидуальная активность метаболических процессов, в зависимости от типов ацетилирования, имеет важное патогенетическое значение.

© Коллектив авторов, 2014

Адрес для корреспонденции: 197022 С.-Петербург, ул. проф. Попова, д. 9. НИИ детских инфекций

Характерные клинические особенности ряда заболеваний связаны с определённым фенотипом метаболических реакций, что, в первую очередь, относится к типу реакции N-ацетилирования [1–7]. Активность этих генетически детерминированных систем N-ацетилтрансферазы (N-AT) и микросомальных оксидаз (МО) является глав-

ным фактором, определяющим как колебания уровней концентрации лекарств в организме пациентов, так и их ответ на препараты, применяемые при наиболее частых и социально значимых заболеваниях [3–7].

Генетический полиморфизм по активности фермента N-АТ, распространён в большинстве популяций человека, при этом одним людям свойственна «быстрая», а другим — «медленная» форма фермента. Соответственно фенотипически различают людей в качестве «медленных» и «быстрых» ацетиляторов (МА и БА) [1]. В средне-европейских популяциях выявляют приблизительно 60% МА и 40% БА. Строго бимодальное распределение людей по активности N-АТ позволяет учитывать эту характеристику в качестве маркера при оценке предрасположенности к различным заболеваниям, а также при выборе ряда лекарственных средств [1–6].

N-ацетилтрансфераза катализирует реакцию ацетилирования изониазида, сульфаниламидов, прокаинамида и гидралазина. Выделено два изофермента: N-ацетилтрансфераза-1 (N-АТ1) и N-ацетилтрансфераза 2 (N-АТ2). Изофермент N-АТ1 ацетирует небольшое количество ариламинов и не обладает генетическим полиморфизмом. Основным фермент ацетилирования — изофермент N-АТ2. МА — гомозиготы по «медленной» аллели N-АТ2, а БА — гомо- либо гетерозиготы по «быстрой» аллели N-АТ2. Проявлениями генетической неоднородности по скорости N-ацетилирования являются: различная чувствительность к лекарственным препаратам, низкая эффективность лекарственных препаратов у БА, идиосинкразия и побочные эффекты у МА [8–11]. Принадлежность индивидуума к той или иной группе ацетиляторов может являться одним из факторов, обуславливающих различную устойчивость к заболеваниям [12–15].

В клинике НИИ детских инфекций г. С.-Петербурга [5–8,10,12] установлена выраженная предрасположенность МА к инфекционным заболеваниям — ОРИ, вирусному гепатиту (ВГ) и кишечным инфекциям [1–6]. Низкий уровень N-АТ2 (<10%) является маркером возможности заражения инфекционными заболеваниями при прочих равных условиях. Дети с МА-фенотипом в большей степени подвержены осложнениям, особенно имеющие наиболее низкий уровень N-АТ активности — менее 10%, их можно отнести к группе риска заболеваний инфекционной природы [10].

Установлена связь полиморфизма ферментов N-АТ2 с различными заболеваниями и чувствительностью к лекарственным препаратам [1, 6, 8, 11, 12]. Выбор препарата зависит от его фармакокинетических особенностей, а также от возбудителя, локализации и течения инфекционного

процесса. Инфекционные заболевания у детей с БА-фенотипом характеризуются более острым началом и выраженностью клинических симптомов, чем у МА [5, 6, 8]. При выборе фармакотерапевтических средств следует обратить внимание на то, что дозы лекарственных препаратов у пациентов с фенотипом БА должны быть выше, чем у пациентов с МА фенотипом, с учётом клинической картины заболевания.

В Сибири и Дальневосточном регионе проживают разнообразные этнические группы населения, с различным метаболическим статусом, привычными режимами питания, что необходимо учитывать при планируемой фармакотерапии [16]. Сведений о процессах взаимосвязи состояния реакций ацетилирования и тяжести течения ОРИ, осложнённых пневмониями, у детей аборигенов (якуты) и детей, рождённых в среднероссийских регионах (русские), приехавших на Север, в доступной литературе не было обнаружено.

Цель нашего исследования — выявить особенности клинического течения ОРИ, осложнённых пневмониями, у детей в зависимости от фенотипа ацетилирования для прогнозирования характера течения заболевания и оптимизации проводимой антибиотикотерапии в обеих популяциях (коренное население — «якуты» и пришлое — «русские», проживающие более года); для последующей разработки направленной терапии.

Материал и методы

В работе обобщены результаты наблюдения за 112 детьми, больными ОРИ, осложнённых пневмониями, и за 49 практически здоровыми в условиях Крайнего Севера (Саха), а также за детьми (150 больных и 50 здоровых) Северо-Западного региона (С.-Петербург).

Исследование интенсивности ацетилирования в высушенных образцах цельной крови проводили на базе НИИ детских инфекций по модифицированному методу Л. Н. Буловской [17]. Для определения типа ацетилирования осуществляли нагрузки сульфодиметоксином [18]. Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием пакета программ Excel по критерию Стьюдента. Различия считали достоверными при $p < 0,05$. Для оценки корреляционных связей рассчитывали коэффициент корреляции r и коэффициент корреляции рангов r [19].

Результаты и обсуждение

Ведущими синдромами у больных детей были общетоксический и инфекционный: гипертермия зева, перкуторные и аускультативные изменения в лёгких, дыхательная недостаточность. Для якутов и русских было характерно острое начало, выраженность интоксикационного синдрома, влажный кашель. Дети обеих групп получали однотипную терапию. Изучавшиеся группы детей достаточно близки как в возрастном, так и в этиологическом аспектах, и вполне репрезентативны.

Сравнивая две группы детей (МА и БА), больных ОРИ, осложнённых пневмониями, было ус-

Таблица 1. Клиническая характеристика детей, больных ОРИ, осложнённых пневмониями, в условиях Северо-Запада и Крайнего Севера, различных этнических групп

Клинические характеристики	Саха (Якутия)		Северо-Запад (С.-Петербург),
	коренное население, n= 39	пришлое население, n= 55	n=37
Длительность температуры, сут	6,3±0,2	6,5±0,7	2,9±0,2**
Температура максимальная, °С	39,1±0,1	38,9±0,1	38,1±0,1
Длительность кашля, сут	9,5±0,3	9,1±0,2	6,4±0,4**
Длительность хрипов, сут	4,5±0,2	4,3±0,1	3,4±0,5**
Длительность интоксикации, сут	5,7±0,2	4,7±0,2*	4,5±1,6
Длительность койко-дня, сут	13,8±0,2	11,5±0,8*	13,9±1,9

Примечание. * – $p \leq 0,05$ при сравнении клинических характеристик детей пришлое населения с характеристиками детей коренного населения (Саха); ** – $p \leq 0,05$ при сравнении клинических характеристик детей СПб с детьми Саха.

тановлено, что МА болеют тяжелее с более длительным выходом из болезни по сравнению с БА [6, 10, 12]. Так, длительность кашля у МА составляла 10,0±0,1 сут против 9,5±0,2 сут у БА; интоксикация сохранялась у МА в течение 5,2±0,1 сут, у БА — 4,7±0,2, хотя максимальная температура была схожей в обеих группах и составила в среднем 39,0±0,1°С, но длительность её у МА была 6,1±0,1 сут, тогда как у БА — 5,3±0,2 сут. Клиника пневмонии была в обеих группах типичной, но в группе МА — заболевание чаще принимало более тяжёлое течение с более длительным выходом из болезни. Вероятно, это объясняет тот факт, что среди МА несколько больше процент долевых и сегментарных пневмоний по сравнению с БА, и связано это, скорее всего, с агрессивностью возбудителя, недостаточной завершённой и эффективностью фагоцитоза, с более медленным включением адаптационных механизмов защиты и более быстрым развитием воспалительного инфильтрата, а также с ранним вовлечением в процесс сердечно-сосудистой и нервной систем. Кроме того, среди МА было больше больных пневмониями, вызванными пневмококком в ассоциации с другими микроорганизмами (микоплазмами, хламидиями): 34% (25 чел.), а среди БА — 20% (5 чел.).

Сравнивая детей, проживающих в республике Саха, из местного населения (якутов) и пришлое (русских) было установлено, что русские МА болеют тяжелее, чем дети якутов, тогда как русские БА болеют легче, чем дети аборигенов [13, 14]. У детей пришлое населения с медленным типом ацетилирования длительность кашля и хрипов дольше. Вероятно, организм пришлое населения медленнее адаптируется к суровым условиям Крайнего Севера и существенно медленнее формирует те адаптационно-приспособительные возможности, которые есть у детей коренного населения. Внешние (в том числе климатические) факторы снижают их метаболическую адаптацию и способствуют развитию недостаточности иммунных реакций, а быстрота созревания адаптационных систем зависит от наследственно обусловленных особенностей организма [15].

Среди госпитализированных больных с ОРИ в НИИ детских инфекций преобладали медленные ацетиляторы (96,3%). В Якутии среди госпитализированных с пневмониями были 62% МА и 38% БА среди русских и 72% МА и 28% БА — среди якутов. Это свидетельствует о том, что в условиях Якутии тяжелее болеют, с необходимостью госпитализации, как МА, так и БА. Сравнение двух этнических групп выявило большую длительность синдрома интоксикации и большую длительность койко-дня у детей коренного населения (табл. 1). Как видно из представленных данных, длительность температурной реакции и катарального синдрома были выраженнее у детей, проживающих в условиях Крайнего Севера. В то же время полученные результаты показывают, что среди детей пришлое населения значительно меньше МА (62%), что и обуславливает более лёгкое течение ОРИ.

Лечение детей, больных пневмониями, было направлено на проведение комплексной, посиндромной терапии и на поддержание жизненно важных функций организма. Решение вопросов антибактериальной терапии проводилось в соответствии с выделенной микрофлорой и спектром чувствительности возбудителя к антибиотикам.

Наиболее эффективными оказались цефалоспорины II—III поколения (цефазолин, цефотаксим, цефтриаксон). Для детей старшего возраста наиболее эффективным был препарат пенициллинового ряда — ампициллин. Среди детей пришлое населения (русских), по сравнению с якутами, отмечен меньший процент выздоровления 49 чел. (85%) при менее выраженной остроте инфекционного процесса, антибиотикотерапия у них также продолжалась на сутки дольше.

Среди МА с уровнем N-АТ менее 30% (С.-Петербург) была установлена неэффективность пенициллина при выраженной эффективности применения гентамицина, который, как известно, участвует в процессах ацетилирования, что обеспечивает его антимикробную активность и способствует более быстрому выздоровлению больных.

Важной характеристикой иммунокомпетентных клеток является их способность к продукции

Таблица 2. Содержание α -интерферона в крови и способность к индукции α -интерферона лейкоцитами детей, больных ОРИ (НИИ детских инфекций)

Группы	Уровень α -ИФ, МЕ/мл		Индукция α -ИФ, МЕ/мл	
	1 исследование	2 исследование	1 исследование	2 исследование
Активность N-АТ менее 30%	28,1±2,9	39,1±2,5	24,1±4,6	12,5±2,2
Активность N-АТ более 30%	14,3±2,3	46,3±3,4	11,4±1,9	22,3±3,1
Достоверность	$p < 0,05$		$p < 0,02$	

Примечание. 1-е исследование – острый период; 2-е исследование – период реконвалесценции, у здоровых детей концентрация ИФ (0,5–0,8 МЕ/мл)

цитокинов, в частности интерферона, как одного из факторов регуляции противовирусного ответа [11]. В НИИ детских инфекций были изучены особенности интерфероновой реакции лейкоцитов у больных с ОРИ, осложнённых пневмониями, имеющих различные ацетиляторные фенотипы [5, 6]. Показано, что динамика интерфероновой реакции различна и зависит от интенсивности врождённого ацетилирования (табл. 2).

Наиболее ярко зависимость содержания интерферона (ИФ) от процессов ацетилирования была отмечена в острый период ОРИ, что обусловлено большей связью низкомолекулярных фракций ИФ с интенсивностью ацетилирования. Кроме того, более высокая концентрация ИФ у детей с низкой активностью процессов ацетилирования обусловлена его более медленным выведением из организма (см. табл. 2).

В период реконвалесценции при осложнённых ОРИ прослеживалось достоверное снижение интерферонпродуцирующей способности лейкоцитов у детей с активностью N-АТ менее 30%, хотя уровень ИФ оставался достоверно высоким. У детей с активностью N-АТ более 30% выздоровление сопровождалось увеличением способности лейкоцитов к индукции ИФ и максимальной концентрацией интерферона в крови (46,3±МЕ/мл) [5]. Таким образом, у детей МА при неосложнённых ОРИ создается возможность высокой и длительной циркуляции ИФ в крови.

Ранее была выявлена эффективность антибактериальной терапии [13–15] в зависимости от уровня наследственно обусловленного ацетилирования. Лечение ОРИ, осложнённых пневмониями, осуществлялось с применением антибиотиков, как участвующих в метаболических реакциях организма, так и выводящихся из организма в активной неметаболизируемой форме. Такими препаратами были беталактамы (пенициллины, цефалоспорины, карбапенемы и монобактамы) и гентамицин.

Установлено, что в 63% случаев лечение пенициллином было эффективным у детей с активностью N-АТ более 30%. Поскольку, механизм действия пенициллина непосредственно не связан с реакциями ацетилирования, эффективность лечения связана не с препаратом, а с высоким уровнем ацетилирования, которое обеспечивало

адекватную активность иммунологических реакций и подтверждалось клинически более благополучным течением заболевания.

Механизм действия гентамицина (группа аминогликозидов) связан с необратимым угнетением синтеза белка на уровне рибосом у чувствительных к ним микроорганизмов. Большая эффективность гентамицина (83%) наиболее демонстративно проявлялась при лечении больных с низким уровнем ацетилирования (до 30%), по сравнению с эффективностью пенициллина (59%).

Было доказано, что при лечении бронхолегочных осложнений ОРИ (С.-Петербург, 1993 г.) у детей с высоким уровнем N-АТ (30% и более) возможно применение и пенициллина, тогда как детям с низким уровнем N-АТ (менее 30%) целесообразно назначать гентамицин как препарат, обеспечивающий большую клиническую эффективность за счёт его непосредственного участия в метаболических процессах [5, 12, 14].

У детей с более высоким уровнем ацетилирования (более 30%) были отмечены: меньшая длительность симптомов интоксикации — 5,5±0,3 дня по сравнению с 7,1±1,3 дня у больных с низкой интенсивностью ацетилирования (менее 30%) (табл. 3). Выздоровление детей с N-АТ < 30% сопровождалось увеличением способности к индукции интерферона и максимальной его концентрации, что объясняло более быстрый запуск иммунных реакций и завершённость фагоцитоза, отражавшихся в динамике клинического течения заболевания и обуславливало более быстрый выход из болезни [5, 6]. При лечении детей с низкой N-АТ-активностью эффективность лечения антибиотиками пенициллинового ряда была недостаточной и только при смене на гентамицин процесс выздоровления ускорялся. Эффективность лечения гентамицином у больных с высоким уровнем ацетилирования составила 100%, что объяснялось выраженностью реакций ацетилирования и участием их в метаболизме гентамицина (содержащего свободные аминокислоты и непосредственно участвующего в процессах ацетилирования).

Дифференцированная терапия с учётом ацетиляторного фенотипа, у детей проживающих в условиях Крайнего Севера, ранее не применялась.

Таблица 3. Клинические характеристики тяжести течения ОРИ, осложнённых пневмониями (С.-Петербург)

Клиническая симптоматика	Уровень ацетилирования	
	менее 30%	более 30%
Длительность интоксикации, дни	7,1±1,3	5,5±0,3* ($p<0,05$)
Длительность обструктивного синдрома, дни	8,9±0,4	5,3±1,2* ($p<0,05$)
Длительность дыхательной недостаточности, дни	5,3±0,4	3,5±0,5* ($p<0,05$)

Примечание. * — $p<0,05$ по сравнению с детьми с уровнем ацетилирования менее 30%.

Таблица 4. Сравнение пар-копий больных ОРИ по результатам дополнительной терапии гентамицином (1 и 3; 2 и 4)

Показатели	Больные ОРИ с пневмониями (пары-копии)			
	пенициллин+гентамицин		пенициллин	
	1. А-ва М	2. Ю-в А	3. Ч-в С.	4. К-в А.
Национальность	якутка	русский	якут	русский
Активность N-АТ, %	28	29	25	22
Возраст, лет	12	7	10	7
Слабость, дни	1	2	2	4
Кашель продуктивный*, дни	1	1	2	3
Длительность кашля*, дни	9	9	11	10
Длительность хрипов*, дни	3	4	5	5
Масса при рождении	3720	3470	3800	3500

Сравнение нескольких пар — копий больных детей (близких по возрасту — 7—12 лет и тяжести заболевания) показало достоверное улучшение состояния больных ОРИ, осложнённых пневмониями, после дополнительного назначения гентамицина, независимо от этнической принадлежности (табл. 4). Активность N-АТ2 была в пределах 22—29%, больные поступали на 2—3-й дни болезни, максимальную температуру 39,0—40,3°C наблюдали на 5—7-й дни болезни, длительность гиперемии составила 2—3 дня, головная боль — 3—4 дня, насморк — 8—9 дней.

Как видно из представленных данных, при дополнительном применении гентамицина у больных наблюдали меньшую длительность температурной реакции и меньшую длительность кашля и хрипов.

Кроме того, в условиях Крайнего Севера при лечении детей, больных ОРИ, осложнённых пневмониями, применяли антибиотики цефалоспоринового ряда: цефазолин и цефотаксим (в основе механизма действия которых — нарушение синтеза клеточной стенки бактерий), характеризующиеся высокой клинической эффективностью и низкой токсичностью.

Заключение

Таким образом, проведено сопоставление тяжести течения заболевания у двух различных этнических групп детей в условиях Крайнего Севера и у детей Северо-Западного региона с учётом ацетилаторного фенотипа. Показано значение уровня

активности N-ацетилтрансферазы при ОРИ, осложнённых пневмониями, детей (якутов и русских) в условиях Крайнего Севера, для последующего использования в качестве маркера при оценке предрасположенности ребенка к осложнённому течению ОРИ. Обоснованы показания к направленной антибиотикотерапии в двух этнических группах детей с учётом ацетилаторного фенотипа у детей с ОРИ, осложнённых пневмониями. Сроки развития ОРИ, динамика изменений интенсивности метаболических процессов в клетках крови обусловлены рядом факторов: фазой инфекционного процесса, генетически обусловленной интенсивностью метаболических процессов, в том числе наследственно-обусловленной N-АТ, которая и определяла характер клинического и иммуноадаптационного ответов, этническими особенностями метаболизма ребенка.

Таким образом, при осложнённых формах ОРИ необходимо учитывать уровень N-АТ2 активности ребенка, способность антибиотиков вступать в процессы ацетилирования. Применение гентамицина, непосредственно участвующего в процессах ацетилирования, в 83% случаев обеспечивало эффективность антибиотикотерапии у детей с низким уровнем N-АТ активности. В то же время применение бета-лактамов цефалоспоринового ряда и пенициллина, метаболизм которых непосредственно не связан с реакциями ацетилирования, лишь в 20% случаев обеспечивало эффективность лечения ОРИ у детей с низким уровнем ацетилирования (менее 30%).

ЛИТЕРАТУРА

1. Буловская Л.Н. Изучение типа ацетилирования при злокачественных новообразованиях и противоопухолевого действия анагормона АКТГ: Автореф. дисс. ... д-ра биол. наук. Л.: 1980; 44.
2. Рудая Н.В., Сиваченко О.Е., Алферов А.Н., Бычкарёв Е.М., Коржов В.И. и др. Состояние системы ферментов окисления в зависимости от ацетилтрансферазной активности. Укр биохим журн 1993; 65: 6: 108—111.

3. Яковлева О.А., Косован А.И., Дякова О.В., Царук В.В. и др. Генотипический и фенотипический полиморфизм N-ацетилтрансфераз в роли предикторов бронхолегочных заболеваний. Пульмонология. 2003; 4: 115—121.
4. Дробаченко О. А., Буловская Л.Н., Иванова В.В. и др. Сравнительная характеристика мономорфного и полиморфного ацетилирования. Клинич лаб диагн 1994; 4: 49.
5. Вершинина Е.Н. Иммунометаболические нарушения и способы их терапевтической коррекции при респираторных заболеваниях у детей с герпесвирусным инфицированием: Автореф. канд. дисс. СПб.: 1996; 25.
6. Тихонова В.А. Особенности течения, исходов и терапии НВ-вирусной инфекции у детей с различным фенотипом ацетилирования: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. СПб.: 1995; 17.
7. Cascorbi I., Brockmoller J., Mrozikiewicz P.M., Muller A. Arylamine N-acetyltransferase activity in man. Drug Metab Rev 1999; 31: 2: 489—502.
8. Бориско А. М., Моргулис О.Г., Яковлева О.А. Состояние процессов ацетилирования у больных с синдромом бронхоспазма. Пульмонология. Респ Межведомств Сб. 1993; 10: 55—57.
9. Кулес В.Г. Метаболизм лекарственных средств: клинико-фармакологические аспекты. М.: 2004; 81—83.
10. Дробаченко О. А. Особенности иммунометаболических взаимоотношений у детей, больных острыми респираторными вирусными инфекциями, и пути направленной терапии: Автореф. дис. на соиск. учен. степ. канд. мед. наук. СПб.: 1993; 25.
11. Иванова В.В., Говорова Л.В., Ербаская А.В., Железникова Г.Ф. Роль генетических факторов в развитии метаболического и иммунного ответа при острых респираторных инфекциях с пневмониями в условиях Крайнего Севера в различных этнических группах. Журн Инфектология 2012; 4: 1: 55—59.
12. Иванова В.В., Говорова Л.В., Ербаская А.В. Особенности течения пневмоний у детей Северо-Западного региона и Крайнего Севера с быстрым и медленным типами ацетилирования. Тез межд конф по инфектологии 08—09 октября 2009; 26—29.
13. Гармонов С.Ю., Евгеньев М.И., Зыкова М.И. Аналитические методы исследования генетического полиморфизма организма человека. Вопр биолог мед и фарм химии. 2004; 1: 3—20.
14. Иванова В. В., Буловская Л. Н., Железникова Г. Ф. Особенности иммунометаболических взаимоотношений у детей, переносящих острые респираторно-вирусные инфекции. Журн Иммунология 1997; 6: 45—47.
15. Ербаская А.В., Иванова В.В., Говорова Л.В. Особенности течения и терапии острых пневмоний, осложняющих ОРВИ у детей, проживающих на Крайнем Севере. Усовершенствованная медицинская технология, Научные труды к 85-летию НИИДИ «Современные подходы к диагностике, терапии и профилактике инфекционной заболевания у детей». СПб.: 2011; 1: 316—344.
16. Сулейманов С. Ш. Особенности функционирования системы биотрансформации ксенобиотиков в адаптивных реакциях и патологии малочисленных народов Крайнего Севера: Автореф. дис. на соиск. уч. степ. док. мед. наук. Волгоград. 1997.
17. Буловская Л.Н., Борисенко Г.Н., Дробаченко О.А. и др. Определение фенотипа N-ацетилтрансферазной активности. Лаб дело 1990; 10: 28—30.
18. Погорельцев В.И., Шакирова Л.Ш., Евгеньев М.И., Гармонов С.Ю. Метод определения фенотипа ацетилирования с использованием сульфадимезина в качестве фармакогенетического маркера. Хим-фарм журн 2000; 11: 5—8.
19. Урбах В.Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях. М.: Медицина. 1975; 296.

Значение использования пробиотика в снижении частоты инфекционных осложнений у недоношенных детей

Л. А. ЛО СКИАВО¹, Н. В. ГОНЧАР^{2,3}, А. Н. СУВОРОВ^{4,5}, Н. П. ШАБАЛОВ⁶, С. Г. ГРИГОРЬЕВ⁶

¹ Детская городская больница №1, Санкт-Петербург

² Кафедра педиатрии и неонатологии Северо-Западного государственного медицинского университета им. И. И. Мечникова, Санкт-Петербург

³ НИИ детских инфекций ФМБА РФ, Санкт-Петербург

⁴ НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН, Санкт-Петербург

⁵ Кафедра фундаментальных проблем медицины и медицинских технологий Санкт-Петербургского государственного университета

⁶ Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

Value of Probiotic in Reducing Frequency of Infectious Complications in Premature Infants

L. A. LO SCHIAVO, N. V. GONCHAR, A. N. SUVOROV, N. P. SHABALOV, S. G. GRIGORIEV

Municipal Children's Hospital №1, St. Petersburg

I. I. Mechnikov North-Western State Medical University, St. Petersburg

Scientific Research Institute of Children's Infections, St. Petersburg

Research Institute of Experimental Medicine, North-Western Branch of Russian Academy of Medical Sciences, St. Petersburg

Department of Fundamental Problems of Medicine and Medical Technologies, St. Petersburg State University, St. Petersburg

S. M. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg

У 55 недоношенных детей с очень низкой массой тела при рождении оценивали эффективность выхаживания в условиях стационара. Стандартная программа выхаживания детей включала: адекватную первичную реанимацию, респираторную поддержку (с применением сурфактанта), тепловой режим, раннее обеспечение нутриентами, включая полное или частичное парентеральное питание, антибактериальную терапию и, по возможности, раннее начало энтерального питания. Пациенты основной группы ($n=29$) наряду со стандартной терапией (при объеме энтерального питания 5 мл и более) получали внутрь жидкую пробиотическую форму на основе *E.faecium* L3 в дозе по 0,5 мл (5×10^8 КОЕ) 3 раза в день в течение 14 дней; группа сравнения ($n=26$) получала стандартную терапию. Эффективность программ выхаживания детей оценивали по частоте возникновения ситуаций «срыва питания», частоте инфекционных осложнений, по характеру изменений гематологических показателей, динамике состава кишечной микробиоты. К проявлениям инфекционных осложнений относили вирусную внутриутробную инфекцию, внутриамниотическую инфекцию, некротический энтероколит. У больных основной группы установлено достоверное снижение частоты инфекционных осложнений: 20,7% против 53,9% у детей группы сравнения. Использование пробиотического штамма *E.faecium* L3 у недоношенных детей способствовало сохранению иммуномодулирующей функции индигенной кишечной микробиоты и сдерживало рост нозокомиальной флоры.

Ключевые слова: недоношенные дети, инфекционные осложнения, неонатальный период, микрофлора, лечение, пробиотики, энтерококк.

Fifty five premature infants with very low body weight were observed as inpatients to assess effectiveness of the nursing. The standard program of the care included: adequate primary resuscitation, respiratory support (use of surfactant), thermal mode, early provision of nutrients with full or partial parenteral nutrition, antimicrobial therapy and if possible early enteral nutrition. The patients of the main group ($n=29$) along with the standard therapy (the volume of the enteral nutrition of 5 ml or more) were treated orally with liquid probiotic based on *E.faecium* L3 in a dose of 0.5 ml (5×10^8 CFU) 3 times a day for 14 days. The control group ($n=26$) was under the standard therapy. The effectiveness of the infants management was estimated by the frequency of disruption of the nutrition, the frequency of infectious complications, the changes in the hematologic indices, the dynamics of the composition of the intestinal microflora. The infectious complications were evident from perinatal viral infection, intraamniotic infection, necrotizing enterocolitis. In the main group patients there was recorded a significant decrease of the frequency of infectious complications: 20.7% against 53.9% in the control group patients. The use of probiotic strain *E.faecium* L3 in the preterm infants promoted conservation of the immunomodulatory function of the intestinal indigenic microflora and restricted the growth of the nosocomial flora.

Key words: preterm infants, infectious complications, neonatal period, microflora, treatment, probiotics, Enterococcus.

© Коллектив авторов, 2014

Адрес для корреспонденции:

E-mail: nvgonchar@yandex.ru

Введение

Изучение состояния здоровья детей показывает, что на протяжении 5—6 последних лет в Российской Федерации ежегодно 35—37% детей рождаются больными или заболевают в периоде новорожденности, не менее 9—10% детей рождаются недоношенными и с низкой массой тела [1]. В то же время последние десятилетия ознаменовались неуклонным снижением младенческой смертности. Снижение данного показателя произошло по многим причинам, но заметнее всего (на 52,4%) по причине уменьшения частоты патологических состояний перинатального периода [1].

Наиболее частой причиной невынашивания беременности и летальности новорожденных детей является вирусная внутриутробная инфекция (ВУИ) смешанной (цитомегаловирус, герпес, краснуха) этиологии [2]. У детей с клинически выраженной инфекционной патологией при рождении антигены вирусов определяют в 92,3% случаев, причём в 74,3% выявляют микстинфицирование; у детей без признаков инфекционной патологии — в 23,3% [3]. Распространённость внутриутробного инфицирования в популяции весьма значительна и достигает 10—15% [4]. Однако вероятность трансформации внутриутробного заражения в инфекционный процесс зависит не только от особенностей инфекционного агента, генотипа плода, но прежде всего от исходно неблагоприятного иммуноэндокринного статуса матери. При этом остается неясным, какими конкретно дефектами иммунитета определяется переход внутриутробного инфицирования в инфекционный процесс [5].

Особенностью врождённого и приобретённого иммунитета новорожденных детей является недостаточная активность, в силу чего на фоне слабой резистентности к условно-патогенной и гноеродной флоре создается опасность реализации инфекции. Опасность инфекции усугубляется при нарушениях иммунобиологического взаимоотношения в системе «мать — плацента — плод». Недоношенные дети, особенно глубоко недоношенные, являются наиболее незащищёнными от условно-патогенной инфекции [6]. К числу главных причин манифестации инфекции относят несовершенство кишечного кровотока и незрелость местных защитных факторов слизистой оболочки кишечника.

Проблемы селективной стимуляции иммунной системы могут быть решены с помощью пробиотических препаратов [7—9]. Они способны воздействовать на ключевые звенья патогенеза инфекционного заболевания (токсины, адгезию, инвазию, транслокацию); оказывают влияние на механизм действия основного лекарственного препарата (например, улучшают антимикробный

эффект антибиотиков). Пробиотические штаммы энтерококков включены в спектр микроорганизмов, широко используемых в профилактических и лечебных целях [10]. Эти штаммы имеют гарантию безопасности и не адаптированы к длительной персистенции в человеческом организме [11]. Последнее нисколько не умаляет значения пробиотических энтерококков в связи с их выраженными полезными эффектами [12, 13].

Целью работы явилось изучение влияния использования пробиотического штамма *E.faecium* L3 в неонатальном периоде у недоношенных детей с очень низкой массой тела (ОНМТ) на частоту инфекционных осложнений и динамику состава кишечной микробиоты.

Материал и методы

В специализированном отделении патологии новорожденных детей многопрофильного педиатрического стационара в процессе выхаживания наблюдали 55 недоношенных с ОНМТ (25 мальчиков и 30 девочек), родившихся на 29,0±0,3 ($M\pm m$) недели гестации. Пациенты поступали из родильных домов и отделения реанимации стационара; возраст детей на момент поступления составил 3,3±0,5 дня, масса тела — 1204,0±26,6 г; длина тела — 37,0±0,4 см. В исследование не входили пациенты с грубыми пороками развития, с тяжёлыми перинатальными поражениями ЦНС. Стандартная программа выхаживания недоношенных детей с ОНМТ включала: адекватную первичную реанимацию, респираторную поддержку (с применением сурфактанта), тепловой режим, раннее обеспечение нутриентами, включая полное или частичное парентеральное питание, антибактериальную терапию и, по возможности, раннее начало энтерального питания. Перевод детей на энтеральное питание предусматривал последовательное использование питательных формул Алфаре, ПреНАН, НАН Гипоаллергенный (и/или грудное молоко).

Наблюдаемые пациенты были рандомизированы на две группы. Группа 1 ($n=26$, группа сравнения) получала стандартную терапию. Группа 2 ($n=29$, основная группа) при объёме энтерального питания 5 мл и более дополнительно получала внутрь жидкую пробиотическую форму (молочнокислую закваску) на основе *E.faecium* L3 по 0,5 мл 3 раза в день в течение 14 дней. Данная пробиотическая форма *E.faecium* L3 (№ RU. 77.99.26.009.E.002272.02.11) используется в производстве немолочных продуктов лечебного питания, в 1 мл её содержится 10⁹ КОЕ живых энтерококков. В группе 1 грудное молоко в питании получали 7 детей (26,9%), в группе 2 — всего 11 детей (37,9%), из них 8 (27,6%) — грудное молоко вместе с питательными формулами.

Эффективность использованных программ выхаживания детей с ОНМТ оценивали с учётом экстрагенитальной патологии матерей, осложнений беременности, а также по частоте возникновения у детей ситуаций «срыва питания», по частоте диагностики инфекционных осложнений, по характеру изменений гематологических показателей, длительности парентерального питания, длительности терапии антибиотиками, длительности пребывания в стационаре, динамике состава кишечной микробиоты. К инфекционным осложнениям относили диагностированную вирусную внутриутробную инфекцию (ВУИ) у 9 детей, внутриамниотическую инфекцию (ВАИ) у 10 детей, некротический энтероколит (НЭК) — у 2. Выполнение программы исследования было одобрено Комитетом по вопросам этики.

Качественный и количественный состав микробиоты кишечника недоношенных детей изучали трёхкратно с интервалом 14 дней по данным исследования фекалий методами ПЦР

Таблица 1. Исходные характеристики сравниваемых групп недоношенных детей

Исходные клинические характеристики недоношенных детей с ОНМТ	Группа 1	Группа 2	t	p
Число мальчиков, абс. (%)	11 (42,3%)	14 (48,3%)	-0,45	>0,05
Число девочек, абс. (%)	15 (57,7%)	15 (51,7%)	0,45	>0,05
Возраст на момент поступления в стационар, дни	3,6±0,9	3,0±0,4	0,63	>0,05
Гестационный возраст, нед.	28,9±0,4	29,1±0,4	-0,40	>0,05
Масса тела при рождении, г	1196,9±36,3	1210,3±39,5	-0,25	>0,05
Длина тела при рождении, см	37,0±0,5	37,0±0,5	0,10	>0,05
Оценка по шкале Апгар на 1 мин жизни, балл	5,3±0,3	5,4±0,4	-0,22	>0,05
Оценка по шкале Апгар на 5 мин жизни, балл	6,5±0,2	6,1±0,3	0,93	>0,05

Таблица 2. Частота признаков негладкого течения выхаживания недоношенных детей

Исследуемые показатели	Группа 1		Группа 2		χ^2	p
	нет	есть	нет	есть		
Центральный венозный доступ более 10 дней	3 (11,5%)	23 (88,5%)	2 (6,9%)	27 (93,0%)	0,02	>0,05
Терапия антибиотиками более 10 дней	2 (8,7%)	24 (92,3%)	3 (10,3%)	26 (89,7%)	0,09	>0,05
Ситуации «срыва питания»	16 (61,5%)	10 (38,5%)	23 (79,3%)	6 (20,7%)	1,88	>0,05
ВУИ	20 (76,9%)	6 (23,1%)	26 (89,7%)	3 (10,3%)	1,62	>0,05
ВАИ	19 (73,1%)	7 (26,9%)	26 (89,7%)	3 (10,3%)	2,53	>0,05
Инфекционные осложнения	12 (46,2%)	14 (53,8%)	23 (79,3%)	6 (20,7%)	6,51	<0,05
Положительный высеv из крови	25 (96,2%)	1 (3,8%)	27 (93,1%)	2 (6,9%)	0,24	>0,05
Лейкоцитоз	14 (53,8%)	12 (46,2%)	17 (58,6%)	12 (41,4%)	0,06	>0,05
Анемия	4 (15,4%)	22 (84,6%)	4 (13,8%)	25 (86,2%)	0,26	>0,05
Моноцитоз	0 (0%)	26 (100%)	5 (17,2%)	24 (82,8%)	4,01	<0,05
Эозинофилия	12 (46,2%)	14 (53,8%)	18 (62,1%)	11 (37,9%)	1,15	>0,05

в реальном времени и расширенного бактериологического анализа с определением количества анаэробных и аэробных микроорганизмов (периоды исследований 1—2—3). Забор фекалий для исследования 1 проводили на следующий день после поступления детей. В группе 2 забор фекалий для исследования 2 проводили после завершения терапии пробиотической формой на основе *E. faecium* L3. К моменту первого забора материала ни один ребенок не получал пробиотических препаратов.

Исследуемые клинические и параклинические показатели были адаптированы для математической обработки и проанализированы с использованием простого (методы параметрической и непараметрической статистики) и многомерного статистического анализа на персональной ЭВМ Intel Celeron. В качестве практического инструмента для проведения вычислительных экспериментов применяли пакеты программ прикладного статистического анализа («Statistica for Windows v. 7», «Microsoft Excel 2000»).

Результаты и обсуждение

Пациенты анализируемых групп были сопоставимы между собой, они достоверно не отличались по основным исходным характеристикам: полу, возрасту на момент поступления, гестационному возрасту, массе и длине тела на момент рождения, оценке по шкале Апгар на 1 и 5 мин жизни (табл. 1).

Изучение признаков, характерных для неблагоприятного течения выхаживания наблюдаемых недоношенных детей с ОНМТ, выявило достоверно более высокую частоту проявлений инфекционных осложнений у пациентов группы 1 (табл. 2).

Надо отметить, что НЭК был диагностирован только в группе 1 у 2 (7,7%) детей. В этой группе также отмечены: большая частота возникновения ситуаций «срыва питания»; лейко-

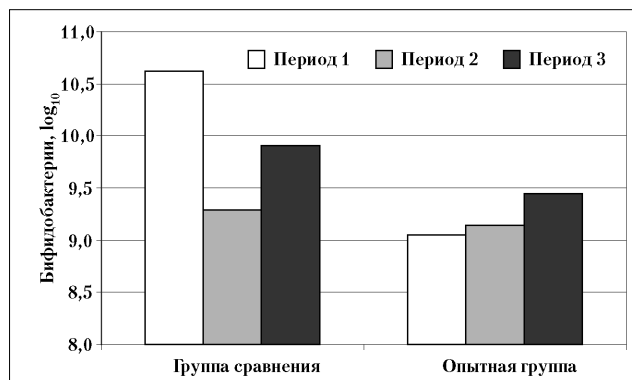


Рис. 1. Динамика количества бифидобактерий (КОЕ/г) в периоды 1, 2, 3, по данным исследования фекалий методом ПЦР в реальном времени у недоношенных детей с ОНМТ группы сравнения и опытной группы.

цитоза, моноцитоза ($p < 0,05$) и эозинофилии в крови. Частота выявления синдрома дыхательных расстройств, бронхолегочной дисплазии, неонатальной желтухи в группах достоверно не отличались.

Далее методом дисперсионного анализа была изучена динамика состава индигенной и условно-патогенной микробиоты (УПМ) кишечника на фоне использованных программ выхаживания недоношенных детей с ОНМТ. Установлено, что, в отличие от пациентов группы 2, количество бифидобактерий (рис. 1) и лактобацилл (рис. 2) между периодами 1 и 2 у детей группы 1 более заметно снижалось. При этом количество клебсиелл меж-

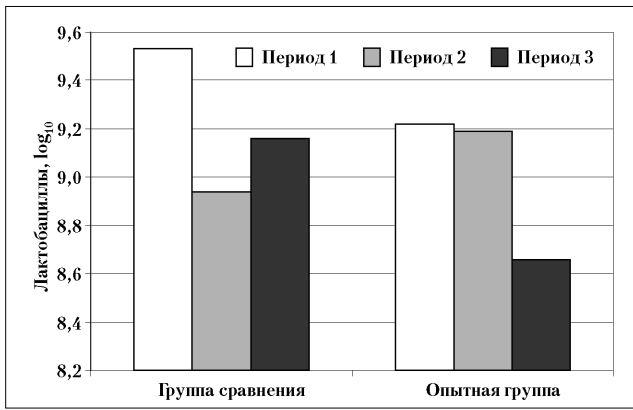


Рис. 2. Динамика количества лактобацилл (КОЕ/г) в периоды 1, 2, 3, по данным исследования фекалий методом ПЦР в реальном времени у недоношенных детей с ОНМТ группы сравнения и опытной группы.

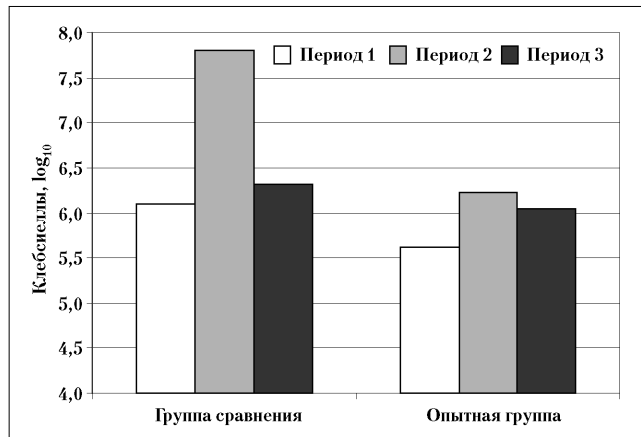


Рис. 3. Динамика количества клебсиелл (КОЕ/г) в периоды 1, 2, 3, по данным бактериологического исследования фекалий у недоношенных детей с ОНМТ группы сравнения и опытной группы.

ду периодами исследований 1 и 2 в группе 1 возросло (рис. 3).

Сравнение динамики состава индигенной и УПМ кишечника недоношенных детей с ОНМТ под влиянием различных схем терапии методом Wilcoxon (не ограниченного условием нормального распределения данных) для парных выборок выявило у детей группы 1 достоверное снижение ($p < 0,05$) количества бифидобактерий (в периоды 1—3) и увеличение количества клебсиелл ($p < 0,05$) в периоды 1—2. У детей группы 2 отмечено достоверное нарастание ($p < 0,05$) количества клебсиелл в периоды 1—3.

Таким образом, за время наблюдения в условиях стационара в обеих группах детей на фоне угнетения индигенной флоры было отмечено нарастание клебсиелл, являющихся яркими представителями нозокомиальной флоры. Использование пробиотической формы *E.faecium* L3 у недоношенных детей с ОНМТ группы 2 сдерживает рост УПМ на фоне лечения антибиотиками и, возможно, является одним из определяющих факторов, обеспечивающих снижение частоты инфекционных осложнений.

Для определения детерминирующих факторов формирования осложнений инфекционного происхождения в процессе выхаживания недоношенных детей с ОНМТ был использован дискриминантный анализ [14]. Данный метод многомерной статистики позволил автоматически

пошагово отобрать ограниченное число наиболее информативных признаков для решения поставленной задачи и представить их в виде линейных дискриминантных функций ЛДФ1 (отсутствие инфекционных осложнений) и ЛДФ2 (наличие инфекционных осложнений).

В полученную дискриминантную модель по данным обследования 51 новорожденного ребенка с ОНМТ вошли 6 признаков, включающих отягощенный акушерско-гинекологический анамнез матери, наличие у неё хронической никотиновой интоксикации, родоразрешение методом кесарева сечения, оценку количества эшерихий в фекалиях детей методом ПЦР в реальном времени, наличие эозинофилии в анализе крови, использование в терапии пробиотического штамма *E.faecium* L3 (табл. 3, табл. 4).

Точность детерминирования факторов, способствующих манифестации осложнений инфекционного генеза, у недоношенных детей с ОНМТ по решающим правилам созданной дискриминантной модели составила 70% (14 из 20), точность детерминирования факторов отсутствия инфекционных осложнений — 87,1% (27 из 31), общая точность модели — 80,4% (41 из 51); информативная достоверность модели $p < 0,01$.

Самым информативным при использовании дискриминантной модели оказался эффект лечения детей пробиотической формой *E.faecium* L3.

Таблица 3. Признаки, вошедшие в дискриминантную модель и оценка их информативности

Наименование признаков и степень их выраженности	Коды признаков	<i>p</i>
Лечение пробиотической формой <i>E.faecium</i> L3: 1 — нет; 2 — есть	X ₁	0,0003
Эозинофилия в крови: 0 — нет; 1 — есть	X ₂	0,2133
Оценка количества эшерихий в фекалиях детей методом ПЦР в реальном времени: 1 — мало; 2 — достаточно; 3 — много	X ₃	0,4190
Отягощенный акушерско-гинекологический анамнез матери ребенка: 0 — нет; 1 — есть	X ₄	0,0010
Хроническая никотиновая интоксикация матери: 0 — нет; 1 — есть	X ₅	0,2072
Роды методом кесарева сечения: 0 — нет; 1 — есть	X ₆	0,3696

Таблица 4. Коэффициенты линейных дискриминантных функций

Коды признаков	ЛДФ1 (отсутствие инфекционных осложнений)	ЛДФ2 (наличие инфекционных осложнений)
X ₁	10,6796	7,59842
X ₂	4,7520	3,78453
X ₃	3,1286	2,76814
X ₄	-1,2862	0,74362
X ₅	-0,2726	0,92787
X ₆	-0,8717	-0,15004
Константа	-12,1976	-8,77751

Следовательно, с помощью метода дискриминантного анализа было получено подтверждение роли использования жидкой пробиотической формы на основе *E.faecium* L3 в снижении частоты инфекционных осложнений у недоношенных детей с ОНМТ.

Сравнение использованных программ выхаживания у недоношенных детей группы 1 и группы 2 по длительности стационарного лечения ($52,5 \pm 2,8$ дн.; $54,2 \pm 4,1$ дн.; $p > 0,05$), длительности периода парентерального питания ($18,0 \pm 1,9$ дн.; $19,8 \pm 2,2$ дн.; $p > 0,05$), длительности периода до перехода на полное энтеральное питание ($18,8 \pm 1,9$ дн.; $20,3 \pm 2,2$ дн.; $p > 0,05$) не выявило значимых различий.

Полученные данные косвенно свидетельствуют о положительном влиянии пробиотической формы на основе *E.faecium* L3 на состояние иммунитета недоношенных детей, что совпадает с данными других авторов [15]. Это влияние опосредовано корригирующим действием пробиотического штамма *E.faecium* L3 на формирование кишечной микробиоты новорожденного ребенка. В нашем исследовании выявлена положительная связь между воздействием *E.faecium* L3 на микробиоту детей и количеством *Bacteroides fragilis*, лактобацилл, бифидобактерий — трёх основных представителей микробиоты человека (*Bacteroides*, *Firmicutes*, *Actinobacteria* соответственно). Более высокая частота манифестации осложнений инфекционного генеза в неонатальном периоде у недоношенных детей от матерей с отягощённым акушерско-гинекологическим анамнезом, имеющих хроническую никотиновую интоксикацию (что подтверждают результаты проведённого дискриминантного анализа) свидетельствует о недостаточном врождённом иммунитете детей с ОНМТ. Отрицательные медико-социальные факторы снижают уровень физического развития детей, ухудшают состояние здоровья, действие их реализуется уже во внутриутробном периоде жизни [16]. Напряжённость реакций иммунитета у недоношенных детей, имеющих признаки течения инфекционного процесса, отражает повышение частоты лейкоцитоза, моноцитоза и эозинофилии в

анализах крови. Необходимо подчеркнуть, что внутриутробное инфицирование предрасполагает к развитию бактериальной инфекции у новорождённых детей [17].

В проведённом исследовании продемонстрировано отрицательное влияние нозокомиальной инфекции (а именно, нарастание клебсилл) на формирование кишечной микробиоты недоношенных детей. Использование пробиотического штамма *E.faecium* L3 позволяет на некоторое время сдерживать рост клебсилл, что, очевидно, в дальнейшем определяет исход, т.е. способствует снижению риска инфекционных осложнений.

Возникающие ситуации «срыва питания», сопровождающиеся симптомами выраженного метеоризма, нарушения отхождения газов, беспокойства ребенка, задержкой стула, являются результатом незрелости морфологии и защитной функции слизистой оболочки кишечника недоношенных детей, провоцируются нарушениями микробиоценоза кишечника на фоне размножения госпитальной флоры. Подобные ситуации реже отмечались у пациентов, получавших жидкую пробиотическую форму *E.faecium* L3, они были причиной возвращения к полному парентеральному питанию, чем значительно деформировали программу выхаживания недоношенных детей.

Заключение

Проблема инфекционных осложнений у глубоконедоношенных детей более успешно может быть решена с помощью профилактического использования пробиотиков на ранних этапах выхаживания в стационаре. Применение пробиотического штамма *E.faecium* L3 недоношенным новорождённым детям является оправданным, оно способствует сохранению иммуномодулирующей функции индигенной кишечной микробиоты, сдерживанию роста нозокомиальной флоры и ведёт к снижению частоты проявлений инфекционных осложнений. Вопросы влияния пробиотических штаммов на иммунную систему, функциональное состояние и качество созревания системы пищеварения у недоношенных детей требуют дальнейшего изучения.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Баранов А.А.* Состояние здоровья детей в Российской Федерации. Педиатрия 2012; 91: 3: 9—14.
2. *Нисевич Л.Л., Талалаев А.Г., Каск Л.Н. и соавт.* Врождённые вирусные инфекции и маловесные дети. Вопр. совр. педиатрии 2002; 1: 4: 9—13.
3. *Шабалов Н.П.* Внутриутробные инфекции. В кн.: Неонатология. Учебн. пособ. в 2-х т. / Н.П. Шабалов. Т. II. М.: МЕДпресс-информ, 2004; 61—108.
4. *Дегтярев Д.Н., Заплатников А.Л., Рюмина И.И.* Врождённая и перинатальная инфекция. В кн.: Неонатология. Нац. рук. / Под ред. Н.Н. Володина. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007; 656—672.
5. *Шабалов Н.П.* Общебиологическая проблема: закономерности и последствия перинатального инфицирования человека. Педиатрия 2012; 91: 3: 26—31.
6. *Самсыгина Г.А.* О предрасполагающих факторах и факторах риска развития неонатального сепсиса и о современных подходах к его лечению. Педиатрия 2012; 91: 3: 32—37.
7. *Калмыкова А.И., Селятицкая Н.П., Пальчикова Н.А. Бгатова Н.П.* Клеточные и системные механизмы действия пробиотиков. Новосибирск; 2007.
8. *Ren Y.F., Wang L.L.* Effects of probiotics on intestinal bacterial colonization in premature infants. Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi. 2010; 12: 3: 192—194.
9. *Руш К., Руш Ф.* Микробиологическая терапия. Теоретические основы и практическое применение. Пер. с нем. М.: Арнебия, 2003.
10. *Ардатская М.Д., Мишушкин О.Н.* Пробиотики в лечении функциональных заболеваний кишечника. Экспер и клин гастроэнтерол 2012; 3: 106—113.
11. *Захаренко С.М., Суворов А.Н.* Антибиотики, пробиотики, пребиотики: друзья или враги? Consil. medicum 2009; 11: 8: 47—51.
12. *Ермоленко Е.И., Черныш А.Ю., Марцинковская И.В. и соавт.* Влияние пробиотических энтерококков на рост *Streptococcus agalactiae*. Журн микробиол эпидемиол и иммунол 2007; 5: 73—77.
13. *Суворов А.Н., Захаренко С.М., Алехина Г.Г.* Энтерококки как пробиотики выбора. Клини питан (СПб) 2003; 1: 26—29.
14. *Юнкеров В.И., Григорьев С.Г., Резванцев М.В.* Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований, 3-е изд., доп. СПб.: ВМедА, 2011.
15. *Таищева Н.Б.* Оптимизация выхаживания недоношенных детей с непрямой гипербилирубинемией и нарушением микробной колонизации кишечника: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М.: 2004.
16. *Елизарова Т.В., Зрячкин Н.И.* Медико-социальные факторы, определяющие физическое развитие детей грудного и раннего возраста. Росс пед журн 2012; 2: 26—29.
17. *Сергеева В.А.* Роль системного фетального воспалительного ответа и эндотелиальной дисфункции в развитии критических состояний у новорождённых: Автореф. дисс. ... докт. мед. наук. СПб.: 2011.

Действие антибиотиков как сигнальных молекул

В. Г. БУЛГАКОВА, К. А. ВИНОГРАДОВА, Т. И. ОРЛОВА, П. А. КОЖЕВИН, А. Н. ПОЛИН

Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова

Action of Antibiotics as Signalling Molecules

V. G. BULGAKOVA, K. A. VINOGRADOVA, P. A. KOZHEVIN, A. N. POLIN

M. V. Lomonosov Moscow State University, Moscow

Ранее предполагалось, что в природных условиях почвенные микроорганизмы продуцируют антибиотики только для подавления роста конкурентов. В настоящее время показано, что в субингибиторных концентрациях антибиотики выполняют роль сигнальных молекул в качестве средства коммуникации в микробной популяции. Антибиотики как сигнальные молекулы модулируют транскрипцию генов и регулируют их экспрессию. Субингибиторные концентрации антибиотиков могут вызывать фенотипические и генотипические изменения у микроорганизмов. Подобные транскрипционные изменения зависят от взаимодействия антибиотиков с такими макромолекулярными рецепторами, как рибосомы и РНК-полимераза. Действие антибиотиков как сигнальных молекул и кворум-сенсинг система являются регуляторными механизмами у микроорганизмов. Показано влияние антибиотиков как сигнальных молекул на систему кворум-сенсинга.

Ключевые слова: антибиотики, сигнальные молекулы, микроорганизмы.

It was thought that antibiotics should be produced by soil microorganisms to inhibit the growth of competitors in natural habitats. Yet it has been shown that antibiotics at subinhibitory concentrations may have a role as signalling molecules providing cell-to-cell communication in bacteria in the environment. Antibiotics modulate gene transcription and regulate gene expression in microbial populations. Subinhibitory concentrations of antibiotics may cause a number of phenotypic and genotypic changes in microorganisms. These transcription changes are dependent on the interaction of antibiotics with macromolecular receptors such as ribosome or RNA-polymerase. Antibiotic signalling and quorum-sensing system are important regulatory mechanisms in bacteria. It was demonstrated that antibiotics interfered with quorum-sensing system.

Key words: antibiotics, signalling molecules, microorganisms.

Антибиотики в течение нескольких десятилетий рассматривались исключительно как ингибиторы микроорганизмов — антимикробные препараты, используемые для лечения большинства инфекционных заболеваний. Предполагалось, что экологическая роль антибиотиков в природе состоит в угнетении конкурентов в окружающей среде. Обсуждалась возможность образования в естественных условиях концентрации антибиотиков, достаточно высокой для подавления микроорганизмов.

Однако к настоящему времени накоплены данные о высокой биологической активности антибиотиков, проявляемой ими в концентрациях, меньших, чем вызывающие прекращение размножения или гибель бактерий, т. е. в субингибиторных концентрациях (СК).

Способность некоторых ингибиторов в зависимости от используемой концентрации индуцировать у бактерий принципиально различающиеся

реакции была давно отмечена исследователями [1]. Феномен, называемый гормезисом [2], — проявление у низких концентраций ингибиторов активности, отличной от действия высоких концентраций, показан и для антибиотиков. Действуя как ингибиторы в больших концентрациях, антибиотики в СК функционируют как сигнальные молекулы, осуществляя межклеточную сигнализацию и участвуя в процессах коммуникации в различных экосистемах.

Вопросы, связанные с функционированием антибиотиков как сигнальных молекул, освещены в ряде обзоров [1, 3—7].

Сигнальная роль СК антибиотиков осуществляется через модифицирование процесса транскрипции [4, 8—10]. При этом индуцируются изменения в уровне экспрессии генов, в том числе генов, определяющих у патогенных микроорганизмов вирулентность, способность к колонизации и формированию биоплёнок, подвижность, SOS-ответ [1, 4—6, 8, 11]. Помимо антибиотиков описано большое количество низкомолекулярных вторичных метаболитов, выделяемых в среду микроорганизмами и играющих роль сигнальных

© Коллектив авторов, 2014

Адрес для корреспонденции: 119899 Москва, Воробьевы горы. МГУ им. М. В. Ломоносова

молекул, регулирующих экспрессию генов в микробной популяции [3, 6, 12].

Кворум-сенсинг

Действие антибиотиков как сигнальных молекул осуществляется через систему кворум-сенсинга (КВС) и другие сигнальные системы.

КВС — система, обеспечивающая межклеточную коммуникацию в микробных популяциях и координирующая поведение бактерий путём регулирования экспрессии генов [3, 4, 13–19].

Система включает образование самими бактериями сигнальных молекул-автоиндукторов (АИ). Эти молекулы диффундируют в окружающую среду, накапливаются в среде и связываются с рецепторными белками находящимися в среде клеток. Активированные рецепторы связываются с промоторными регионами соответствующих генов, активируя или подавляя их экспрессию во всей популяции.

Принято считать, что действие систем КВС инициируется достижением популяцией определенной степени плотности (образование кворума). Однако предполагается, что КВС может решать и другие задачи, помимо регуляции плотности популяции, осуществлять в целом координацию поведения клеток в связи с различными изменениями во внешней среде [20, 21].

У грамотрицательных бактерий основной механизм контроля экспрессии генов путём КВС — это регуляторная система типа LuxI-LuxR, т.е. синтаза-рецепторный белок. Фермент LuxI образует сигнальные молекулы-автоиндукторы (АИ). Основной класс АИ грамотрицательных бактерий — ацилированные гомосеринлактоны. Молекулы АИ диффундируют в окружающую среду, проникают в находящиеся в среде клетки и взаимодействуют с цитоплазматическими рецепторными белками LuxR. Комплексы LuxR-АИ связываются с ДНК и контролируют экспрессию определённых генов [22].

Гомологи генов *luxI* и *luxR*, кодирующих соответственно синтазу и рецепторный белок, идентифицированы в большом числе геномов. Каждый вид обладает уникальным ферментом LuxI, АИ также видоспецифичны. У микроорганизмов существует большое разнообразие систем типа LuxIR и разнообразие функций, контролируемых этими системами [6, 12, 15, 19, 20, 23].

У грамположительных микроорганизмов сигнальные молекулы обычно представляют собой короткие модифицированные пептиды, которые не способны проникать в цитоплазму. Рецепторами АИ-олигопептидов являются двухкомпонентные системы, состоящие из мембранно-связанного рецептора гистидинкиназы и цитоплазматического белка, действующего как регулятор транскрипции.

Через серию реакций, связанных с фосфорилированием, происходит передача информации к белку, регулирующему изменение экспрессии генов-мишеней [6, 12, 15, 19, 24].

АИ у большинства грамположительных микроорганизмов — это пептиды, однако у стрептомицетов регуляция синтеза большого числа антибиотиков осуществляется производными жирной кислоты — γ -бутиролактонами (БЛ). В 1967 году А. С. Хохловым был обнаружен А-фактор, являющийся БЛ, который индуцирует синтез стрептомицина и образование воздушного мицелия у *Streptomyces griseus* [25]. Сигнальные системы, основанные на БЛ, состоят из соответствующей синтазы и рецепторного белка. Найдено около 10 БЛ-синтаз в геномах стрептомицетов и около 40 рецепторов БЛ, причём не только у стрептомицетов, но и у других родов микроорганизмов [5, 6].

Описанные выше механизмы КВС определяют внутривидовую коммуникацию. Параллельно существует система передачи информации, широко распространённая и у грамположительных и у грамотрицательных микроорганизмов, осуществляющая как внутри-, так и межвидовую коммуникацию. Эта система КВС основана на наличии у бактерий фермента синтазы типа LuxS, синтезирующего автоиндукторы, называемые АИ-2 и представляющие собой производные 4,5-диокси-2,3-пентадиона.

АИ-2 связываются с периплазматическим белком-рецептором LuxP и далее взаимодействуют (в зависимости от вида микроорганизма) либо с двухкомпонентной системой, либо с транспортером [6, 9, 26, 29].

Микроорганизмы могут обладать несколькими КВС-системами. Так, у *Pseudomonas aeruginosa* помимо системы коммуникации, основанной на ацилгомосеринлактонах в качестве АИ, обнаружена уникальная сигнальная система, в которой АИ является гидрофобное производное хинолона, выделяющееся в окружающую среду в виде везикул [12,30,31]. У вида *Vibrio harveyi* имеется три КВС-системы, у вида *V.cholerae* — две [19]. На сегодня описано много классов АИ, ряд видов бактерий выделяет несколько внутривидовых сигналов, также у клеток может быть несколько типов рецепторов [3, 5, 12, 20, 29]. Коммуникация у *Staphylococcus aureus* регулируется, по крайней мере, четырьмя двухкомпонентными системами-рецепторами [12, 24].

Коммуникационные системы контролируют различные функции микроорганизмов, активируя или подавляя экспрессию определённых генов. КВС и другие сигнальные системы регулируют многие аспекты метаболизма, биосинтетическую активность, в том числе синтез антибиотиков, ряд физиологических характеристик. Показано определяющее значение КВС для активации патогенных

свойств бактерий — вирулентности, способности образовывать биоплёнки (БП), конъюгации, горизонтального переноса генов [5, 15, 20, 21, 28, 32].

Вызываемые антибиотиками как сигнальными молекулами различные фенотипические и генотипические изменения в бактериальных клетках осуществляются через воздействие на КВС и другие сигнальные системы. Антибиотики могут блокировать или частично изменять систему КВС.

Показано непосредственное воздействие антибиотиков на образование компонентов системы КВС [33, 34]. Активирование синтеза гомосеринлактонов (и образование факторов вирулентности) происходит при действии СК ряда антибиотиков на *Chromobacterium violaceum* [35]. Феномен подавления азитромицином в СК формирования БП у *P.aeruginosa* непосредственно связан с блокированием компонентов системы КВС [36—40].

Фенотипические изменения, вызываемые субингибиторными концентрациями антибиотиков

Действие СК антибиотиков на уровень экспрессии генов, участвующих в основных биологических процессах, приводит к различным фенотипическим изменениям у микроорганизмов. Происходят изменения в биосинтетических и транспортных процессах, в метаболизме различных соединений, в функционировании системы КВС, в ответных реакциях бактерий на стресс [1, 8, 10, 19, 34].

Анализ ответа генома *Streptococcus pneumoniae* на концентрацию пенициллина, равную 0,5 от минимальной ингибиторной, показал, что у части из 386 генов с изменённым характером транскрипции экспрессия увеличивается (в том числе у генов, участвующих в синтезе клеточной оболочки), у части — уменьшается (гены, кодирующие капсульные полисахариды или элонгацию жирных кислот) [41]. Ингибиторы синтеза белка пурамицин, тетрациклин, хлорамфеникол, эритромицин в СК изменяют транскрипционные процессы этого микроорганизма, в частности, ингибируя биосинтез пуринов *de novo* [9].

Большое значение, особенно в отношении патогенных бактерий, имеет воздействие СК антибиотиков на вирулентность микроорганизмов и их способность образовывать плёнки [1, 4, 42]. Вирулентность культур *P.aeruginosa* усиливается в присутствии СК тобрамицина, тетрациклина, норфлоксацина. Тобрамицин, кроме того, увеличивает подвижность клеток, а тетрациклин активирует систему цитотоксичности [11]. У стрептококков группы А СК ингибиторов синтеза белка могут как увеличивать, так и уменьшать синтез экзопротеинов, в том числе факторов вирулентности [43].

Одна из двухкомпонентных сигнальных систем, имеющихся у *S.aureus*, участвует в контроле экспрессии генов факторов вирулентности. СК β -лактамов индуцируют эту систему, усиливая вирулентность стафилококка [44]. β -лактамы имипенем в СК индуцирует у *P.aeruginosa* экспрессию гена *amp C*, кодирующего хромосомную β -лактамазу [45]. Как активация, так и уменьшение транскрипции генов, определяющих вирулентность и подвижность *Salmonella enterica*, происходит при действии СК ингибитора РНК-полимеразы рифампина [10].

Изучение действия СК антибиотиков различных групп на вирулентность бактерий обнаружило, что антибиотик макролид азитромицин снижает образование факторов вирулентности у *P.aeruginosa*. Антибиотик ингибирует синтез экзотоксина А, протеаз, эластазы, хитиназы, пиоцианина, фосфолипазы С, лектина LecA [38, 46]. У *P.aeruginosa* регуляция синтеза факторов вирулентности осуществляется системами КВС — LasI/LasR и RhlI/RhlR, а также системой КВС с хинолоновым АИ. Азитромицин ингибирует активность этих КВС-систем, подавляя экспрессию генов синтеза факторов вирулентности [36—38]. Помимо азитромицина синтез факторов вирулентности у *P.aeruginosa* ингибируют СК цефтазидима и ципрофлоксацина [39].

У ряда видов бактерий, включая основные патогены человека, в присутствии СК антибиотиков, действующих как межклеточные и даже межвидовые сигнальные молекулы, происходит активирование процесса формирования биоплёнок (БП) [42, 47].

БП — существенный элемент патогенности бактерий. До 80% бактериальных инфекций человека связано с БП. Наиболее распространено образование БП клетками *P.aeruginosa* (особенно мукоидными штаммами), *Staphylococcus epidermidis*, *S.aureus* и энтеробактериями. Муковисцидоз обусловлен формированием в лёгких БП *P.aeruginosa*. Образование БП ведёт к стойким инфекциям мочевых путей, наблюдается при отитах, эндокардитах, остеомиелитах, риносинуситах. Часто БП развиваются на катетерах, контактных линзах, стенках, разного рода имплантах [42].

Образование БП происходит в ответ на различные воздействия внешней среды, в частности на воздействие антибиотиков. Формирование бактериальной популяции плёнки способствует колонизации микроорганизмами поверхностей (в том числе тканей и органов), персистенции патогенов. Бактерии, находящиеся в плёнке, погружены в матрикс. Матрикс мукоидных форм бактерий содержит экзополисахариды, например, алгинат, синтезируемый самими же бактериями и препятствующий проникновению в плёнку антибиотических препаратов. Бактерии в плёнке

более устойчивы, чем свободные бактерии. Повышается также устойчивость бактерий плёнки к иммунному ответу организма [4, 6, 32].

Показано, что СК тобрамицина индуцируют образование БП у *P.aeruginosa* [11, 48]. Образование БП *P.aeruginosa* активируется также тетрациклином и ципрофлоксацином [11]. СК β -лактамно-го антибиотика имипенема влияют на экспрессию генов в клетках *P.aeruginosa*, находящихся в плёнках. Наблюдается как индукция, так и репрессия ряда генов. Имипенем активирует гены, кодирующие синтез алгината, что приводит к утолщению БП и значительному снижению чувствительности к антибиотикам *P.aeruginosa* в плёнке [45]. Механизм индукции образования БП у *P.aeruginosa* включает увеличение синтеза сигнальных молекул — циклических динуклеотидов c-di-GMP, регулирующих формирование БП у этого микроорганизма [42, 48]. Показано также [34], что СК тобрамицина, активирующие образование БП, ингибируют КВС-систему RhII/RhIR *P.aeruginosa*.

У *E.coli* образование БП индуцируется ингибиторами синтеза белка, относящимися к различным классам (тобрамицин, эритромицин, тетрациклин) [47, 48]. БП формируются за счёт активирования синтеза адгезина — полисахарида полиацетилглюкозамина (поли-GlcNAc). Синтез этого полисахарида запускается рибосомой, и информация о рибосомальном статусе передается к системе синтеза сигнальными молекулами гуанозин-bis-дифосфата (ppGpp). Для синтеза poly-GlcNAc и образования БП требуются и сигнальные молекулы c-di-GMP. Вместе эти «second messengers» контролируют образование БП, регулируя уровень в клетке двух белков системы синтеза поли-GlcNAc [42, 49].

Индукция образования БП клетками *S.epidermidis* наблюдается при воздействии СК антибиотиков с различным механизмом действия. У многих штаммов формирование БП обусловлено увеличением синтеза полисахарида поли-GlcNAc [50]. Индукция образования БП происходит в присутствии СК макролидов — эритромицина, кларитромицина, и азитромицина [51]. Индуцируют образование БП тигециклин и ванкомицин. Антибиотики, нарушающие синтез клеточных стенок (пенициллин, оксациллин, цефалексин, цефалотин и ванкомицин) индуцируют экспрессию генов, определяющих образование БП у *S.aureus* [47]. Показано, что СК цефалотина, активирующие формирование БП, инициируют синтез белков — факторов вирулентности, но не влияют на экспрессию генов КВС-системы, модулирующей у *S.aureus* образование БП [52].

СК ампициллина, ципрофлоксацина и тетрациклина активируют образование БП у *Streptococcus intermedius*. Этот процесс регулируется

КВС-системой AI-2/LuxS и основан на увеличении синтеза поли-GlcNAc [32].

Поскольку индукция БП осуществляется широким кругом антибиотиков и некоторыми неантибиотическими веществами предполагается, что, скорее всего, нет единого механизма индукции антибиотиками процесса формирования плёнок, во многих случаях этот процесс представляет собой общий ответ на стрессовое воздействие на клетки.

В процессе изучения действия СК антибиотиков на образование БП бактериями было обнаружено, что азитромицин способен подавлять не только синтез факторов вирулентности, но и формирование биоплёнок у *P.aeruginosa*. Показано [53], что антибиотик подавляет синтез алгината у мукоидных штаммов и синтез экзополисахаридов у немучоидных штаммов *P.aeruginosa*. Было предположено, что это связано с ингибированием азитромицином межклеточной коммуникации из-за нарушения систем КВС. Дальнейшие исследования показали, что азитромицин ингибирует системы КВС, подавляя экспрессию большого числа генов, участвующих в формировании КВС, регулирующих синтез алгината и его полимеризацию, образование рамнолипидов и адгезина белка Lec A [36—39]. Обнаружено также, что азитромицин ингибирует у *P.aeruginosa* синтез двух типов сигнальных молекул-индукторов гомосеринлактонов [40].

В модельных опытах на мышах с хронической лёгочной инфекцией азитромицин подавляет синтез факторов вирулентности *P.aeruginosa*, приводит к значительному очищению лёгких от БП и уменьшает проявления лёгочной патологии по сравнению с контрольными животными [38]. Азитромицин показал хорошие результаты *in vivo* при экспериментальных инфекциях мочевых путей — наблюдалась полная очистка тканей почек у мышей, инфицированных *P.aeruginosa* [40].

Имеются данные об эффективности азитромицина при лечении хронического муковосцидоза, вызываемого образующими алгинат штаммами *P.aeruginosa* [37, 39, 54]. При этом антибиотик практически не эффективен против *P.aeruginosa in vitro* — значение МПК составляет 128—512 мкг/мл. Однако СК антибиотика, возникающие в условиях *in vivo*, воздействуя на КВС и контролируемой этой системой синтез БП и факторов вирулентности, улучшают функцию лёгких [38, 39].

Однако описан и случай негативного действия СК азитромицина на вирулентность *P.aeruginosa in vivo*. При инфицировании мышей культурами *P.aeruginosa*, выращенными на среде с СК азитромицина, эритромицина или кларитромицина, гибель животных составляла 80—100%, при этом были обнаружены существенные изменения в лёгких погибших мышей. В то же время гибели

мышей, заражённых культурами, росшими на среде без антибиотика, не наблюдалось [55]. Авторы предполагают, что неоднократно показанное подавление вирулентности при действии СК макролидов при переносе бактерий в условия без антибиотика может смениться резкой активацией синтеза экзоферментов.

Генотипические изменения, вызываемые субингибиторными концентрациями антибиотиков

Антибиотики как сигнальные факторы вызывают не только фенотипические, но и генетические изменения в бактериальных клетках, способствуя возникновению и распространению устойчивости.

Основные изменения, вызываемые СК антибиотиков на уровне генотипа — активация горизонтального переноса генов и повышение уровня мутагенеза [1, 3—5, 56].

У представителей кишечной флоры человека рода *Bacteroides* тетрациклин индуцирует перенос конъюгативных транспозонов, несущих гены устойчивости к тетрациклину и эритромицину, в реципиентные клетки с последующей интеграцией их в хромосому. В начале процесса транспозон вырезается из хромосомы с образованием кольцевого интермедиата, вырезание осуществляется несколькими генами, экспрессия которых регулируется тетрациклином [57]. При этом показано, что при СК тетрациклина вырезание транспозонов осуществляется независимо от фазы роста культуры, а концентрации антибиотика, близкие к ингибирующим, эффективны лишь в конце экспоненциальной фазы роста [58].

Активирование переноса кодирующих устойчивость конъюгативных транспозонов в присутствии СК антибиотиков показано и в опытах *in vivo*. В модельных экспериментах на крысах тетрациклин, добавляемый в питьевую воду, увеличивал частоту переноса транспозона с генами устойчивости в реципиентные клетки *Enterococcus faecalis* [59].

Одно из основных генетических изменений, вызываемых СК антибиотиков, — увеличение частоты мутаций. Резко усиливают мутагенез у *Mycobacterium fortuitum* и *Streptococcus pneumoniae* СК фторхинолонов [60, 61]. Возрастание числа мутантов с множественной устойчивостью отмечено при действии тетрациклина на *P.aeruginosa* [62]. Показано, что СК пенициллина активируют мутагенез у *S.pneumoniae* [63].

Существенное значение для индукции переноса генетических элементов и ускорения мутагенеза имеет SOS-система, обеспечивающая адаптивный ответ клеток на повреждение ДНК. Несколько десятков SOS-генов, участвующих в выживании клеток с повреждённой ДНК, инду-

цируется при воздействиях, повреждающих ДНК или подавляющих её синтез. Основные медиаторы SOS-ответа — гены *LexA* и *RecA*. При отсутствии повреждений ДНК белок LexA подавляет экспрессию регулирующих SOS-ответ генов, однако повреждение ДНК активирует белок RecA, обеспечивающий авторасщепление LexA и соответственно дерепрессию SOS-генов.

Многие антибиотики активно индуцируют SOS-ответ [64—68]. Фторхинолоны индуцируют SOS-гены у *E.coli* и стимулируют мутагенез у *Salmonella typhimurium* [64]. Ципрофлоксацин вызывает SOS-ответ у *V.cholerae*, что усиливает перенос интегративных конъюгативных элементов [69]. Индуцирующее SOS-ответ действие фторхинолонов на *S.aureus* активирует перенос генов, кодирующих факторы вирулентности [70].

SOS-ответ могут вызывать антибиотики, не влияющие непосредственно на метаболизм ДНК, так SOS-ответ у *E.coli* индуцируется действием β -лактамов (ингибиторов синтеза клеточной стенки) [65]. Группа β -лактамов антибиотиков в СК индуцирует SOS-ответ и перенос факторов вирулентности у *S.aureus* [66].

Мишени действия субингибирующих концентраций антибиотиков

Транскрипционные изменения зависят от взаимодействия СК антибиотиков с макромолекулярными рецепторами, такими как рибосома или РНК-полимераза, а также с ферментными комплексами. Эти же макромолекулы могут являться мишенями антибактериального действия антибиотиков при ингибирующей концентрации. Однако при СК антибиотиков макромолекулы представляют собой рецепторы сигналинга [1, 3].

Антибиотик в качестве ингибитора может иметь одни мишени, а как сигнальный фактор — другие. О различии мишеней свидетельствует действие СК ингибитора синтеза белка тобрамицина, активирующего образование БП у *P.aeruginosa* [48]. Молекулярная мишень СК тобрамицина у *P.aeruginosa* не рибосома, а регулятор ответа на аминогликозиды — фосфодиэстераза цитоплазматической мембраны, участвующая в деградации c-di-GMP, определяющего адгезивность клеточной поверхности. Уменьшение уровня c-di-GMP в присутствии СК тобрамицина активирует формирование БП.

Действие антибиотиков — ингибиторов трансляции на экспрессию генов обусловлено связыванием антибиотиков с рибосомами, а не с воздействием непосредственно на транскрипцию [4, 34]. Показано, что у *E.coli* все исследованные ингибиторы синтеза белка вызывают активное образование БП. Этот эффект индуцируется рибосомой как ответ на трансляционный стресс [49].

Рибосомы обладают значительным количеством рецепторов для различных ингибиторов — до 50 рибосомальных белков и рибосомальных РНК могут быть специфическими рецепторами. Рибосома может быть сенсором, способным передавать сигнал к большому числу клеточных элементов. Связывание разных веществ с разными сайтами рибосомы возможно определяет специфичность бактериальных ответов на СК антибиотиков [1, 3, 4, 71].

Важная роль рибосом как рецепторов показана в работах с использованием защиты рибосом. Метилирование рибосом *P.aeruginosa* блокирует доступ к ним азитромицина, при этом КВС-зависимого образования фактора вирулентности, стимулируемого СК этого антибиотика, не происходит. Таким образом, модуляция КВС-ответа на СК азитромицина у *P.aeruginosa* обусловлена взаимодействием антибиотика с рибосомой, а не действием на КВС-сигналинг [72].

При образовании БП (специфической адаптации бактерий к стрессу) информация от рибосомы передается к системе синтеза адгезина поли-GlcNAc сигнальными молекулами ppGpp. Эти молекулы, а также сигнальные молекулы c-di-GMP контролируют образование БП, регулируя уровень в клетке двух белков, участвующих в синтезе поли-GlcNAc [49].

Регуляция метаболизма нуклеотидных сигнальных молекул c-di-GMP, c-di-AMP, ppGpp и др., контролирующая ключевые процессы адаптации бактерий при получении ими сигналов от различных внешних факторов и АИ КВС, освещена в обзоре [73].

Множественность эффектов, обнаруживаемых при действии на бактерии СК антибиотиков, в том числе препаратов, широко применяемых в медицине, приводит к выводу о практической значимости результатов, получаемых при исследовании сигнальной роли антибиотических веществ.

В процессе антибиотикотерапии патогены часто подвергаются действию низких концентраций препаратов [1, 50]. Использование антибактериальных веществ в ветеринарии и сельском хозяйстве также может сопровождаться длительным воздействием на бактерии СК антибиотиков. Все это создает условия для адапционного ответа, происходящего на уровне транскрипции и выражающегося, в частности, в персистенции бактерий, формировании ими БП, усилении их вирулентности. Некоторые антибиотики, индуцирующие SOS-

ответ, участвуют в возникновении, приобретении и распространении устойчивости [68].

В то же время рядом исследователей показан позитивный эффект СК азитромицина в отношении уровня вирулентности и формирования БП у *Ps.aeruginosa* как *in vitro*, так и *in vivo* [5, 40, 47], отмечено благоприятное терапевтическое действие азитромицина в клинике [6].

Изучение механизмов бактериального ответа на сигнальные воздействия СК антибиотиков позволяет предложить принципиально новые пути борьбы с патогенными микроорганизмами, а также осуществлять поиск или создание веществ, специфически действующих на системы контроля патогенных свойств.

Заключение

Полученный к настоящему времени объем данных, касающихся сигнальной роли антибиотиков и действия различных сигнальных систем в мире микроорганизмов, показывает необходимость дальнейшего исследования регуляторных и сигнальных механизмов.

Возникает возможность использования внеклеточного сигналинга для воздействия на патогенные свойства микроорганизмов — выделение факторов вирулентности, образования БП, морфологических изменений, ассоциированных с патогенезом.

Различные компоненты сигнальных систем — подходящие мишени для действия на них с целью контроля патогенных свойств бактерий [Romling].

Перспективным является использование для манипуляции бактериальными процессами КВС как системы, непосредственно связанной с вирулентностью и образованием БП [74]. Необходимы новые способы идентификации малых молекул, образуемых бактериями, создание химических соединений, усиливающих ингибирование КВС, а также обнаружение природных антагонистов КВС [28, 74].

Определение мишеней сигнальных молекул дает возможность воздействия, специфически направленного на патогены, а не на всю микробиоту [12].

Продолжающееся распространение антибиотикоустойчивых патогенов делает необходимым развитие альтернативных стратегий терапии, разработку терапевтических схем и режимов, позволяющих контролировать проявление патогенных свойств бактерий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Davies J., Spiegelman G.B., Yim G. The world of subinhibitory antibiotic concentrations. *Curr Opin Microbiol* 2006; 9: 5: 445–453.
2. Calabrese E.J., Baldwin L.A. Defining hormesis. *Hum Exp Toxicol* 2002; 21: 2: 91–97.
3. Yim G., Wang H.H., Davies J. Antibiotics as signalling molecules. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2007; 362: 1483: 1195–1200.
4. Fajardo A., Martinez J.L. Antibiotics as signals that trigger bacterial responses. *Curr Opin Microbiol* 2008; 11: 2: 161–167.
5. Aminov R.I. The role of antibiotics resistance in nature. *Environ Microbiol* 2009; 11: 12: 2970–2988.
6. Romero D., Traxler M.F., López D., Kolter R. Antibiotics as signal molecules. *Chem Rev* 2011; 111: 9: 5492–5505.

7. Sengupta S., Chattopadhyay M.R., Grossart H.P. The multifaceted roles of antibiotics and antibiotic resistance in nature. 2013; 4: 47.
8. Goh E.B., Yim G., Tsui W. et al. Transcription modulation of bacterial gene expression by subinhibitory concentrations of antibiotics. Proc Natl Acad Sci USA 2002; 99: 26: 17025–17030.
9. Ng W.L., Kazmierczak K.M., Robertson G.T. et al. Transcriptional regulation and signature patterns revealed by microarray analyses of *Streptococcus pneumoniae* R6 challenged with sublethal concentrations of translation inhibitors. J Bacteriol 2003; 185: 1: 359–370.
10. Yim G., Wang H.H., Davies J. The truth of antibiotics. Int J Med Microbiol 2006; 296: 163–170.
11. Linares J.F., Gustafsson L., Baquero F., Martinez J.L. Antibiotics as intermicrobial signalling agents instead of weapons. Proc Natl Acad Sci USA 2006; 103: 51: 19484–19489.
12. Dufour N., Rao R.P. Secondary metabolites and other small molecules as intercellular pathogenic signals. FEMS Microbiol Lett 2010; 314: 1: 10–17.
13. Fugua C., Winans S.C., Greenberg E.R. Census and concensus in bacterial systems: the LuxR-LuxL family of quorum-sensing transcriptional regulators. Annu Rev Microbiol 1996; 50: 727–751.
14. Bassler B.L. How bacteria talk to each other: regulation of gene expression by quorum-sensing. Curr Opin Microbiol 1999; 2: 6: 582–587.
15. Miller M.B., Bassler B.L. Quorum-sensing in bacteria. Annu Rev Microbiol 2001; 55: 165–199.
16. Грузина В.Д. Коммуникативные сигналы бактерий. Антибиотики и химиотерапия 2003; 48: 10: 32–39.
17. Олескин А.В., Кировская Т.А. Популяционно-коммуникативное направление в микробиологии. Микробиология 2006; 75: 4: 440–445.
18. Хмель И.А. Quorum-sensing регуляция экспрессии генов: Микробиология 2006; 75: 4: 457–464.
19. Ng W.L., Bassler B.L. Bacterial quorum-sensing network architectures. Annu Rev Genet 2009; 43: 197–222.
20. Pappas K.M., Weingart C.L., Winans S.C. Chemical communication in proteobacteria: biochemical and structural syntheses and receptors required for intercellular signalling. Mol Microbiol 2004; 53: 3: 755–769.
21. Zhu P., Li M. Recent progresses on AI-2 bacterial quorum-sensing inhibitors. Curr Med Chem 2012; 19: 2: 174–186.
22. Fugua C., Parsek M.R., Greenberg E.R. Regulation of gene expression by cell-to-cell communication: acyl-homoserine lactone quorum-sensing. Annu Rev Genet 2001; 35: 439–468.
23. Decho A.W., Frey R., Ferry J.L. Chemical challenges to bacterial AHL signalling in the environment. Chem. Rev 2011; 111: 1: 86–99.
24. Novick R.P., Geisinger E. Quorum-sensing in staphylococci. Annu Rev Genet 2008; 42: 541–564.
25. Хохлов А.С., Товарова И.И., Борисова Л.Н. и др. А-фактор, ответственный за биосинтез стрептомицина мутантными штаммами *Actinomyces streptomycini*. Доклады АН СССР 1967; 177: 1: 232–235.
26. Bassler B.L., Wright M., Silverman M.R. Multiple signalling systems controlling expression of luminescence in *Vibrio harveyi*: sequence and function of genes encoding a second sensory pathway. Mol Microbiol 1994; 13: 2: 273–286.
27. Chen X., Schauder S., Potier N. et al. Structural identification of a bacterial quorum-sensing signal containing boron. Nature 2002; 415: 6871: 545–549.
28. Federle M.J. Autoinducer-2-based chemical communication in bacteria: complexities of interspecies signalling. Contrib Microbiol 2009; 16: 18–32.
29. Antunes L.C., Ferreira R.B., Buckner M.M., Finlay B.B. Quorum-sensing in bacterial virulence. Microbiology 2010; 156: 8: 2271–2282.
30. Déziel E., Lépine F., Milot S. et al. Analysis of *Pseudomonas aeruginosa* 4-hydroxy-2-alkylquinolines (HAQs) reveals a role for 4-hydroxy-2-heptylquinoline in cell-to-cell communication. Proc Natl Acad Sci USA 2004; 101: 5: 1339–1344.
31. Heeb S., Fletcher M.P., Chhabra S.R. et al. Quinolones: from antibiotics to autoinducers. FEMS Microbiol Revs 2011; 35: 2: 247–274.
32. Ahmed N.A., Petersen F.C., Scheie A.A. AI-LuxS is involved in increased biofilm formation by *Streptococcus intermedius* in the presence of antibiotics. Antimicrob Agents Chemother 2009; 53: 10: 4258–4263.
33. Garske L.A., Beatson S.A., Leech A.J. et al. Sub-inhibitory concentration of ceftazidime and tobramycin reduce the quorum-sensing signals of *Pseudomonas aeruginosa*. Pathology 2004; 36: 6: 571–575.
34. Babić F., Venturi V., Maravić-Vlahovicek G. Tobramycin at subinhibitory concentration inhibits the RhII/R quorum-sensing system in a *Pseudomonas aeruginosa* environmental isolate. BMC Infect Dis 2010; 10: 148.
35. Liu Z., Wang W., Zhu Y. et al. Antibiotics at subinhibitory concentrations improve the quorum-sensing behavior of *Chromobacterium violaceum*. FEMS Microbiol Lett 2013; 341: 1: 37–44.
36. Tateda K., Comte R., Pechere J.-C. et al. Azithromycin inhibits quorum-sensing in *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother 2001; 45: 6: 1930–1933.
37. Nalca Y., Jänsch L., Bredenbruch F. et al. Quorum-sensing antagonistic activities of azithromycin in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1: a global approach. Antimicrob Agents Chemother 2006; 50: 5: 1680–1688.
38. Hoffmann N., Lee B., Hentzer M. et al. Azithromycin blocks quorum-sensing and alginate polymer formation and increases the sensitivity to serum and stationary-growth-phase killing of *Pseudomonas aeruginosa* and attenuates chronic *P.aeruginosa* lung infection in Cfr^{-/-} mice. Antimicrob Agents Chemother 2007; 51: 10: 3677–3687.
39. Skindersoe M.E., Alhede M., Phipps R. et al. Effect of antibiotics on quorum-sensing in *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother 2008; 52: 10: 3648–3663.
40. Bala A., Kumar R., Harjai K. Inhibition of quorum-sensing in *Pseudomonas aeruginosa* by azithromycin and its effectiveness in urinary tract infections. J Med Microbiol 2011; 60: 3: 300–306.
41. Rogers P.D., Liu T.T., Barker K.S. et al. Gene expression profiling of the response of *Streptococcus pneumoniae* to penicillin. J Antimicrob Chemother 2007; 59: 4: 616–626.
42. Römling U., Balsalobre C. Biofilm infections, their resilience to therapy and innovative treatment strategies. J Intern Med 2012; 272: 6: 541–561.
43. Tanaka M., Hasegawa T., Okamoto A. et al. Effect of antibiotics on group A *Streptococcus* exoprotein production analyzed by two-dimensional gel electrophoresis. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49: 1: 88–96.
44. Kuroda H., Kuroda M., Cui L., Hiramatsu K. Subinhibitory concentrations of β -lactam induce haemolytic activity in *Staphylococcus aureus* through the SaeRS two-component system. FEMS Microbiol Lett 2007; 268: 1: 98–105.
45. Bagge N., Schuster M., Hentzer M. et al. *Pseudomonas aeruginosa* biofilms exposed to imipenem exhibit changes in global gene expression and β -lactamase and alginate production. Antimicrob Agents Chemother 2004; 48: 4: 1175–1187.
46. Mizukane R., Hirakata Y., Kaku M. et al. Comparative *in vitro* exoenzyme-suppressing activities of azithromycin and other macrolide antibiotics against *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother 1994; 38: 3: 528–533.
47. Kaplan J.B. Antibiotic-induced biofilm formation. Int J Artif Organs 2011; 34: 9: 737–751.
48. Hoffman L.R., D'Argenio D.A., MacCoss M.J. et al. Aminoglycoside antibiotics induce bacterial biofilm formation. Nature 2005; 436: 7054: 1171–1175.
49. Boehm A., Steiner S., Zaehriner F. et al. Second messenger signalling governs *Escherichia coli* biofilm induction upon ribosomal stress. Mol Microbiol 2009; 72: 6: 1500–1516.
50. Kaplan J.B., Jabbouri S., Sadovskaya I. Extracellular DNA-dependent biofilm formation by *Staphylococcus epidermidis* RP62A in response to subminimal inhibitory concentrations of antibiotics. Res Microbiol 2011; 162: 5: 535–541.
51. Wang Q., Sun F.-J., Liu Y. et al. Enhancement of biofilm formation by subinhibitory concentrations of macrolides in icaADBC-positive and -negative clinical isolates of *Staphylococcus epidermidis*. Antimicrob Agents Chemother 2010; 54: 6: 2707–2711.
52. Subrt N., Mesak L.R., Davies J. Modulation of virulence gene expression by cell wall active antibiotics in *Staphylococcus aureus*. J Antimicrob Chemother 2011; 66: 5: 979–984.
53. Ichimiya T., Takeoka K., Hiramatsu K. et al. The influence of azithromycin on the biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* *in vitro*. Chemotherapy; 1996; 42: 3: 186–191.
54. Howe R.A., Spencer R.C. Macrolides for the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections? J Antimicrob Chemother 1997; 40: 2: 153–155.
55. Kobayashi T., Tateda K., Matsumoto T. et al. Macrolide-treated *Pseudomonas aeruginosa* induces paradoxical host responses in the lungs of mice and a high mortality rate. J Antimicrob Chemother 2002; 50: 1: 59–66.

56. Blázquez J., Couce A., Rodríguez-Beltrán J., Rodríguez-Rojas A. Antimicrobials as promoters of genetic variation. *Curr Opin Microbiol* 2012; 15: 5: 561—569.
57. Jeters R.T., Wang G-R., Moon K. et al. Tetracycline-associated transcriptional regulation of transfer genes of the *Bacteroides* transposon CTnDOT. *J Bacteriol* 2009; 191: 20: 6374—6382.
58. Song B., Wang G.R., Shoemaker N.B., Salyers A.A. An unexpected effect of tetracycline concentration: growth phase-associated excision of the *Bacteroides* mobilizable transposon NBU1. 2009; 191: 3: 1078—1082.
59. Bahl M.I., Sørensen S.J., Hansen L.N., Licht T.R. Effect of tetracycline on transfer and establishment of tetracycline-inducible conjugative transposon Tn916 in the guts of gnotobiotic rats. *Appl Environ Microbiol* 2004; 70: 2: 758—764.
60. Gillespie S.H., Basu S., Dickens A.L. et al. Effect of subinhibitory concentrations of ciprofloxacin on *Mycobacterium fortuitum* mutation rates. *J Antimicrob Chemother* 2005; 56: 2: 344—348.
61. Henderson-Begg S.K., Livermore D.M., Hall L.M. Effect of subinhibitory concentrations of antibiotics on mutation frequency in *Streptococcus pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother* 2006; 57: 5: 849—854.
62. Alonso A., Campanario E., Martínez J.L. Emergence of multidrug-resistant mutants is increased under antibiotic selective pressure in *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiology* 1999; 145: 10: 2857—2862.
63. Cortes P.R., Piñas G.E., Albarracín Orio A.G., Echenique J.R. Subinhibitory concentrations of penicillin increase the mutation rate to optochin resistance in *Streptococcus pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother* 2008; 62: 5: 973—977.
64. Ysern P., Clerch B., Castano M et al. Induction of SOS genes in *Escherichia coli* and mutagenesis in *Salmonella typhimurium* by fluoroquinolones. *Mutagenesis* 1990; 5: 1: 63—66
65. Miller C., Thomsen L.E., Gaggero C. et al. SOS response induction by beta-lactams and bacterial defense against antibiotic lethality. *Science* 2004; 305: 5690: 1629—1631.
66. Maiques E., Úbeda C., Camroy S. et al. β -Lactam antibiotics induce the SOS response and horizontal transfer of virulence factors in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol* 2006; 188: 7: 2726—2729.
67. Mesak L.R., Miao V., Davies J. Effects of subinhibitory concentrations of antibiotics on SOS and DNA repair gene expression in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52: 9: 3394—3397.
68. Da Re S., Ploy M.C. Resistance acquisition via bacterial SOS response: the inductive role of antibiotics. *Med Sci (Paris)* 2012; 28: 2: 179—184.
69. Beaber J.W., Hochhut B., Waldor M.K. SOS response promotes horizontal dissemination of antibiotic resistance genes. *Nature* 2004; 427: 6969: 72—74.
70. Úbeda C., Maiques E., Knecht E. et al. Antibiotic-induced SOS response promotes horizontal dissemination of pathogenicity island-encoded virulence factors in staphylococci. *Mol Microbiol* 2005; 56: 3: 836—844.
71. Tsui W.H., Yim G., Wang H.H. et al. Dual effects of MLS antibiotics: transcriptional modulation and interactions on the ribosome. *Chem Biol* 2004; 11: 9: 1307—1316.
72. Köhler T., Dumas J-L., Van Delden C. Ribosome protection prevents azithromycin-mediated quorum-sensing modulation and stationary-phase killing of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51: 12: 4243—4248.
73. Kalia D., Mery G., Nakayama S. et al. Nucleotide, c-di-GMP, c-di-AMP, cGMP, cAMP, (p)ppGpp signalling in bacteria and implication in pathogenesis. *Chem Soc Rev* 2013; 42: 1: 305—341.
74. LaSarre B., Federle M.J. Exploiting quorum-sensing to confuse bacterial pathogens. *Microbiol Mol Biol Rev* 2013; 77: 1: 73—111.

Механизмы нефротоксического действия иммунодепрессантов — ингибиторов кальцинейрина

А. В. НИКИТИН

Московский государственный машиностроительный университет Минобрнауки РФ, Москва

Mechanisms of Nephrotoxic Action of Immunosuppressants, Calcineurine Inhibitors

A. V. NIKITIN

State Machine Building, Moscow

Внедрение в медицинскую практику иммунодепрессантов позволило успешно провести десятки тысяч операций по трансплантации печени, почек, сердца и добиться существенных успехов в лечении ряда аутоиммунных заболеваний. Применение ингибиторов кальцинейрина (циклоsporина А и такролимуса) связано с рядом побочных реакций, среди которых нефротоксичность имеет наибольшее клиническое значение. Комплексная оценка иммунологических и биохимических показателей при лечении ингибиторами кальцинейрина является важной предпосылкой повышения эффективности иммунодепрессивной терапии и снижения частоты и выраженности побочного действия препаратов.

Ключевые слова: иммунодепрессанты, ингибиторы кальцинейрина, нефротоксическое действие.

The use of immunosuppressants in the medical practice provided tens of thousands of favourable outcomes of the liver, kidney or heart transplantation and significant success in the treatment of a number of autoimmune diseases. Calcineurine inhibitors (cyclosporine A and tacrolimus) provoke a number of adverse reactions. Among them nephrotoxicity is clinically most dangerous. Complex estimation of the immunological and biochemical indices in the treatment with calcineurine inhibitors is an important precondition for increasing the efficacy of immunosuppressive therapy and decreasing the frequency and level of the adverse reactions.

Key words: immunosuppressants, calcineurine inhibitors, nephrotoxic action.

Внедрение в медицинскую практику иммунодепрессантов циклоsporина А и такролимуса (FK506) позволило успешно провести за последние 30 лет десятки тысяч операций по трансплантации печени, почек, сердца и добиться существенных успехов в лечении ряда аутоиммунных заболеваний.

Циклоsporин А и такролимус характеризуются сходным механизмом действия на важный для физиологии клетки фермент кальцинейрин, представляющий собой кальций- и кальмодулинзависимую фосфатазу (протеинфосфатаза 3; PPP3C). Проникая в клетку, циклоsporин А связывается с белком циклофиллином, тогда как такролимус взаимодействует с белком FKBP12. Образующиеся комплексы (циклоsporин А/циклофиллин и такролимус/FKBP12) конкурентно ингибируют фосфатазную активность кальцинейрина, что, в свою очередь, подавляет дефосфорилирование и транслокацию в ядро ядерного фактора активированных Т-лимфоцитов (NFAT). Это ведёт к подавлению транскрипции генов интер-

лейкина-2, интерферона- γ , фактора- α некроза опухоли и нарушает дифференцировку и пролиферацию Т-лимфоцитов [1]. Применение ингибиторов кальцинейрина (циклоsporина А и такролимуса) связано с рядом побочных реакций, среди которых нефротоксичность имеет наибольшее клиническое значение [2, 3].

Ингибиторы кальцинейрина могут вызывать как острые, так и хронические нарушения функции почек.

Острая нефротоксичность, вызванная ингибиторами кальцинейрина, проявляется в форме острой артериолопатии, характеризующейся нарушением функции почек без каких-либо патогистологических изменений. Вакуолизация клеток канальцев и тромботическая микроангиопатия также являются формами нефротоксичности, вызванной этими иммунодепрессантами. Выраженные нарушения функции почечных сосудов при острой нефротоксичности опосредованы значительными изменениями кровотока, уменьшением диаметра афферентных артериол и связаны с повышенной экспрессией таких сосудосуживающих факторов, как эндотелин, тромбоксан, активацией

© А. В. Никитин, 2014

Адрес для корреспонденции: 117103 Москва, Нагатинская ул., д. 3а. Редакция журнала «Антибиотики и химиотерапия»

системы ренин-ангиотензин, снижением активности сосудорасширяющих факторов (простациклина, простагландина E₂, оксида азота) и повышенным образованием свободных радикалов [4–6].

Среди видов хронической нефротоксичности, обусловленной применением циклоспорина А и такролимуса, выделяют интерстициальный фиброз с атрофией канальцев, медиальный артериолярный гиалиноз, клубочковый капсулярный фиброз, глобальный гломерулосклероз, фокальный сегментарный гломерулосклероз, гиперплазию юкстагломерулярного аппарата и микрокальцификацию канальцев [2, 7].

По образному выражению W. M. Bennett, хроническая нефротоксичность, вызванная ингибиторами кальцинейрина, является «Ахиллесовой пятой» современной иммунодепрессивной терапии, что определяет актуальность исследования механизмов её патогенеза и разработки средств профилактики и лечения [4]. Связанные с применением циклоспорина А нарушения почечной гемодинамики в сочетании с прямым токсическим действием препарата на эпителий канальцев лежат в основе хронической нефротоксичности. Узелковый артериолярный гиалиноз является одним из её основных патогистологических признаков. Развитию выраженного артериолярного гиалиноза предшествует эозинофильная трансформация гладкомышечных клеток афферентных артериол с их последующей вакуолизацией и отложением гиалина в стенке сосудов. Нарушение гемодинамики в почечных сосудах ведёт к повышенному образованию свободных радикалов, локальной гипоксии или ишемии в канальцево-интерстициальном отделе. Повышенная экспрессия трансформирующего фактора роста- β (ТФР- β) также рассматривается как важный этиологический фактор хронической нефротоксичности, приводящий к развитию интерстициального фиброза. ТФР- β стимулирует эпителиально-мезенхимальную транзицию (переход), во время которого происходит постепенная утрата эпителиальными клетками канальцев их характерного фенотипа и приобретение новых признаков мезенхимальных клеток. При этом клетки утрачивают характерную форму, в них усиливается экспрессия актина гладкомышечных клеток и происходит его реорганизация. Также отмечается подавление экспрессии E-кадгерина, нарушение межклеточной адгезии, разрушение базальной мембраны, усиление клеточной миграции и инвазии. В настоящее время эпителиально-мезенхимальная транзиция рассматривается как основной механизм, ведущий к развитию интерстициального фиброза при лечении циклоспорином А и другими ингибиторами кальцинейрина [7, 8].

Подавление активности кальцинейрина может активировать экспрессию генов апоптоза и

усиливать апоптоз в клетках канальцев и интерстициальных клетках, что может быть причиной атрофии канальцев [9, 10]. Макрофагальная инфильтрация также является существенным фактором хронической нефротоксичности. Циклоспорин А конкурентно подавляет активность Р-гликопротеина, являющегося транспортёром многих соединений, поэтому применение циклоспорина А может вести к накоплению в клетках почечного эпителия ряда токсичных эндогенных веществ [2].

Артериолярный гиалиноз, артериолопатия и вторичная ишемия клубочков вызывают развитие глобального гломерулосклероза.

Нефротоксическое действие такролимуса выражено в меньшей степени по сравнению с циклоспорином А. Такролимус характеризуется меньшим фиброгенным действием; его применение связано с пониженными уровнями креатинина в сыворотке крови и более высокими показателями скорости клубочковой фильтрации, чем при лечении циклоспорином А. Другие (непочечные) токсические эффекты такролимуса проявляются в развитии диабета, треморе, головной боли, диспепсии, рвоте, диарее и гипомagneмии. Циклоспорин чаще вызывает гирсутизм, гиперплазию десен, повышение холестерина липопротеинов низкой плотности и концентрации триглицеридов [2].

В последнее время получены новые данные о биохимических механизмах нефротоксического действия циклоспорина А. Препарат в культуре клеток мышечной и проксимальных канальцев человека подавлял экспрессию генов и белков, участвующих в межклеточной адгезии и образовании щелевых контактов (E-кадгерина, ZO-1, клаудина-1 и β -катенина). Циклоспорин А повышал экспрессию виментина, репрессоров транскрипции белков адгезии и белков, участвующих в формировании щелевых контактов (Snail, Slug и Twist). Циклоспорин А и такролимус усиливали фосфорилирование киназы 3-гликогенсинтазы, что повышало стабильность Snail и усиливало отмеченные патологические изменения [11].

Было показано, что воздействие циклоспорина А (1 мкМ) и такролимуса (0,01 мкМ) на мезангиальные клетки крысы и моноциты человека линии THP-1 *in vitro* ведёт к 10-кратному повышению уровня холодового шока Y-бокс-связывающего белка-1 (YB-1), являющегося белком-шапероном с плейтропным действием на клетки. Наряду с этим была отмечена повышенная экспрессия генов, регулируемых YB-1 (матриксной металлопротеиназой-2 и CCL5) [12]. Введение циклоспорина А в дозе 100 мг/кг крысам также значительно повышало уровень YB-1 в мезангиальных клетках, сопровождалось усиленным образованием активных форм кислорода и стабилизацией мРНК коллагена, что указывало на

важную опосредующую роль YB-1 в профиброзном действии ингибиторов кальцинейрина [13].

Важной проблемой рационализации и оптимизации клинического применения ингибиторов кальцинейрина является мониторинг и прогнозирование их нефротоксического действия. Предприняты попытки идентификации ряда генетических маркёров для ранней диагностики нефротоксичности. При моделировании нефротоксичности у крыс, вызванной циклоспорином А (25 мг/кг) и такролимусом (FK506; 6 мг/кг), вводимых в период до 28 дней, было установлено снижение определяемой иммуногистохимическими методами экспрессии генов *SLC12A3* (ко-транспортёра ионов натрия — хлора) и гена *Wnk1* (специфичного для почек регулятора ионного транспорта). Оценка экспрессии этих генов является перспективной для прогноза нефротоксичности в клинической практике [14].

Предупреждение и лечение нефротоксичности в процессе иммунодепрессивной терапии основано, в частности, на применении препаратов в минимальных дозах и в ограниченные сроки, однако данная концепция, несмотря на её привлекательность, не нашла ещё полностью убедительного клинического подтверждения.

Фармакотерапия нефротоксичности включает применение антагонистов кальция (производных дигидропиридина—нифедипина, лацидипина, амлодипина), которые препятствуют сосудосуживающему действию иммунодепрессантов и нарушению почечной гемодинамики. В клинических исследованиях было установлено, что антагонисты кальция уменьшают степень снижения скорости клубочковой фильтрации [2].

При моделировании нефротоксичности, вызванной циклоспорином А у мышей, было показано, что препарат при введении в дозе 100 мг/кг/сут в течение 10 дней вызывал вакуолизацию клеток проксимальных канальцев. В то же время введение антагониста рецепторов минералокортикоидов канреоната (30 мг/кг/сут) вместе с циклоспорином А предупреждало развитие этих патогистологических изменений. Циклоспорин А не вызывал этих изменений у мышей с нокаутом гена рецептора минералокортикоидов, что позволило предположить ведущую роль рецепторов минералокортикоидов в развитии вызванной циклоспорином А нефротоксичности и определить возможность применения антагонистов рецепторов минералокортикоидов для её профилактики и лечения [15].

Изучено влияние розиглитазона (активатора γ -рецепторов, которые активируются пролифератором пероксисом) на экспрессию компонентов внеклеточного матрикса и ряда этиологических факторов тубулоинтерстициального фиброза у крыс, получавших циклоспорин А (15 мг/кг/сут) в течение 35 дней. Розиглитазон препятствовал

вызванному циклоспорином А снижению клиренса креатинина и развитию фиброза, снижал повышенную активность ангиотензина II в плазме крови и почках, экспрессию фибронектина, остеопонтина, RANTES, матриксной металлопротеиназы (ММП)-9 и тканевого ингибитора ММП-1 [16].

Целесообразно применение ингибиторов АПФ и блокаторов рецепторов ангиотензина II. Изучена возможность уменьшения нефротоксического действия циклоспорином А путём применения цитостатика мизорибина и блокатора рецепторов ангиотензина II лозартана. Введение мизорибина (5 мг/кг/сут) отдельно или в комбинации с лозартаном (30 мг/кг/сут) крысам Sprague-Dawley, получавшим циклоспорин А (15 мг/кг/сут) в течение 4 и 7 недель, значительно уменьшало вакуолизацию клеток канальцев, тубулоинтерстициальный фиброз, артериолопатию, снижало экспрессию мРНК остеопонтина и ТФР- β , препятствовало уменьшению размеров клубочков и клубочковой зоны [17].

Ингибиторы АПФ снижали проявления нефротоксичности у больных, получавших циклоспорин А. Лозартан уменьшал концентрации ТФР- β и эндотелина в плазме крови больных, получавших иммунодепрессанты. На различных моделях нефротоксичности была показана эффективность спиронолоктона, простаноидов с сосудорасширяющим действием, доноров оксида азота, антиоксидантов, антител против ТФР- β , статинов и добавки магния. Однако на сегодняшний день результаты клинических исследований эффективности этих фармакологических средств для профилактики и лечения нефротоксичности носят ограниченный характер или отсутствуют [2].

На основании имеющихся данных не представляется возможным провести чёткую дифференциацию механизмов побочных реакций, в частности нефротоксичности, связанных собственно с подавлением активности кальцинейрина и вызванных другими факторами. Эту проблему следует рассматривать в общем плане проблем повышения эффективности и безопасности иммунодепрессивной терапии, что предполагает оценку пролиферативной активности различных субпопуляций Т-лимфоцитов, экспрессии их рецепторов, определение уровней цитокинов, фосфатазной активности кальцинейрина в цельной крови, моноцитах и экспрессии NFAT-регулируемых генов [18].

Комплексная оценка иммунологических и биохимических показателей при лечении ингибиторами кальцинейрина является важной предпосылкой повышения эффективности иммунодепрессивной терапии и снижения частоты и выраженности побочного действия препаратов.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Macian F.* NFAT proteins: key regulators of T-cell development and function. *Nat Rev Immunol* 2005; 5: 472—484.
2. *Naesens M., Kuypers D.R.J., Sarwal M.* Calcineurin inhibitor nephrotoxicity. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4: 481—508.
3. *Gaston R.S.* Chronic calcineurin inhibitor nephrotoxicity: reflections on an evolving paradigm. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4: 2029—2034.
4. *Bennett W.M., DeMattos A., Meyer M.M., Andoh T., Barry J.M.* Chronic cyclosporine nephropathy: The Achilles heel of immunosuppressive therapy. *Kidney Int* 1996; 50: 1089—1100.
5. *Pallet N., Rabant M., Xu-Dubois Y.C., Lecorre D. et al.* Response of human renal tubular cells to cyclosporine and sirolimus: a toxicogenomic study. *Toxicol Appl Pharmacol* 2008; 229: 184—196.
6. *Djamali A.* Oxidative stress as a common pathway to chronic tubulointerstitial injury in kidney allografts. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 293: F445—F455.
7. *Slutsky C., Campbell E., McMorro T., Ryan M.P.* Cyclosporine A-induced renal fibrosis: a role for epithelial-mesenchymal transition. *Am J Pathol* 2005; 167: 395—407.
8. *Hertig A., Anglicheau D., Verine J., Pallet N. et al.* Early epithelial phenotypic changes predict graft fibrosis. *J Am Soc Nephrol* 2008; 19: 1584—1591.
9. *Servais H., Ortiz A., Devuyst O., Denamur S. et al.* Renal cell apoptosis induced by nephrotoxic drugs: cellular and molecular mechanisms and potential approaches to modulation. 2008; 13: 11—32.
10. *Yang C.W., Faulkner G.R., Wahba I.M., Christianson T.A. et al.* Expression of apoptosis-related genes in chronic cyclosporine nephrotoxicity in mice. *Am J Transplant* 2002; 2: 391—399.
11. *Berzal S., Alique M., Ruiz-Ortega M., Egido J. et al.* GSK3, Snail and adhesion molecule regulation by cyclosporine A in renal tubular cells. *Toxicol Sci* 2012; 127: 425—437.
12. *Hanssen L., Raffetseder U., Djurdjaj S., Mertens P.* Calcineurin inhibitors CsA and FK506 alter the turnover and function of cold shock Y-box protein-1 in mesangial and monocyte cells. 49th ERA-EDTA Congress, May 24—27, 2012 Paris, France.
13. *Hanssen L., Fryel B., Ostendorf T., Alidousty C. et al.* Cold shock Y-box protein-1 mediates profibrotic effects of calcineurin inhibitors in the kidney. 49th ERA-EDTA Congress, May 24—27, 2012; Paris, France.
14. *Cui Y., Huang Q., Aumann J.T., Knight B. et al.* Genomic-derived markers for early detection of calcineurin inhibitor immunosuppressant-mediated nephrotoxicity. *Toxicol Sci* 2011; 124: 1: 23—34.
15. *Bertocchiol J-Ph., Lançon J., Moghrabi S. El., Galmiche G. et al.* Is vascular smooth muscle cells mineralocorticoid receptor involved in cyclosporine A nephrotoxicity? 49th ERA-EDTA Congress, May 24—27, 2012 Paris, France. SAP053.
16. *Cheng G., Liu Z., Li J., Dong J.* Rosiglitazone treatment attenuates expression of ECM on chronic cyclosporine nephropathy. 49th ERA-EDTA Congress, May 24—27, 2012; Paris, France.
17. *Kim J.H.* Influence of cyclosporine A on glomerular growth and protective effect of mizoribine and losartan on cyclosporine A nephrotoxicity in rat. 49th ERA-EDTA Congress, May 24—27, 2012; Paris, France. SAP363.
18. *Sommerer C., Giese T., Meuer S., Zeier M.* Pharmacodynamic monitoring of calcineurin inhibitor therapy: is there a clinical benefit? *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24: 21—27.

ДОСТИЖЕНИЯ В РАЗРАБОТКЕ МЕТОДОВ БЫСТРОГО ТЕСТИРОВАНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К АНТИМИКРОБНЫМ ПРЕПАРАТАМ.

PROGRESS ON THE DEVELOPMENT OF RAPID METHODS FOR ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING / M. R. PULIDO, M. GARCÍA-QUINTANILLA, R. MARTÍN-PEÑA, J. MIGUEL CISNEROS, M. J. MCCONNELL* // JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY 2013; 68: 12: 2710—2717.

Тестирование чувствительности к антимикробным препаратам важно при выборе лечения многих бактериальных инфекций, особенно в контексте роста уровня устойчивости к антибиотикам. Большинство общепринятых методов определения фенотипа устойчивости основано на замере роста бактерий в присутствии тестируемого антибиотика. При высокой чувствительности подобных методов определения устойчивости для их выполнения необходимы выделение патогена из клинического образца перед тестированием и время на инкубацию, достаточное для разделения чувствительных и устойчивых штаммов. Знание соответствующих молекулярных детерминант устойчивости облегчает разработку новых подходов для быстрого определения устойчивости патогенных бактерий. Методы, основанные на использовании ПЦР, масс-спектрометрии, микрочипов, микрогидродинамики (microfluidics), лизисе клеток, секвенировании целого генома, предоставляют возможность быстрого определения устойчивости у различных видов бактерий. Остаётся установить, сопоставимы ли они по чувствительности и специфичности со стандартным фенотипическим тестированием устойчивости, прежде чем утвердить использование их в качестве рутинных методов в клинической практике. В обзоре обсуждены достижения в разработке методов быстрого тестирования чувствительности к антимикробным препаратам и подчёркнуты остающиеся ограничения каждого из них.

* Unit of Infectious Diseases, Microbiology, and Preventive Medicine and Biomedical Institute of Seville (IBiS), University Hospital Virgen del Rocío/CSIC/University of Sevilla, Avenida Manuel Siurot s/n 41013, Seville, Spain.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЁРЫ КЛОНОВ ВЫСОКОГО РИСКА У *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*.

BIOLOGICAL MARKERS OF *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* EPIDEMIC HIGH-RISK CLONES / X. MULET, G. CABOT, A. A. OCAMPO-SOSA, M. A. DOMÍNGUEZ, L. ZAMORANO, C. JUAN, F. TUBAU,

C. RODRÍGUEZ, B. MOYÀ, C. PEÑA, L. MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, A. OLIVER*, SPANISH NETWORK FOR RESEARCH IN INFECTIOUS DISEASES (REIPI) // ANTIMICROBIAL AGENTS CHEMOTHERAPY 2013; 57: 11: 5527—5535.

За эпидемические вспышки нозокомиальных инфекций, вызванных штаммами с мультилекарственной (MDR) и экстремальной (XDR) устойчивостью, ответственно ограниченное число генотипов *Pseudomonas aeruginosa* (главным образом ST-111, ST-175 и ST-235), известных как клоны высокого риска. Были изучены биологические параметры, предположительно способные объяснить «успешность» этих клонов. Были проанализированы по 20 штаммов в каждой из 4 групп устойчивости (XDR, MDR, ModR [устойчивость к 1 или 2 классам] и MultiS [чувствительность ко всем антипсевдомонадным антибиотикам]), выделенных в ходе многоцентрового изучения инфекций кровотока, обусловленных *Pseudomonas aeruginosa*, в 10 больницах Испании. Далее также были изучены 20 XDR штаммов, относящихся к эпидемическим клонам высокого риска (ST-175 [$n=6$], ST-111 [$n=7$] и ST-235 [$n=7$]), полученных из различных географических районов. Неизвестные ранее генотипы были охарактеризованы мультилокусным сиквенс-типированием. В число тестируемых биологических параметров входили: подвижность на жидкой (подёрживание, плавание) и твёрдой (роение) средах, образование биоплёнки, продуцирование пиовердина и пиоцианина, частота спонтанных мутаций и *in vitro* индекс конкуренции (CI), определённый методом проточной цитометрии. Все 20 (100%) XDR, 8 (40%) MDR, и 1 (5%) ModR штаммов, выделенных в мультицентровом исследовании, относились к клонам высокого риска. Существенных различий между клонально разными штаммами ModR и MultiS групп не наблюдалось. В противоположность этому, MDR/XDR штаммы клонов высокого риска продемонстрировали значительно повышенную способность к образованию биоплёнок и частоте мутаций и существенное снижение подвижности (подёрживание, плавание, роение), продуцирования пиовердина и пиоцианина, а также фитнеса. Выявленные у клонов высокого риска биологические маркёры, сходные с полученными в результате адаптации при хроническом течении заболевания, могут быть полезны при разработке специфического лечения и стратегии контроля за инфекцией.

* Servicio de Microbiología y Unidad de Investigación, Hospital Universitario Son Espases, Palma de Mallorca, Spain.

IN VITRO АКТИВНОСТЬ ЦЕФТАРОЛИН-АВИБАКТАМА В ОТНОШЕНИИ ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ И ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ ПАТОГЕНОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ПАЦИЕНТОВ В КАНАДСКИХ БОЛЬНИЦАХ ЗА 2010—2012 ГГ.: РЕЗУЛЬТАТЫ CANWARD ИССЛЕДОВАНИЯ.

IN VITRO ACTIVITY OF CEFTAROLINE-AVIBACTAM AGAINST GRAM-NEGATIVE AND GRAM-POSITIVE PATHOGENS ISOLATED FROM PATIENTS IN CANADIAN HOSPITALS FROM 2010 TO 2012: RESULTS FROM THE CANWARD SURVEILLANCE STUDY / J. A. KARLOWSKY*, H. J. ADAM, M. R. BAXTER, P. R. S. LAGACÉ-WIENS, A. J. WALKTY, D. J. HOBAN, G. G. ZHANEL // ANTIMICROBIAL AGENTS CHEMOTHERAPY 2013; 57: 11: 5600—5611.

Была определена *in vitro* активность цефтаролина, цефтаролина-авибактама и антибиотиков сравнения в отношении патогенных бактерий, часто выделяемых от больных в 15 канадских больницах в период с января 2010 г. по декабрь 2012 г. Всего было протестировано 9758 изолятов методом микроразведений в бульоне (CLSI, документ M07-A9, 2012), и результаты были интерпретированы по пороговым значениям (CLSI, документ M100-S23, 2013). Комбинация цефтаролин-авибактам продемонстрировала высокую активность (МПК₉₀ ≤ 0,5 мкг/мл) в отношении *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Serratia marcescens*, *Morganella morganii*, *Citrobacter freundii* и *Haemophilus influenzae*. Более 99% штаммов *E.coli*, *K.pneumoniae*, *K.oxytoca*, *P.mirabilis*, *M.morganii*, *C.freundii* и *H.influenzae* были чувствительны к цефтаролину-авибактаму, согласно CLSI критериям чувствительности к цефтаролину. Цефтаролин был менее активен, чем комбинация цефтаролин-авибактам в отношении испытанных видов Enterobacteriaceae, уровень чувствительности был в пределах от 93,9% (*P.mirabilis*) до 54,0% (*S.marcescens*). Все чувствительные (МПК₉₀, 0,25 мкг/мл) и 99,6% устойчивых к метициллину (МПК₉₀, 1 мкг/мл) штаммов *S.aureus* были чувствительны к цефтаролину, добавление авибактама к цефтаролину не меняло его активности в отношении стафилококков и стрептококков. Все протестированные штаммы *Streptococcus pneumoniae* (МПК₉₀, 0,03 мкг/мл), *Streptococcus pyogenes* (МПК₉₀ ≤ 0,03 мкг/мл) и *Streptococcus agalactiae* (МПК₉₀, 0,015 мкг/мл) были чувствительны к цефтаролину. Таким образом, добавление авибактама к цефтаролину расширяет спектр его активности, охватывая большинство штаммов Enterobacteriaceae, устойчивых к цефалоспорином 3-го поколения, в т. ч. *E.coli*, продуцирующих бета-лактамазы расширенного спектра (БЛРС) и AmpC, а также БЛРС-продуцирующие штаммы *K.pneumoniae*, при этом сохраняется вы-

сокая активность в отношении стафилококков и стрептококков.

* Diagnostic Services Manitoba, Department of Medical Microbiology and Infectious Diseases, Faculty of Medicine, University of Manitoba, Canada.

IN VIVO ЭФФЕКТИВНОСТЬ КЛИНИЧЕСКИХ ЭКСПОЗИЦИЙ С ЦЕФТАРОЛИНОМ ФОСАМИЛОМ+АВИБАКТАМ НА МОДЕЛИ ПОЛИМИКРОБНОЙ ИНФЕКЦИИ.

IN VIVO EFFICACY OF HUMANIZED CEFTAROLINE FOSAMIL-AVIBACTAM EXPOSURES IN A POLYMICROBIAL INFECTION MODEL / A. A. BHALODI, J. L. CRANDON, G. WILLIAMS, D. P. NICOLAU* // ANTIMICROBIAL AGENTS CHEMOTHERAPY 2013; 57: 11: 5674—5678.

Инфекции при диабетической стопе в большинстве случаев вызваны грамположительными кокками, но часто они бывают полимикробными. Задачей исследования было оценить *in vivo* эффективность доз, имитирующих клинические дозы и режим введения (600 мг цефтаролина фосамила + 600 мг авибактама каждые 8 час в форме 1-часовой инфузии), на модели полимикробной инфекции у мышей. Для этого использовали 7 штаммов: 3 метициллиноустойчивых штамма *Staphylococcus aureus* [MRSA], 1 метициллиночувствительный штамм *S.aureus* [MSSA], и по 1 штамму *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae* и *Bacteroides fragilis* в различных комбинациях для создания полимикробной инфекции в ткани иммунокомпromетированных животных. Каждый вариант инфекции содержал, по крайней мере, один штамм *S.aureus* с МПК 0,25—1 мкг/мл и один штамм Enterobacteriaceae с МПК 1 или 4 мкг/мл. В 8 из 16 вариантов инфекций в качестве третьего микроорганизма присутствовал штамм *B.fragilis* с МПК 0,5 мкг/мл. Эффективность оценивали через 24 ч по изменению log₁₀ КОЕ против контроля на 0 час. Эффективность была отмечена на всех вариантах полимикробных инфекций, при снижении нагрузки Enterobacteriaceae на 1log и минимальном снижении *S.aureus* и *B.fragilis* на 2log. Снижение бактериальной нагрузки коррелировало с продолжительностью времени превышения концентрации свободного антибиотика над МПК ($fT > MIC$) на 100, 86 и 56% при МПК 1, 2 и 4 мкг/мл соответственно. Таким образом, была подтверждена прогнозируемая эффективность клинического режима введения 600 мг цефтаролина фосамила + 600 мг авибактама каждые 8 ч в форме 1-часовой инфузии во всех вариантах инфекции на указанной модели. Предполагаются дальнейшие клинические исследования комби-

нации цефтаролина фосамила+авибактам при лечении полимикробных инфекций тканей.

* Center for Anti-Infective Research and Development, Hartford Hospital, Hartford, Connecticut, USA.

**АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ
ЦЕФТОЛОЗАНА/ТАЗОБАКТАМА
В ОТНОШЕНИИ ШТАММОВ ENTEROBACTERIACEAE
И PSEUDOMONAS AERUGINOSA С РАЗЛИЧНЫМИ
ТИПАМИ УСТОЙЧИВОСТИ, ВЫДЕЛЕННЫХ
В БОЛЬНИЦАХ США (2011–2012 ГГ.).**

**ANTIMICROBIAL ACTIVITY
OF CEFTOLOZANE-TAZOBACTAM TESTED
AGAINST ENTEROBACTERIACEAE AND PSEUDOMONAS
AERUGINOSA WITH VARIOUS RESISTANCE PATTERNS
ISOLATED IN U.S. HOSPITALS (2011–2012) /
D. J. FARRELL*, R. K. FLAMM, H.SADER, R. N. JONES //
ANTIMICROBIAL AGENTS CHEMOTHERAPY 2013;
57: 12: 6305–6310.**

Была протестирована чувствительность 7071 штамма Enterobacteriaceae и 1971 штамма *Pseudomonas aeruginosa* к новому антимикробному препарату цефтолозан/тазобактам, активному в отношении *P.aeruginosa* (включая устойчивые к лекарствам штаммы) и обычных грамотрицательных патогенных бактерий (в т. ч. штаммы Enterobacteriaceae, образующие бета-лактамазы расширенного спектра, БЛРС), а также к антибиотикам сравнения. Все штаммы бактерий были последовательно выделены от больных в 32 медицинских центрах по всей территории США в 2011–2012 гг. В целом в качестве штаммов с мультилекарственной устойчивостью (MDR) и экстремальной устойчивостью (XDR) было классифицировано, соответственно, 15,7% и 8,9% штаммов *P.aeruginosa* и 8,4 и 1,2% штаммов Enterobacteriaceae. Был обнаружен только 1 штамм *P.aeruginosa* с панлекарственной устойчивостью (PDR) и ни одного PDR штамма Enterobacteriaceae. Цефтолозан/тазобактам был высокоактивен (МПК_{50/90}, 0,5/2 мкг/мл) в отношении *P.aeruginosa* и достаточно активен в отношении 310 MDR штаммов (МПК_{50/90}, 2/8 мкг/мл) и 175 XDR штаммов (МПК_{50/90}, 4/16 мкг/мл). В отношении штаммов Enterobacteriaceae цефтолозан/тазобактам также продемонстрировал высокую активность (МПК_{50/90}, 0,25/1 мкг/мл) и сохранял хорошую активность (МПК_{50/90}, 4/>32 мкг/мл) в отношении 601 MDR штамма, но был неактивен в отношении 86 XDR штаммов (МПК₅₀, > 32 мкг/мл). Цефтолозан/тазобактам был высокоактивен (МПК_{50/90}, 0,25/0,5 мкг/мл) в отношении 2691 штамма *E.coli*, а также в отношении большинства штаммов *E.coli* с БЛРС-фенотипом (МПК_{50/90}, 0,5/4 мкг/мл), но его активность в отношении штаммов *Klebsiella pneu-*

moniae с БЛРС-фенотипом была низкой (МПК_{50/90}, 32/>32 мкг/мл), что объяснялось наблюдаемым у видов с таким фенотипом высоким уровнем (39,8%) корезистентности к меропенему. Итак, цефтолозан/тазобактам продемонстрировал высокую и широкого спектра активность в отношении многих штаммов Enterobacteriaceae и *P.aeruginosa*, полученных в последнее время из медицинских центров США, при этом оставаясь активным в отношении многих MDR и XDR штаммов.

* JMI Laboratories, North Liberty, Iowa, USA; Department of Laboratory Medicine and Pathobiology, University of Toronto, Toronto, Ontario, Canada.

**АМПИЦИЛЛИН/СУЛЬБАКТАМ: ВОЗМОЖНОСТИ
ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ИНФЕКЦИЙ
У ТЯЖЕЛОБОЛЬНЫХ.**

**AMPICILLIN/SULBACTAM: ITS POTENTIAL USE IN
TREATING INFECTIONS IN CRITICALLY ILL PATIENTS /
S. ADNAN*, D. L. PATERSON, J. LIPMAN,
J. A. ROBERTS // INTERNATIONAL JOURNAL
OF ANTIMICROBIAL AGENTS 2013; 42: 5: 384–389.**

В обзоре рассматриваются вопросы возможного использования ампициллина/сульбактама (САМ) при терапии серьёзных инфекций у тяжелобольных. Для этого были взяты данные исследований по публикациям в PubMed и литературным ссылкам отобранных статей. Было отмечено, что САМ обладает рядом свойств, позволяющих использовать его при лечении серьёзных инфекций у тяжелобольных. САМ глубоко проникает в инфекционные очаги различной локализации, что делает возможным широко использовать его при разных инфекциях. С точки зрения микробиологии САМ характеризуется присущей ему высокой активностью в отношении бактерий с множественной лекарственной устойчивостью (MDR), включая *Acinetobacter baumannii*, что позволяет применять его при инфекционных заболеваниях, обусловленных этим патогеном. В некоторых публикациях сообщалось о снижении чувствительности некоторых бактерий к САМ. Так, применение низких доз (4/2 г в день), особенно в случае инфекции MDR *A.baumannii*, приводило к 30% снижению положительных исходов у тяжелобольных. Надёжное достижение оптимального режима дозирования САМ при выборе терапии обеспечивается частично знанием чувствительности бактерий, а также изменением фармакокинетики (ФК), обычным для беталактамов при тяжёлом течении болезни. Подобные изменения ФК не позволяют при стандартном режиме дозирования достигать концентраций, наблюдаемых у

больных с нетяжёлой инфекцией. Оптимизация терапии скорее может состоять в использовании более высоких доз, введении препарата с помощью 4-часовой инфузии или комбинированной терапии, особенно если инфекция обусловлена MDR патогенами.

* Burns, Trauma and Critical Care Research Centre, Level 7, Block 6, Royal Brisbane and Women's Hospital, QLD 4029, Australia.

ПОДРОБНАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ МУТАЦИЙ, ОТВЕТСТВЕННЫХ ЗА ПРЕВРАЩЕНИЕ ГЕТЕРОГЕННОГО С ПРОМЕЖУТОЧНОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ВАНКОМИЦИНУ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* (hVISA) В VISA, НА ПРИМЕРЕ VISA ШТАММОВ, ПОЛУЧЕННЫХ В ЛАБОРАТОРИИ ИЗ hVISA КЛИНИЧЕСКОГО ШТАММА МУЗ.

COMPREHENSIVE IDENTIFICATION OF MUTATIONS RESPONSIBLE FOR HETEROGENEOUS VANCOMYCIN-INTERMEDIATE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* (hVISA)-TO-VISA CONVERSION IN LABORATORY-GENERATED VISA STRAINS DERIVED FROM hVISA CLINICAL STRAIN MU3 /M. MATSUO, L. CUI*, J. KIM, K. HIRAMATSU // ANTIMICROBIAL AGENTS CHEMOTHERAPY 2013; 57: 12: 5843–5853.

В популяции клеток *Staphylococcus aureus* с частотой 10^{-6} и выше происходит спонтанное превращение гетерогенных штаммов с промежуточной устойчивостью к ванкомицину (hVISA) в устойчивые (VISA). С помощью одноступенчатой селекции с ванкомицином из hVISA штамма Му3 и родственных ему штаммов независимо было получено 45 VISA мутантов. Было выполнено секвенирование целого генома у 45 мутантных и их родительских штаммов для идентификации генов, участвующих в превращении фенотипа hVISA в VISA. Сравнительное исследование генома показало, что все VISA штаммы содержали уникальный набор мутаций. Все 45 VISA штаммов несли от 1 до 4 мутаций, предположительно влияющих на экспрессию всех 48 генов. Из них 32 штамма содержали только 1 ген с единственной мутацией. У 32 VISA штаммов 20 генов более чем 8 функциональных категорий были подвергнуты мутациям, чем объяснялся высокий показатель превращения фенотипа hVISA в VISA. Ранее сообщалось о 5 генах, *rpoB*, *rpoC*, *walk*, *pbp4* и *pp2c*, ответственных за устойчивость к ванкомицину. В настоящем исследовании было идентифицировано ещё 15 генов, ассоциированных с устойчивостью к ванкомицину. Наиболее часто (у 6 из 32 штаммов) мутировал ген *cmk*, кодирующий цитидилат киназу, затем следовал ген *rpoB* (5 из 32), кодирующий β субъединицу РНК поли-

меразы. В результате расширенного исследования было выявлено соразмерное количество *cmk* мутантов среди VISA клинических штаммов (7 из 38 [18%]). Снижение цитидилат киназной активности у *cmk* мутантов предполагает, что фенотипическое превращение hVISA в VISA сопровождается утолщением клеточной стенки и снижением скорости роста.

* Department of Bacteriology, Faculty of Medicine, Juntendo University, Tokyo, Japan.

ВЫСОКИЕ ЗНАЧЕНИЯ МИНИМАЛЬНЫХ ПОДАВЛЯЮЩИХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ВАНКОМИЦИНА У ГЕТЕРОРЕЗИСТЕНТНОГО *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* С ПРОМЕЖУТОЧНОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ВАНКОМИЦИНУ У БОЛЬНЫХ БАКТЕРИЕМИЕЙ, ОБУСЛОВЛЕННОЙ МЕТИЦИЛИНОУСТОЙЧИВЫМ *S.AUREUS*.

HIGH VANCOMYCIN MINIMUM INHIBITORY CONCENTRATIONS WITH HETERORESISTANT VANCOMYCIN-INTERMEDIATE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* IN METICILLIN-RESISTANT *S.AUREUS* BACTERAEMIA PATIENTS / J.-L. WANG, C.-H. LAI, H.-H. LIN, W.-F. CHEN, Y.-C. SHIH, C.-H. HUNG* // INTERNATIONAL JOURNAL OF ANTIMICROBIAL AGENTS 2013; 42: 5: 390–394.

Лечение инфекций, обусловленных гетерорезистентным с промежуточной устойчивостью к ванкомицину *Staphylococcus aureus* (hVISA), имеющим высокие значения МПК, ассоциируется с неблагоприятным исходом. Основной задачей исследования было определить влияние hVISA на исход лечения, принимая во внимание как высокие значения МПК, так и наличие гетерорезистентного фенотипа. С января 2005 г. по декабрь 2009 г. в 284 последовательных случаях бактериемии, вызванной метициллиноустойчивым *S.aureus* (MRSA), после лечения гликопептидами были выделены штаммы для последующего тестирования МПК и hVISA. Сравнили демографические данные, клинические характеристики и исходы у больных бактериемией и связь со значениями МПК и статусом hVISA MRSA штаммов. Были выделены 3 группы: 1) с низким значением МПК ванкомицина (<1,5 мг/л) и чувствительностью к ванкомицину (*S.aureus* VSSA) ($n=50$); 2) высоким значением МПК ($\geq 1,5$ мг/л) у VSSA штаммов ($n=218$); 3) высоким значением МПК и статусом hVISA ($n=16$). Регрессивный анализ по Коксу показал, что в группе VSSA с высоким значением МПК показатель 30-дневной смертности значительно выше, чем в группе VSSA с низким значением МПК [odds ratio (OR) = 2,349, 95% ДИИ] 1,078–5,118].

Высокие значения МПК в группе с hVISA фенотипом ассоциировались не с более высокой смертностью, а с персистирующей MRSA бактериемией. В итоге можно сказать, что хотя hVISA коррелирует с персистенцией бактериемии, повышенную смертность при инфекциях, характеризующихся высокими значениями МПК ванкомицина, нельзя объяснить наличием hVISA фенотипа. В случае персистирующей бактериемии после 7-дневной терапии гликопептидами врачам следует рассмотреть вопрос о выборе альтернативного класса антибиотиков для лечения hVISA инфекции.

* Chemical Department of Chemical Engineering, and Institute of Biotechnology and Engineering, I-Shou University, Kaohsiung, Taiwan, ROC.

ДЕЙСТВИЕ БАКТЕРИОЦИНОВ НА БИОПЛЁНКУ, ОБРАЗУЕМУЮ МЕТИЦИЛЛИНОУСТОЙЧИВЫМ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*.

EFFECTS OF BACTERIOCINS ON METHICILLIN-RESISTANT *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* BIOFILM / К.-И. OKUDA*, Т. ZENDO, S. SUGIMOTO, Т. IWASE, А. TAJIMA, S. YAMADA, К. SONOMOTO, Y. MIZUNOE // *ANTIMICROBIAL AGENTS CHEMOTHERAPY* 2013; 57; 11; 5572—5579.

Контроль за биоплёнками, образуемыми патогенными бактериями, очень важен при медицинских исследованиях, т. к. развитие биоплёнок на поверхностях инородных тел, какими являются медицинские устройства, вызывает связанные с этим инфекции у больных, нуждающихся в этих устройствах. Исследовали влияние различных бактериоцинов, представляющих собой антимикробные пептиды, синтезируемые рибосомами некоторых бактерий, на образование биоплёнок клиническим штаммом метициллиноустойчивого *Staphylococcus aureus* (MRSA), оценивая активность и механизм действия трёх бактериоцинов различного строения (низин А, лактицин Q, нукацин ISK-1). Ванкомицин, гликопептидный антибиотик, используемый для лечения MRSA инфекций, оказывал бактерицидное действие на планктонные клетки, но не влиял на клетки биоплёнки. Наивысшей бактерицидной активностью в отношении как планктонных, так и включённых в биоплёнку клеток обладал низин А. Лактицин Q действовал на планктонные и включённые в биоплёнку клетки, но со значительно меньшей бактерицидной активностью, чем низин А. Нукацин ISK-1 оказывал бактериостатическое действие на планктонные клетки и не был бактерициден в отношении клеток биоплёнки. Изучение механизма действия показало, что

очень важным для проявления бактерицидного действия в отношении клеток биоплёнки было образование пор, приводящее к выбросу АТФ. Таким образом, бактериоцины, образующие стабильные поры у клеток, включённых в биоплёнку, обладают высоким потенциалом в лечении MRSA инфекций, сопровождающихся образованием биоплёнок.

* Department of Bacteriology, The Jikei University School of Medicine, Tokyo, Japan.

ПОЯВЛЕНИЕ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, НЕСУЩЕГО ГЕНЫ МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ НА ПЛАЗМИДЕ, КОДИРУЮЩЕЙ ЭКСФОЛИАТИВНЫЙ ТОКСИН В.

EMERGENCE OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* CARRYING MULTIPLE DRUG RESISTANCE GENES ON A PLASMID ENCODING EXFOLIATIVE TOXIN B / J. HISATSUNE, Н. HIRAKAWA, Т. YAMAGUCHI, Y. FUDABA, К. OSHIMA, М. HATTORI, F. KATO, S. KAYAMA, М. SUGAI* // *ANTIMICROBIAL AGENTS CHEMOTHERAPY* 2013; 57: 12: 6131—6140.

Выполнены определение полной нуклеотидной последовательности и анализ плазмиды рЕТВ_{TY825}, кодирующей эксфолиативный токсин В (ЭТВ), у клинического штамма *Staphylococcus aureus* TY825, выделенного в 2002 г. от больного импетиго. Размер рЕТВ_{TY825}, равный 60,6 тпн, был неожиданно больше размера архетипа рЕТВ_{TY4} (30 тпн). Сравнительный геномный анализ плазмид показал, что в основе рЕТВ_{TY825} лежит архетип рЕТВ_{TY4} с дополнительным большим (22,4 тпн) участком ДНК, содержащим гены устойчивости к аминогликозидам [*aac(6')/aph(2'')*], макролидам (*msrA*) и пеницилину (*blaZ*). Делеционные опыты с плазмидой указывали на функциональную активность детерминант устойчивости. С использованием очищенных препаратов плазмиды методами определения МПК гентамицина (ГМ), арбекацина (АБК) и эритромицина (ЭМ), а также ПЦР-анализа *aac(6')/aph(2'')* и *msrA* был определён ретроспективный профиль резистентности клинических ЭТВ-продуцирующих штаммов, выделенных в 1977—2007 гг. После 1990 г. штаммы *S. aureus*, продуцирующие ЭТВ, проявляли высокую устойчивость к ГМ с одновременным наличием у них *aac(6')/aph(2'')* и *msrA*. В этот период заметного изменения значения МПК для АБК не было, хотя и наблюдалась тенденция к слабому росту. С 2001 г. значительно возросло число штаммов, устойчивых к ЭМ, при этом у ЭТВ-продуцирующих штаммов *S. aureus* с трудом обнаруживали *msrA*, только 5 штаммов содержали *aac(6')/aph(2'')* и

msrA. В настоящем исследовании сообщается о появлении фузионной плазмиды, несущей ген токсина *etb* и гены устойчивости. Распространение носителя плазмиды рЕТВ_{TY825} представляет клиническую угрозу, поскольку *S.aureus*, продуцирующий ЭТВ, вызывает тяжёлую форму импетиго или синдром стафилококкового токсического эпидермального некроза (SSSS), требующих генерализованной антимикробной терапии.

* Department of Bacteriology, Hiroshima University Graduate School of Biomedical & Health Sciences, Hiroshima City, Hiroshima, Japan; Project Research Center for Nosocomial Infectious Diseases, Hiroshima University, Hiroshima, Japan.

К ВОПРОСУ ОБ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ПОВЫШЕННЫХ ДОЗ ДАПТОМИЦИНА У ТЯЖЕЛОБОЛЬНЫХ С БАКТЕРИЕМИЕЙ, ОБУСЛОВЛЕННОЙ МЕТИЦИЛЛИНОУСТОЙЧИВЫМ STAPHYLOCOCCUS AUREUS.

CONSIDERATIONS FOR HIGHER DOSES OF DAPTOMYCIN IN CRITICALLY ILL PATIENTS WITH METHICILLIN-RESISTANT STAPHYLOCOCCUS AUREUS BACTEREMIA /M. FALCONE, A. RUSSO, M. VENDITTI, A. NOVELLI, M. P. PAI* // CLINICAL INFECTIOUS DISEASES 2013; 57: 11: 1568—1576.

Применение высоких доз даптомицина оправдано в отдельных случаях лечения инфекций, вызванных метициллиноустойчивым *Staphylococcus aureus* (MRSA), но насколько такие дозы достигают цели и какова их токсичность у тяжелобольных ещё не определено. Оценивали фармакокинетику (ФК) в плазме и клинические исходы в группе тяжелобольных с первичными стафилококковыми инфекциями, получавших 6—8 мг/кг/сутки даптомицина. В начальном 96-часовом периоде дозирования проводили частое измерение концентраций даптомицина. Данные обрабатывали на аналитической модели популяционной фармакокинетики; для оценки эффекта и токсичности доз использовали модель Монте-Карло. В исследование было включено 50 больных, средний возраст (SD) которых составлял 69,7 (12,2) лет, вес 74,5 (20,3) кг, клиренс креатинина 56,8 (38,2), количество образцов для измерений составило даптомицина 12 (2,2) для каждого пациента. В подгруппе больных ($n=13$) с аугментированным (усиленным) клиренсом при сравнимых дозах наблюдали значительно более низкие концентрации даптомицина. Сопряжённой изменчивости клиренса установлено не было, более вероятно, что у больных этой подгруппы был тяжёлый сепсис или септический шок, более высокий показатель выраженности органной недостаточности (SOFA, Sequential Organ Failure

Assessment) и MRSA бактериемия. Больничная смертность у больных с усиленным клиренсом даптомицина была существенно выше (30,7% против 10,8%). Назначение эмпирической фиксированной дозы даптомицина 750 мг тяжелобольным предполагает достижение сопоставимого эффекта при более низкой вероятности токсичности по сравнению с дозой 10 мг/кг. Для повышения эффективности и снижения токсичности необходима переоценка действующих рекомендаций по дозированию даптомицина у тяжелобольных.

* Manjunath (Amit) P. Pai, PharmD, Albany College of Pharmacy, 106 New Scotland Ave, O'Brien 204, Albany, NY 12208.

МНОГОЦЕНТРОВАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ ВЫСОКИХ ДОЗ ДАПТОМИЦИНА ПРИ ЛЕЧЕНИИ ИНФЕКЦИОННОГО ЭНДОКАРДИТА.

A MULTICENTRE EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS AND SAFETY OF HIGH-DOSE DAPTOMYCIN FOR THE TREATMENT OF INFECTIVE ENDOCARDITIS / R. KULLAR, A. M. CASAPAO, S. L. DAVIS, D. P. LEVINE, J. J. ZHAO, C. W. CRANK, J. SEGRETI, G. SAKOULAS, S. E. COSGROVE, M. J. RYBAK* // JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY 2013; 68: 12: 2921—2926.

Несмотря на достижения в медицине, инфекционный эндокардит (ИЭ) сопряжён с высокой заболеваемостью и летальностью. Предметом исследования было оценить безопасность и эффективность высоких доз даптомицина, ≥ 8 мг/кг/сутки, у больных с установленным или предполагаемым диагнозом стафилококкового или энтерококкового ИЭ. Было выполнено многоцентровое ретроспективное наблюдательное исследование (2005—2011 гг.), в которое были включены взрослые больные, не подвергавшиеся гемодиализу, с положительными гемокультурами стафилококков или энтерококков, установленным или предполагаемым диагнозом ИЭ, получавшие даптомицин в дозе ≥ 8 мг/кг/сутки в течение ≥ 72 час. Критериям отбора соответствовали 70 больных, из них 33 (47,1%) с правосторонним ИЭ, 35 (50%) с левосторонним ИЭ, и 2 с ПИЭ и ЛИЭ. У некоторых больных были и другие очаги инфекции, преобладали костно-суставные инфекции (12,9%). Шестьдесят пять (65) больных получали даптомицин в качестве неотложной терапии. У 64 больных были выделены возбудители болезни, основным из которых был метициллиноустойчивый *Staphylococcus aureus* (84,4%), затем следовал ванкомициноустойчивый *Enterococcus faecium* (7,8%). Средняя доза (медиана, IQR) даптомицина была равна 9,8 мг/кг/сутки (8,2—10,0 мг /кг/сутки) как для больных ПИЭ, так

и ЛИЭ (9,8 и 9,3 мг/кг/сутки соответственно). В целом 24 (34,3%) больных получали комбинированную терапию. У больных с выделенным патогеном ($n=64$) эрадикация микроорганизма была достигнута у 57 (89,1%). Из 64 клинически оцененных больных у 55 (85,9%) клинический исход был положительным. Больным, получавшим высокие дозы даптомицина, не потребовалось отмены терапии из-за повышения уровня креатин фосфокиназы. Таким образом, терапия высокими дозами даптомицина больных с ПИЭ и ЛИЭ дала положительные результаты. Для оценки режимов с высокими дозами даптомицина у больных с ИЭ необходимы дополнительные клинические испытания.

* Anti-Infective Research Laboratory, Department of Pharmacy Practice, College of Pharmacy and Health Sciences, Wayne State University, 259 Mack Ave., Detroit, MI 48201, USA.

ВЫВОДЫ ИЗ ГЛОБАЛЬНЫХ ПРОГРАММ ПО АМБУЛАТОРНОЙ ПАРЕНТЕРАЛЬНОЙ АНТИМИКРОБНОЙ ТЕРАПИИ ВЗРОСЛЫХ БОЛЬНЫХ. ОБЗОР ПОСЛЕДНЕЙ ДЕКАДЫ.

OUTCOMES FROM GLOBAL ADULT OUTPATIENT PARENTERAL ANTIMICROBIAL THERAPY PROGRAMMES: A REVIEW OF THE LAST DECADE / M. MACKENZIE*, N. RAE, D. NATHWANI // INTERNATIONAL JOURNAL OF ANTIMICROBIAL AGENTS 2013. ARTICLE IN PRESS.

Амбулаторная парентеральная антимикробная терапия (АПАТ) приобретает глобальный характер, начиная с времени её появления в 1974 г. Многоцентровая регистрация исходов лечения, используемая для выявления преимуществ и недостатков лечения в этих условиях, была прервана в начале 2000-х гг. Тенденции в клинических, правовых, программных и экономических аспектах за прошедшее десятилетие отражены в анализах результатов спорадических когортных исследований. Выводы в основном хорошо сравнимы и совпадают с предшествующими зарегистрированными данными. Однако глубокое сравнение ряда ключевых выводов затруднено из-за отсутствия единообразной формы изложения результатов. В дополнение к сообщениям о результатах программы в целом, в некоторых исследованиях детализированы результаты, относящиеся к специфическим условиям и отдельным популяциям. В настоящем сообщении показано, как сбор проспективных данных может привести к более глубокому пониманию эффективности и безопасности АПАТ многих заболеваний, таких как костно-суставные инфекции и эндокардит, в различных популяциях во всё увеличивающемся

списке стран. Улучшенная и более унифицированная форма надзора в настоящее время применяется на практике, что позволит преимуществам и рискам новой формы лечения проявиться как в новых, так и в уже утвердившихся областях применения АПАТ.

СНИЖЕНИЕ НЕЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К ЦЕФАЛОСПОРИНАМ И ФТОРХИНОЛОНАМ У ENTEROBACTERIACEAE, ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНФЕКЦИЙ КРОВОТОКА В ВЕЛИКОБРИТАНИИ: СВЯЗАНО ЛИ ЭТО С ИЗМЕНЕНИЯМИ В НАЗНАЧЕНИИ АНТИБИОТИКОВ?

DECLINING CEPHALOSPORIN AND FLUOROQUINOLONE NON-SUSCEPTIBILITY AMONG BLOODSTREAM ENTEROBACTERIACEAE FROM THE UK: LINKS TO PRESCRIBING CHANGE? / D. M. LIVERMORE*, R. HOPE, R. REYNOLDS, R. BLACKBURN, A. P. JOHNSON, N. WOODFORD // JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY 2013; 68: 11: 2667–2674.

За период с 2001 г. по 2006 г. в Великобритании наблюдался значительный рост устойчивости к цефалоспорином и хинолонам среди Enterobacteriaceae. Устойчивость к цефалоспорином была отражением диссеминации бета-лактамазы расширенного спектра (БЛРС) СТХ-М. В данном обзоре прослеживаются тенденции развития устойчивости на основании данных национальной Базы здравоохранения Англии (LabBase), в которой собраны результаты тестирования чувствительности штаммов, выделенных из проб крови в микробиологических лабораториях клиник Англии, Уэльса, Северной Ирландии, а также данных системы BSAC (Британского Общества антимикробной химиотерапии) по надзору за устойчивостью при бактериемии, централизованно тестирующей штаммы бактерий из кровотока, полученных из 25–40 окружных лабораторий Великобритании и Ирландии. Включены также данные референс-лабораторий. Как показал анализ данных LabBase и BSAC, рост нечувствительности к цефалоспорином и хинолонам среди штаммов *Escherichia coli* и *Klebsiella* spp. увеличивался до середины декады (2004–2007 гг.), затем стабилизировался или снижался. Подобное снижение нечувствительности начало наблюдаться несколько раньше у штаммов *Enterobacter* spp. Эти тенденции происходили на фоне роста случаев *E. coli* бактериемий, стабилизации числа *Klebsiella* бактериемий и падения числа *Enterobacter* бактериемий: это не совпадало с данными EARS (European Antimicrobial Resistance Surveillance System) по континентальной Европе. Указанные тенденции совпали с существенным снижением использования в боль-

нищах цефалоспоринов и хинолонов в связи с проблемой *Clostridium difficile* и замещением их комбинациями пенициллин-ингибитор бета-лактамазы с пограничной активностью в отношении продуцентов БЛРС и не активными в отношении продуцентов карбапенемаз. Снижение в Великобритании уровня нечувствительных к цефалоспорином и хинолонам Enterobacteriaceae-возбудителей инфекций кровотока, возможно, связано с изменениями в назначении антибиотиков. Но замещение

цефалоспоринов и хинолонов комбинациями пенициллин-ингибитор бета-лактамазы может усилить селекцию продуцентов карбапенемаз.

* Norwich Medical School, University of East Anglia, Norwich NR4 7TJ, UK.

**Подготовлено
Бондаревой Н. С.**

П Р А В И Л А Д Л Я А В Т О Р О В

Редакция обращает внимание авторов на следующие правила и форму представления рукописей для публикации в журнале «Антибиотики и химиотерапия».

1. Рукописи статей в 2 экз. (вместе с электронной версией текста на диске) с приложением в 2 экз. иллюстраций (в отдельном конверте) направляются по адресу: **113105 Москва, ул. Нагатинская, д. 3а. Редакция журнала «Антибиотики и химиотерапия»**. Рукопись должна иметь сопроводительное письмо, подписанное руководителем учреждения, в котором выполнена работа. Статья подписывается всеми авторами с указанием ответственного за переписку (Ф.И.О., адрес, телефон).

2. В выходных данных статьи указываются: название, инициалы, фамилии авторов, наименование учреждений, всех авторов, их должности, e-mail.

3. Статья печатается на одной стороне стандартного листа через 1,5–2 интервала при ширине полей слева 3 см.

4. Объём оригинальной статьи (как правило) не должен превышать 12 страниц, включая таблицы и иллюстрации, общее количество иллюстраций — не более 5. Объём обзорной статьи не должен превышать 20 страниц, а список цитируемой литературы — не более 60 названий. Объём заказанных статей устанавливается по договоренности.

5. Оригинальная статья должна включать (по порядку) следующие основные разделы: «**Резюме**» — не более 1 страницы; введение с кратким обзором литературы и постановкой цели исследования; «**Материал и методы**» — с детальным описанием объектов исследований, методических приёмов и квалификаций использованных реагентов (фирм-изготовителей); «**Результаты исследований**» и «**Обсуждение результатов**» или «**Результаты и обсуждение**», «**Заключение**» или «**Выводы**» (по пунктам); «**Литература**» — с указанием цитируемых источников.

6. Таблицы должны быть пронумерованы, **иметь название**, заголовки граф точно соответствовать их содержанию, а цифры в таблицах — цифрам в тексте. Необщепринятые сокращения в графах не допускаются. На каждую таблицу в тексте статьи должны быть **сноски**.

7. Иллюстрации (графики, диаграммы, формулы) должны быть чёткими, фотографии — контрастными. На обороте каждого рисунка указывается фамилия первого автора статьи, номер рисунка, обозначается верх рисунка. В тексте статьи обязательны ссылки на рисунок. Рисунки и таблицы не должны дублировать друг друга. **Подписи к рисункам делаются на отдельном листе** с указанием номера рисунка и его названия. Для графиков и диаграмм отмечается, **что дано по осям координат** на приведенных кривых и т. п.

8. В формулах должны быть чётко **размечены все элементы**: строчные (m) и прописные (M) буквы, синим подчеркнуты латинские буквы, красным — греческие (с вынесением разметки на поля), четко выделяются подстрочные и надстрочные индексы; в случае цифр и букв, сходных по написанию (0 — цифра, O — буква), должны быть сделаны соответствующие пометки.

9. **Сокращения слов, названий** (кроме общепринятых сокращений мер физических, химических, а также математических величин и терминов) **не допускаются**. Меры даются по Международной системе единиц (СИ) в русском обозначении, температура по шкале Цельсия.

10. Латинские названия микроорганизмов приводятся в соответствии с современной классификацией. При первом упоминании название микроорганизма дается полностью — род и вид (например, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptomyces lividans*), при повторном упоминании **родовое название сокращается** до одной буквы (*E.coli*, *S.aureus*, *S.lividans*).

11. Названия генетических элементов даются в трёхбуквенном обозначении латинского алфавита строчными буквами, курсивом (*tet*), кодируемыми соответствующими генетическими элементами продукты — прописными прямыми буквами (TET).

12. В журнале используются **международные непатентованные названия** (МНН) препаратов. Торговые (патентованные) названия, под которыми препараты выпускаются различными фирмами, приводятся в разделе «Материал и методы», с указанием фирмы-изготовителя и их международным непатентованным названием.

13. Цитируемые источники литературы во всех видах публикаций нумеруются в порядке их упоминания в тексте и заключаются в квадратные скобки. В библиографическом описании указываются фамилия, инициалы автора, название статьи, журнала, год, том, номер журнала, номера страниц «от» и «до»; в случае монографии — фамилия и инициалы автора (редактора), название, город, год, количество страниц.

14. Статьи, ранее опубликованные или направленные в какой-либо другой журнал или сборник, не должны присылаться.

15. При несоблюдении указанных правил статьи редакцией не принимаются.

16. Статьи, принятые в журнал, проходят рецензирование. Редакция и издательство не несут ответственности за мнения, изложенные в публикациях, а также за содержание рекламы.

17. Рукописи отклонённых работ редакция не возвращает.

ЦИКЛОФЕРОН®



САМЫЙ БЫСТРЫЙ ИНДУКТОР ИНТЕРФЕРОНА

Корректор естественного иммунитета
Широкий спектр противовирусного
действия

мы создаем
УНИКАЛЬНОЕ

- Первый российский низкомолекулярный индуктор интерферона
- Безопасность, надежность и доказанная эффективность
- Производится в соответствии с международным стандартом качества GMP

Форма выпуска:

раствор для инъекций
125 мг/мл в ампулах по 2 мл №5;
таблетки по 150 мг, покрытые
кишечнорастворимой оболочкой, № 10 (5)
линимент 5% тубы по 5 мл и 30 мл

Показания к применению:

Таблетки

(Reg№ 001049/02):
вирусные инфекции
(грипп, ОРЗ, гепатиты, герпес),
кишечные инфекции,
нейроинфекции

Инъекции

(Reg№ 001049/03):
вирусные инфекции,
заболевания передаваемые
половым путем, кишечные
инфекции, нейроинфекции

Линимент

(Reg№ 001049/01):
вагиниты, пародонтиты,
герпетическая инфекция
кожи и слизистых оболочек

Противопоказания:

беременность, период лактации,
повышенная чувствительность к
компонентам препарата,
детский возраст до 4-х лет,
декомпенсированный цирроз печени

 ПОЛИСАН

191119, Россия, Санкт-Петербург,
Лиговский пр. д. 112.
Тел: + 7 (812) 710-82-25
E-mail: marketing@polisan.ru