

ISSN 0235-2990

АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

Том 59



7-8'2014

Научно-практический журнал



Новые возможности лечения ОРВИ и гриппа



реклама
Рег. № 007362/10
информация для специалистов

Эргоферон

- Оказывает противовирусное, противовоспалительное и антигистаминное действие
- Сочетает преимущества этиотропной, патогенетической и симптоматической терапии
- Имеет широкий спектр противовирусной активности



ООО «НПФ «Материя Медика Холдинг»
Тел./факс (495) 684-43 33
Россия, 127473, г. Москва
3-й Самотечный пер., дом 9
www.materiamedica.ru
Лицензия № 99-04-000422 от 10.12.07

ИМЕЮТСЯ ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ
ОЗНАКОМЬТЕСЬ С ИНСТРУКЦИЕЙ

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
since 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. № 0110694 от 25 мая 1993 г.

Установочный тираж 5000 экз.

© ГНЦА 2014

Типография:

ООО «Новелла»

Дата выхода: 16.08.2014

Свободная цена

АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

ANTIBIOTICS AND CHEMOTHERAPY

Том 59

7—8'2014

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. Климко 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. Бежавская И. В.

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Беседнова Н. Н.	Клясова Г. А.
Бибилова 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

Бакулин В. М., Туманов А. С., Мартинсон Е. А., Литвинцев С. Г., Бакулин М. К., Калининский В. Б.
Влияние перфтордекалина на рост актиномицетов и интенсификацию продукции стрептомицина и даунорубицина бактериями рода *Streptomyces* в технологии их глубинного культивирования

В помощь практикующему врачу

Лазарева А. В., Катосова Л. К., Крыжановская О. А., Пономаренко О. А., Карасева О. В., Горелик А. Л., Маянский Н. А.
Мониторинг и профиль антибиотикорезистентности микробиоты трахеального аспирата у детей с тяжёлой черепно-мозговой травмой в отделении реанимации и интенсивной терапии
Геппе Н. А., Кондюрина Е. Г., Галустян А. Н., Пак Т. Е., Бальцерович Н. Б., Жиглинская О. В., Камаев А. В., Лазарева С. Г., Лалёко С. Л., Мельникова И. М., Михайлова Е. В., Перминова О. А., Сабитов А. У., Спиваковский Ю. М.
Ренгалин — новый препарат для лечения кашля у детей. Промежуточные итоги многоцентрового сравнительного рандомизированного клинического исследования
Ермак С. Ю., Ляликов С. А., Зубрицкий М. Г., Бородавко О. Н.
Применение препарата Циклоферон в терапии хронических гастроудоденитов у детей
Белова Л. А., Машин В. В., Колотик-Каменева О. Ю., Прошин А. Н.
Влияние терапии цитофлавином® на функцию эндотелия и церебральную гемодинамику у больных гипертонической энцефалопатией

Обзоры

Яхкинд М. И., Таранцева К. Р., Марынова М. А., Стороженко П. А., Расулов М. М.
Молекулярно импринтированные полимеры для макролидов, аминогликозидов и некоторых других биосинтетических антибиотиков
Автономова А. В., Краснополянская Л. М.
Противовирусные свойства метаболитов базидиальных грибов

Original Papers

3 Bakulin V. M., Tumanov A. S., Martinson E. A., Litvinec S. G., Bakulin M. K., Kalininski V. B.
Influence of Perfluorodecalin on Growth of Actinomycetes and Intensification of Streptomycin and Daunorubicin Production by the Genus *Streptomyces* Kind Bacteria in Submerged Culture

Guidelines For Practitioners

8 Lazareva A. V., Katosova L. K., Kryzhanovskaya O. A., Ponomarenko O. A., Karaseva O. V., Gorelik A. L., Mayanskiy N. A.
Monitoring and Antibiotic Resistance Profile of Tracheal Aspirate Microbiota in ICU Children with Severe Craniocerebral Trauma
16 Geppe N. A., Kondyurina E. G., Galustyan A. N., Pak T. E., Baltserovich N. B., Zhiglinskaya O. V., Kamaev A. V., Lazareva S. G., Laleko S. L., Melnikova I. M., Mikhailova E. V., Perminova O. A., Sabitov A. U., Spivakovskiy Yu. M.
Rengalin, a Novel Drug for Treatment of Cough in Children. Intermediate Data on Multicentre, Comparative Randomized Clinical Trial
25 Yermak S. Yu., Lialikov S. A., Zubritsky M. G., Borodavko O. N.
Cycloferon Therapy of Chronic Gastroduodenitis in Children
30 Belova L. A., Mashin V. V., Kolotik-Kameneva O. Yu., Proshin A. N.
Cytoflavin® Effect on Endothelium Function and Cerebral Hemodynamics in Patients with Hypertensive Encephalopathy

Reviews

37 Yakhkind M. I., Tarantseva K. R., Marynova M. A., Storozhenko P. A., Rasulov M. M.
Molecular Imprinted Polymers for Macrolides, Aminoglycosides and Some Other Biosynthetic Antibiotics
41 Avtonomova A. V., Krasnopolskaya L. M.
Antiviral Properties of Basidiomycetes Metabolites

По страницам журналов 49 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.

Влияние перфтордекалина на рост актиномицетов и интенсификацию продукции стрептомицина и даунорубина бактериями рода *Streptomyces* в технологии их глубинного культивирования

В. М. БАКУЛИН, А. С. ТУМАНОВ, Е. А. МАРТИНСОН, С. Г. ЛИТВИНЕЦ, М. К. БАКУЛИН, В. Б. КАЛИНИНСКИЙ

ФГБОУ ВПО Вятский государственный университет, Киров

Influence of Perfluorodecalin on Growth of Actinomycetes and Intensification of Streptomycin and Daunorubicin Production by the Genus *Streptomyces* Kind Bacteria in Submerged Culture

V. M. BAKULIN, A. S. TUMANOV, E. A. MARTINSON, S. G. LITVINEC, M. K. BAKULIN, V. B. KALININSKI

Vyatka State University, Kirov

Показано, что добавление перфтордекалина с газотранспортной функцией в жидкую среду при биотехнологическом процессе глубинного культивирования актиномицетов рода *Streptomyces* приводит к повышению интенсивности и уровня синтеза биомассы и увеличению продукции антибиотиков стрептомицина и даунорубина. Введение в среду перфтордекалина приводило к тому, что максимальное значение продукции антибиотиков (достигаемое на 120—144-й часы роста) в 2,0—2,3 раза превосходило пики накопления антибиотиков в контрольных опытах.

Ключевые слова: актиномицеты, стрептомицеты, перфтордекалин, стрептомицин, даунорубин, глубинное культивирование, биомасса, антибиотическая продуктивность.

Addition of perfluorodecalin with gas-transporting function to the liquid medium during submerged cultivation of actinomycetes of the genus *Streptomyces* resulted in higher intensity and level of the biomass synthesis and increased production of streptomycin and daunorubicin. Addition of perfluorodecalin to the medium provided a 2.0—2.3-fold surpass of the maximum antibiotic production (achieved by the 120th—144th hours of the culture growth) vs. the antibiotic accumulation peaks in the control.

Key words: actinomycetes, streptomycetes, perfluorodecalin, streptomycin, daunorubicin, submerged cultivation, biomass, antibiotic production.

Введение

Продуцентами большинства известных к настоящему времени антибиотиков, синтезируемых актиномицетами и нашедших практическое применение, являются различные виды бактерий рода *Streptomyces* [1]. Стрептомицеты доминируют среди почвенных микроорганизмов по количеству видов описанных в качестве эффективных антибиотикопродуцентов (*S.griseus*, *S.bikiniensis*, *S.mashuensis*, *S.fradiae*, *S.kanamyceticus*, *S.tenebrarius*, *S.eurocidicus*, *S.antibioticus*, *S.ambofaciens*, *S.noursei*, *S.purpurogeniscleroticus*, *S.violaceoniger*, *S.levoris*, *S.aureofaciens* и др.) и широте спектра синтезируемых ими антибиотиков разных химических групп (аминогликозиды, тетрациклины, макролиды, полиены, авермектины, антрациклины и др.).

Классическая технология глубинного выращивания стрептомицетов и получения отечест-

венного стрептомицина, была разработана сотрудниками НИИ эпидемиологии и гигиены Красной Армии (НИИЭГ, ныне — филиал ФГБУ «48 ЦНИИ» МО РФ, г. Киров) в 1946 г, о чём научная общественность узнала спустя полвека из публикации военных микробиологов [2]. В США аналогичные исследования были проведены в это же время под руководством С. Ваксмана — ученого российского происхождения, эмигрировавшего из России в США и возглавившего в 1940 году Рутгерсовский университет в Нью-Брунсвике (удостоен Нобелевской премии в 1952 году) [3].

В ходе последующих многолетних исследований было показано, что процесс развития стрептомицетов разных видов и многих других микроорганизмов-антибиотикопродуцентов в глубинных культурах имеет, как правило, сходный двухфазовый характер и зависит от особенностей штамма и условий выращивания, что позволяет искать общие подходы к совершенствованию технологии получения целевых продуктов [4, 5]. Обобщая эту проблему, зарубежные исследователи отмечают,

© Коллектив авторов, 2014

Адрес для корреспонденции: E-mail: milevolu@mail.ru

что одним из наиболее существенных лимитирующих факторов в промышленном производстве антибиотиков с использованием стрептомицетов является недостаточное количество доступного клеткам кислорода, что обусловлено его плохой растворимостью в культуральной среде, и предлагают два подхода для её практического решения: «...можно, во-первых, изменить конструкцию биореакторов, в которых выращивается культура *Streptomyces*, а во-вторых, используя методы генной инженерии, создать штаммы, более эффективно использующие кислород...», вплоть до встраивания генов, ответственных за синтез продуктов, подобных гемоглобину эукариотов, в геном стрептомицетов [6]. Оба названные направления решения проблемы снабжения стрептомицетов кислородом имеют свои достоинства и недостатки, в то же время Кировские биотехнологи и микробиологи предложили альтернативный способ, заключающийся в использовании при глубинном культивировании стрептомицетов перфторорганических соединений (ПФОС), обладающих комплексом практически полезных свойств: высокой химической и биологической устойчивостью, отсутствием токсичности для живых организмов, большой способностью растворять газы и модифицировать мембраны клеток, облегчая транспорт веществ через них, что позволило эффективно использовать ПФОС при конструировании кровезаменителей [7–9]. Следует отметить, что положительные результаты от использования ПФОС были показаны в этих экспериментах при выращивании стрептомицетов в жидкой среде в небольших объемах — в колбах Эрленмейера на шуттеле [8, 10, 11]. Представлялось целесообразным продолжить эти исследования при аппаратном культивировании стрептомицетов.

Целью настоящей работы являлась экспериментальная оценка перспективности использования перфторорганических соединений с газотранспортной функцией в технологии аппаратного глубинного культивирования культур стрептомицетов.

Материал и методы

В работе использован перфтордекалин (ПФД) — перфторуглерод (химическая формула $C_{10}F_{18}$) с молекулярной массой 462 Да, производства ОАО Кирово-Чепецкого химического комбината им. Б. П. Константинова, который добавлялся в экспериментальную среду в количестве 1,0 объёмных % (2,0 % по массе).

В качестве антибиотикопродукторов использованы штаммы стрептомицетов с типичными родовыми и видовыми свойствами: *S. griseus* 1723 (продуцент стрептомицина) и *S. purpurogeniscleroticus* ВБМ 158 (продуцент даунорубина) и три тест-штамма бактерий для определения и сравнения антибиотической активности культуральных сред и активности выделяемых антибиотиков: *Escherichia coli* М-17, *Bacillus subtilis* 91, *Staphylococcus aureus* 208 (штаммы использовались в ранее проведённых исследованиях) [9, 10].

Для выращивания стрептомицетов использовали овсяный агар (ISP-3) следующего состава (%): овсяной муки (или хлопьев) — 2,0; агара — 2,5; $FeSO_4$ — 0,01; $MnCl_2$ — 0,01; $ZnSO_4$ — 0,01; водопроводной воды до 100 (для приготовления среды овсяную муку (хлопья) варили в 1 литре воды, фильтровали и доводили объём до 1 дм³) [12]. Для глубинного выращивания стрептомицетов использовали жидкую питательную среду с соевой мукой следующего состава (%): крахмала — 3,0; соевой муки — 3,0; $(NH_4)_2C_4H_4O_6$ — 0,5; $(NH_4)_2SO_4$ — 0,4; $CaCO_3$ — 0,8; K_2HPO_4 — 0,02; глюкозы — 1,5 (вводится в стерильную питательную среду); воды водопроводной до 100 [10, 13, 14]. Для выращивания бактериальных тест-культур использовали плотную питательную среду на основе кислотного гидролизата казеина (КГК, производства ФГУП НПО «Питательные среды», Махачкала), имеющую в своём составе (%): KH_2PO_4 — 0,22; K_2HPO_4 — 0,17; $MgSO_4$ — 0,6; $Na_2S_2O_3$ — 0,6; аминного азота — 130 мг%; агара — 2,0; воды до 100 [12, 13].

Культивирование осуществляли при температуре 27–29°С в биологических реакторах БИОР (Йошкар-Ола) или BIOSTAT[®]plus фирмы Sartorius (Германия) в режиме постоянного перемешивания и принудительной аэрации (расход воздуха: 0,8 объёма воздуха на объём среды в минуту). В первую фазу развития культуры (в тропофазу) pH среды поддерживалось в диапазоне 7,0–7,2, во второй фазе (идиофазе) — 7,5–8,4.

В качестве посевного материала использовали культуры, выросшие на плотной среде ISP-3, которые смывали физиологическим раствором и засеивали в жидкую среду до исходной концентрации $1,0 \cdot 10^7$ спор/см³.

Через каждые 24 ч культивирования отбирали пробы по 15 см³, в которых оценивали чистоту культуры и её морфологическую типичность путём микроскопии мазков, а также накопление биомассы и концентрацию антибиотиков. Прирост биомассы определяли гравиметрическим методом с использованием бумажных фильтров, доведённых до постоянной массы. Фильтры с биомассой высушивали при 105° в течение 2 ч.

Антибиотическую активность определяли методом диффузии в агар (дисков) при использовании культур бактериальных тест-штаммов; в качестве положительного контроля применяли растворы коммерческих препаратов стрептомицина и даунорубина. Выращивание тест-культур проводили на плотной среде на основе КГК при (28–30)° в течение 2 сут.

При оценке концентрации даунорубина, продуцируемого стрептомицетами, проводили гидролиз по следующей методике. В аликвоту культуры вводили 10% раствор трилона Б (0,05% по сухой массе) и выдерживали в течение 30 мин. После этого pH пробы доводили до 3,0±0,2 с помощью 10% раствора шавелевой кислоты, смесь нагревали до (87–89)°, выдерживали при данной температуре 45 мин и быстро охлаждали до 4–10°С. На следующем этапе в пробу вводили NaCl в количестве 5 мг/мл и pH доводили до 5,5 10% раствором NaOH с целью высаливания белка. При оценке концентрации стрептомицина в культуральной жидкости использовали сорбционный метод с использованием карбоксильных катионитов (ионообменных смол). Содержание антибиотиков в осветлённой центрифугированной культуральной жидкости определяли методом газожидкостной хроматографии на хроматографе Shimadzu — QP 2010 с масс-селективным детектором (химическая ионизация) с использованием в качестве контроля растворов коммерческих препаратов стрептомицина производства СИНТЕЗ ОАО (Россия) и даунорубина производства Лэнс-Фарм (Россия).

Антибиотическую продуктивность, выражаемую в мг/мл/ч, вычисляли по модифицированной формуле [1]:

$$\text{Антибиотическая продуктивность} = \frac{(A_{t_2} - A_{t_1}) \cdot 100}{(M_{t_1} + \frac{M_{t_2} - M_{t_1}}{2}) \cdot (t_2 - t_1)}$$

где A_{t_1} и A_{t_2} — количество антибиотика, определённое в пробах, отобранных во время t_1 и t_2 , мкг/см³; M_{t_1} и M_{t_2} — количество биомассы, образовавшейся ко времени t_1 и t_2 , мг%; t_1 и t_2 — время взятия проб, ч.

Статистическую обработку исследований проводили с использованием компьютерных программ Statgraf и Microsoft Excel, средние арифметические значения, доверительные интервалы и стандартное отклонение рассчитывались при числе повторов не менее 7. Достоверность различий между средними величинами оценивали с использованием t-критерия Стьюдента ($p < 0,05$).

Результаты и обсуждение

Использованные в качестве антибиотикопро- дукторов штаммы стрептомицетов *S.griseus* 1723 (продуцент стрептомицина) и *S.purpureogeniscleroticus* ВБМ 158 (продуцент даунорубицина) при выращивании на плотной и в жидких средах обладали типичными видовыми культурально-мор- фологическими свойствами. При глубинном культивировании в реакторах БИОР и БИО- STAT®plus в жидкой питательной среде с соевой мукой независимо от типа реактора наблюдалась однотипная для каждого штамма интенсивность образования биомассы и антибиотиков, поэтому мы сочли возможным объединить результаты, полученные при культивировании в обоих типах аппаратов. В то же время по уровням продукции биомассы и антибиотиков штаммы существенно отличались между собой (рис. 1, 2).

При стандартных условиях выращивания культур обоих штаммов антибиотикопро- дукторов отмечалась более высокая интенсивность роста культуры *S.griseus* 1723, что проявлялось более быстрым повышением концентрации би- омассы и достижением более высоких её абсо- лютных значений в культуральной среде. Мак- симальные выходы биомассы стрептомицетов *S.griseus* 1723 наблюдались на 120 ч роста и со- ставляли в среднем 710 мг%, в то время как максимумы выходов биомассы *S.purpureogeniscleroticus* ВБМ 158 наблюдались только на 144 ч роста и составляли в среднем только 210 мг% (см. рис. 1, 2).

При внесении в среду культивирования перф- тордекалина отмечалось ускорение роста культур обоих штаммов и увеличение выхода биомассы. Уже через 72 ч роста концентрация биомассы стрептомицетов *S.griseus* 1723 в культуральной среде достигала максимума и составляла в сред- нем 830 мг%, превышая содержание биомассы на этот час в контролях (среда без перфтордекалина) в 2,4 раза и в 1,2 раза максимальный выход био- массы продуцента стрептомицина в контрольных экспериментах, достигнутый только на 120 час роста (см. рис. 1). Аналогичные результаты на- блюдалось при сравнительном выращивании в контрольной и опытной средах культуры *S.pur- pureogeniscleroticus* ВБМ 158. Через 144 ч роста в присутствии перфтордекалина концентрация би-

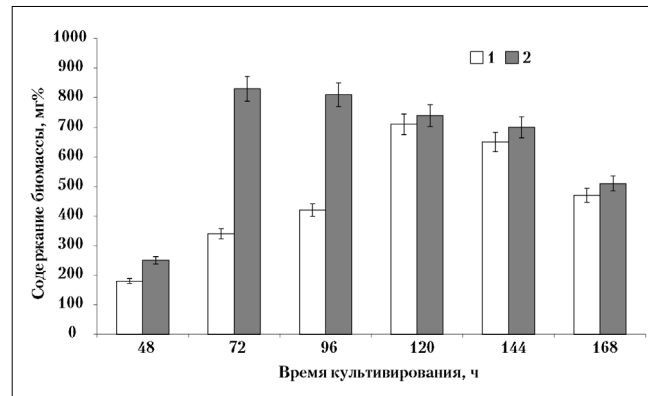


Рис. 1. Динамика образования биомассы *S.griseus* 1723 при росте в среде на основе соевой муки: 1 — без перфтордекалина; 2 — с добавлением перфтордекалина.

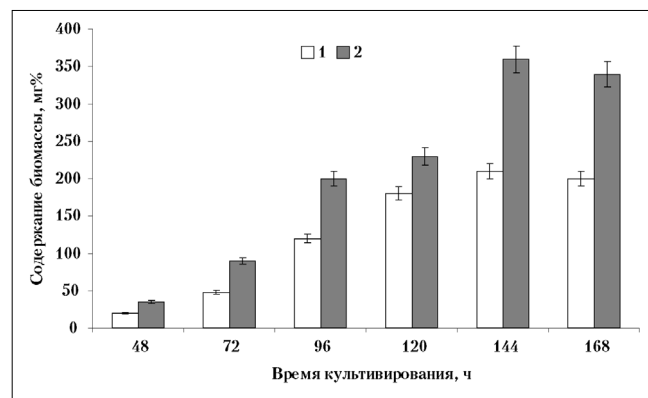


Рис. 2. Динамика образования биомассы *S.purpureogeniscleroticus* ВБМ 158 при росте в среде на основе соевой муки: 1 — без перфтордекалина; 2 — с добав- лением перфтордекалина.

омассы *S.purpureogeniscleroticus* ВБМ 158 в культу- ральной среде достигала максимума и составляла в среднем 360 мг%, превышая содержание био- массы на этот час в контроле в 1,7 раза (см. рис. 2).

Особый интерес представляют результаты оценки влияния перфтордекалина при аппарат- ном культивировании на продукцию стрептоми- цетами стрептомицина и даунорубицина. При изучении образования антибиотиков мы не ста- вили целью исследовать влияние различных фак- торов среды на их биосинтез. При прочих равных условиях единственным отличием условий выра- щивания антибиотикопро- дукторов было нали- чие или отсутствие в жидкой среде перфтордека- лина, обеспечившего существенное повышение интенсивности роста культур обоих штаммов стрептомицетов. При выращивании культуры стрептомицетов *S.griseus* 1723 стрептомицин в культуральной среде выявлялся в минимальных количествах (в среднем 30 мкг/см³) начиная с 72 часа роста, достигая максимума на 144 ч (в сред- нем 330 мкг/см³) (рис. 3).

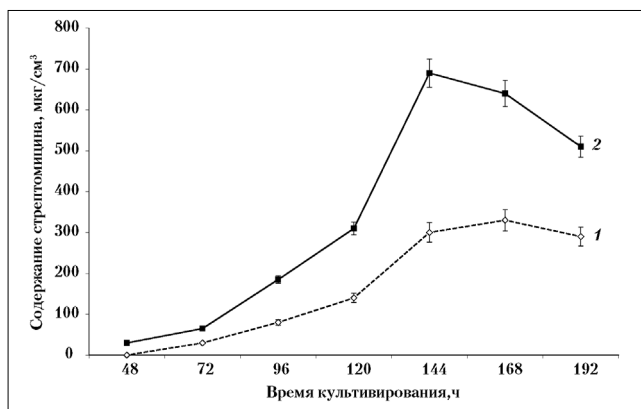


Рис. 3. Динамика концентрации стрептомицина в культуральной среде при росте глубинной культуры *S.griseus* 1723: 1 — без перфтордекалина; 2 — с добавлением перфтордекалина.

В аппаратных культурах с перфтордекалином стрептомицин выявлялся уже на 48 ч роста, а на 72 ч роста концентрация стрептомицина превышала аналогичные показатели контрольной культуры в 2,2 раза, на 144 ч среднее содержание антибиотика в среде достигало 690 мкг/см³, что превышало контрольный показатель на этот час в 2,3 раза.

В контрольной среде роста культуры стрептомицетов *S.purpurogeniscleroticus* ВБМ 158 даунорубицин в культуральной среде начинал выявляться в минимальных количествах (в среднем 10 мкг/см³) начиная с 72 часа роста, достигая максимума на 144 ч (в среднем 60 мкг/см³) (рис. 4).

В аппаратных культурах с перфтордекалином на 120 ч роста концентрация даунорубицина превышала аналогичные показатели для контрольной культуры в 2 раза.

Известно, что увеличение интенсивности прироста биомассы и выхода антибиотика не всегда сопровождается повышением антибиотической продуктивности культур актиномицетов. Наблюдаются случаи, когда увеличение выхода антибиотика связано только с простым увеличением количества образовавшейся биомассы. Поэтому при изучении процесса продукции антибиотиков наряду с уровнем выхода целевого продукта, важным фактором, характеризующим процесс биосинтеза, является определение антибиотической продуктивности микробной культуры, которое представляет количество антибиотика в мкг, образованного 1 мг сухих клеток исследуемого микроорганизма за определённый промежуток времени [1]. Результаты оценки антибиотической продуктивности стрептомицетов в период максимумов продукции антибиотиков представлены на рис. 5.

Сравнивая характеристики накопления биомассы и биосинтеза антибиотиков можно отметить, что продуктивность мицелия *S.griseus* 1723 в

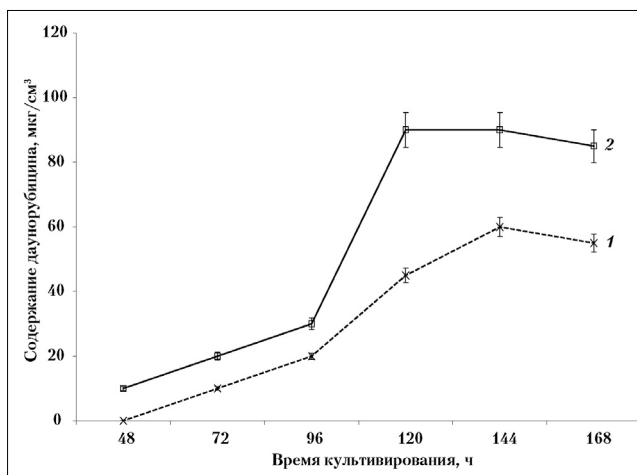


Рис. 4. Динамика концентрации даунорубицина в культуральной среде при росте глубинной культуры *S.purpurogeniscleroticus* ВБМ 158: 1 — без перфтордекалина; 2 — с добавлением перфтордекалина.

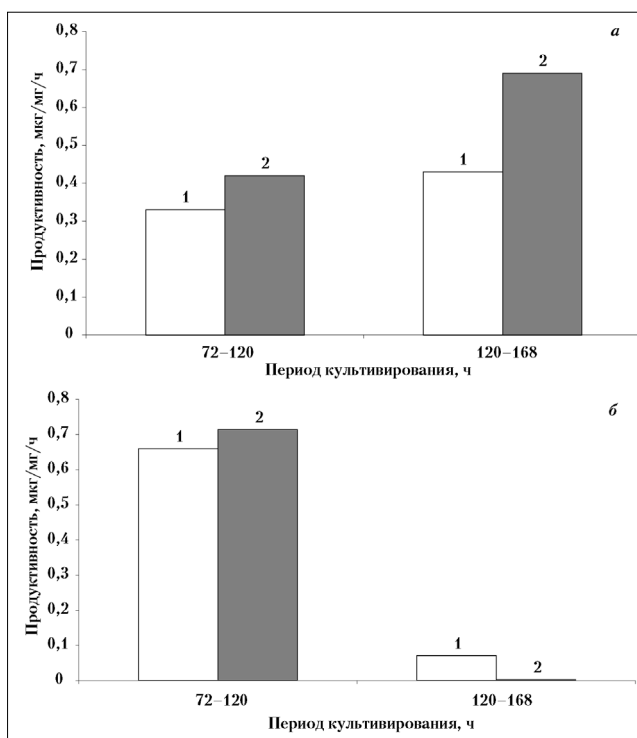


Рис. 5. Антибиотическая продуктивность глубинных культур: а — *S.griseus* 1723; б — *S.purpurogeniscleroticus* ВБМ 158 при росте в среде на основе соевой муки (1 — без перфтордекалина; 2 — с добавлением перфтордекалина).

контрольной культуре в периоды с 72 ч по 120 ч и с 120 ч по 168 ч составляла соответственно 0,33 и 0,42 мкг/мг/ч, в то время как в присутствии перфтордекалина уровень продуктивности продуцента стрептомицина был на протяжении двух сравниваемых периодов биосинтеза антибиотика был выше в 1,3 и 1,6 раза (0,43 и 0,69 мкг/мг/ч)

соответственно (рис. 5, а). Полученные данные свидетельствуют, что внесение в среду перфтордекалина способствует возрастанию интенсивности процесса биосинтеза биомассы, антибиотика и росту антибиотической продуктивности стрептомицета. Менее выраженная разница по антибиотической продуктивности в опытных и контрольных культурах наблюдалась при сравнении характеристик накопления биомассы и биосинтеза антибиотика культурой *S.purpurogeniscleroticus* ВБМ 158 в периоды с 72 ч по 120 ч, но и в этот период продуктивность стрептомицета в присутствии перфтордекалина была выше (0,66 и 0,71 мкг/мг/ч, рис. 5, б). В следующий период (с 120 ч по 168 ч) антибиотическая продуктивность в обоих случаях резко снизилась — 0,07 и 0 мкг/мг/ч соответственно, что свидетельствует о более быстром истощении мицелия продуцента и, возможно, о разрушении антибиотика самим продуцентом, что происходило более интенсивно в присутствии перфторорганического соединения.

Оценка антимикробной активности культуральных сред, а также стрептомицина и даунорубицина, выделенных из культуральных сред, методом серийных разведений на плотной питательной среде по подавлению роста тест-культур бактерий в сравнении с коммерческими препаратами показала полное соответствие данных этого анализа результатам определения концентрации антибиотиков методом газожидкостной хроматографии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках. М.: 2004; 528.
2. Васильев Н.Т., Пименов Е.В., Калининский В.Б., Бакулин М.К. Вклад военных медиков в разработку технологий промышленного производства первых отечественных антибиотиков. Антибиотики и химиотер 1996; 41: 4: 3—6.
3. Шлегель Г.Г. История микробиологии: Пер. с нем. М.: 2006; 229.
4. Егоров Н.С. Промышленная микробиология. М.: 1989; 688.
5. Воронин Е.С. Биотехнология. СПб.: 2005; 792.
6. Пастернак Дж., Глик Б. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. М.: 2002; 263—264.
7. Иваницкий Г.Р. Наноконтейнеры на основе перфторуглеродов с функцией переноса оксида азота. Биофизика 2008; 2: 367—377.
8. Иваницкий Г.Р. Биофизика на пороге нового тысячелетия: перфторуглеродные среды и газотранспортные кровезаменители. Биофизика 2001; 1: 5—33.

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют о несомненной перспективности исследований по использованию перфтордекалина при глубинном культивировании антибиотикопродуцентов рода *Streptomyces* в связи с положительным влиянием этого ПФОС на процессы интенсификации роста биомассы и антибиотической продуктивности исследуемых культур.

Исходя из того, что культуры использованных штаммов стрептомицетов являются признанными аэробами, поглощающими значительное количество кислорода в период образования биомассы и начальный период образования антибиотиков, можно предположить, что перфтордекалин, признанный по совокупности своих прикладных свойств наиболее перспективным ПФОС с газотранспортной функцией, включённым в состав перфторана, в глубинных культурах выполняет функции аналогичные обеспечиваемым им в крови организма человека: растворение кислорода, осуществление транспорта к клеткам наряду с кислородом компонентов культуральной среды, выполняющих роль сигнальных молекул и регуляторов метаболизма, модификацию клеточных мембран, оптимизацию условий питания и удаления метаболитов, что подтверждают результаты проведённых экспериментов [7, 8].

9. Бакулин М.К., Кучеренко А.С., Бакулина Л.В., Шведов В.В. Влияние перфторорганических соединений на рост стрептомицетов и биосинтез ими антибиотика даунорубицина. Антибиотики и химиотер 2003; 48:12: 5—8.
10. Бакулин М.К., Грудцына А.С., Плетнева А.Ю., Кучеренко А.С., Бакулина Л.В., Шведов В.В. Характеристика антибиотической продуктивности бактерий рода *Streptomyces* при культивировании в среде с добавлением карбогала и перфторметилдекалина. Биотехнология 2006; 5: 39—44.
11. Бакулин В.М., Мартинсон Е.А., Бакулин М.К., Тихонов И.В. Влияние перфтордекалина на рост и антибиотическую активность культур *Streptomyces albus* и *S.rimosus* в жидкой среде. Ветеринар мед 2012; 3—4: 15—17.
12. Нетрусов А.И. Практикум по микробиологии. М.: 2005; 608 с.
13. Равилов А.З., Гильмутдинов Р.Я., Хусаинов М.Ш. Микробиологические среды. Казань: 1999; 398.
14. Семенов С.М. Лабораторные среды для актиномицетов и грибов. М.: 1990; 240.

Мониторинг и профиль антибиотикорезистентности микробиоты трахеального аспирата у детей с тяжёлой черепно-мозговой травмой в отделении реанимации и интенсивной терапии

А. В. ЛАЗАРЕВА^{1,2}, Л. К. КАТОСОВА^{1,2}, О. А. КРЫЖАНОВСКАЯ¹, О. А. ПОНОМАРЕНКО¹,
О. В. КАРАСЕВА², А. Л. ГОРЕЛИК², Н. А. МАЯНСКИЙ¹

¹ Научный центр здоровья детей РАМН, Москва

² НИИ неотложной детской хирургии и травматологии, Москва

Monitoring and Antibiotic Resistance Profile of Tracheal Aspirate Microbiota in ICU Children with Severe Craniocerebral Trauma

A. V. LAZAREVA, L. K. KATOSOVA, O. A. KRYZHANOVSKAYA, O. A. PONOMARENKO,
O. V. KARASEVA, A. L. GORELIK, N. A. MAYANSKIY

Scientific Centre for Children's Health, Moscow

Research Institute for Urgent Pediatric Surgery and Traumatology, Moscow

Нозокомиальные инфекции и проблема рациональной антимикробной терапии инфекционных осложнений приобрели особую значимость и актуальность в современной медицине. Среди возбудителей госпитальных инфекций наибольшее значение имеют грамотрицательные микроорганизмы: *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* и представители семейства Enterobacteriaceae, характеризующиеся высоким уровнем приобретённой резистентности. С целью изучения динамики колонизации внутрибольничными микроорганизмами слизистых оболочек верхних дыхательных путей у 69 детей с тяжёлой черепно-мозговой травмой, находившихся в ОРИТ на ИВЛ, 3-кратно исследовали трахеальный аспират. Колонизация слизистых оболочек верхних дыхательных путей происходила после 4 дня госпитализации. Наиболее часто выделялись *K.pneumoniae* (45%) и *A.baumannii* (27—37%). Заселение *P.aeruginosa* наступало после 8 суток пребывания в ОРИТ, эта бактерия присутствовала у 33% пациентов. Уровень резистентности к меропенему у *P.aeruginosa*, *A.baumannii* и *K.pneumoniae* достигал 61, 78 и 25% соответственно. Тип карбапенемазы исследовали у 65 изолятов, резистентных к карбапенемам. У 11 из 14 (78%) штаммов *K.pneumoniae* выявлена карбапенемаза OXA-48. Среди *A.baumannii* доминировала карбапенемаза OXA-40 (30/31, 97%), у 1 штамма обнаружена карбапенемаза OXA-23 (1/31, 3%). Основным механизмом, определяющим резистентность *P.aeruginosa* к карбапенемам, стала продукция металло-бета-лактамаз, причём у 60% (12/20) штаммов присутствовал ген, кодирующий VIM-2. Таким образом, грамотрицательная внутрибольничная микрофлора быстро колонизирует поступающих в ОРИТ пациентов и отличается высокой резистентностью к основным антибактериальным препаратам, в том числе карбапенемам.

Ключевые слова: нозокомиальная микробиота, карбапенемазы, ОРИТ, дети.

Nosocomial infections and their rational antibiotic treatment represent a major challenge for the healthcare nowadays. In this context, gramnegative bacteria including *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* and Enterobacteriaceae spp. are etiologicaly important and characterized by a significant level of antibiotic resistance. To examine dynamics of the respiratory tract colonization by hospital flora, tracheal aspirates obtained at three time points from 69 children with severe craniocerebral trauma during their stay in ICU were analysed. Colonization was observed on the 4th day of the ICU stay with predomination of *K.pneumoniae* (45%) and *A.baumannii* (27—37%). *P.aeruginosa* was detected after the 8th day of the ICU stay with the isolation rate of 33%. Substantial proportions of *P.aeruginosa* (61%), *A.baumannii* (78%) and *K.pneumoniae* (25%) were resistant to carbapenems. In 65 carbapenem resistant isolates, the presence of carbapenemases was examined using PCRs. OXA-48 carbapenemase was detected in 11 out of 14 (78%) *K.pneumoniae* isolates. Among the *A.baumannii* isolates, 30/31 (97%) carried OXA-40 and 1/31 (3%) had OXA-23 carbapenemases. None of the examined *A.baumannii* and *K.pneumoniae* isolates produced metallo-betalactamases (MBL). In contrast, all 20 carbapenem resistant *P.aeruginosa* isolates produced a MBL, and in 12 out of 20 (60%) of them VIM-2 was detected. Thus, gramnegative nosocomial microflora rapidly colonizes ICU patients and has a high level of resistance to antibiotics, including carbapenems.

Key words: nosocomial microbiota, intensive care unit, antibiotic resistance, carbapenemases, children.

Госпитальные (нозокомиальные) инфекции и проблема рациональной антимикробной терапии инфекционных осложнений приобрели особую

значимость и актуальность в современной медицине. Около 20% всех нозокомиальных инфекций (НИ) приходится на долю пациентов, находящихся в отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ). По данным классического исследования EPIC, в котором принимали участие почти 1500 ОРИТ 17 европейских

© Коллектив авторов, 2014

Адрес для корреспонденции: 119991, Россия, г. Москва, Ломоносовский проспект, 2. НЦЗД РАМН

стран, более 40% пациентов этих отделений имеют признаки инфекции, причём у половины из них они возникли уже в ходе их пребывания в ОРИТ, т. е. имели нозокомиальное происхождение [1–4]. Эти осложнения развиваются в период пребывания больного в лечебном учреждении и являются причиной высокой летальности. Сложность проблемы усугубляется тем, что этиологические агенты госпитальных инфекций и их чувствительность к антибактериальным препаратам значительно варьируют в зависимости не только от региона, но и конкретного стационара и периода исследования.

Среди возбудителей госпитальных инфекций наибольшее значение имеют грамотрицательные микроорганизмы из группы неферментирующих бактерий (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*) и представители семейства Enterobacteriaceae. Больные с черепно-мозговой травмой (ЧМТ), находящиеся на искусственной вентиляции легких (ИВЛ), являются группой повышенного риска по развитию госпитальных инфекций. Наиболее часто этиологическими агентами внутрибольничных пневмоний у детей с ЧМТ в ОРИТ является микробиота, колонизирующая слизистые оболочки верхних дыхательных путей.

По данным исследования «РЕВАНШ», проводимом НИИАХ ГОУ ВПО СГМА Росздрава и НЦФМАР, наиболее часто НИ в российских отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) вызывают представители семейства Enterobacteriaceae (34,5%), *P. aeruginosa* (27,3%), *Staphylococcus aureus* (18,8%) и *Acinetobacter* spp. (10,4%) [5]. Энтерококки были выделены у 5,7% пациентов, на долю других возбудителей пришлось 3,4%. Полученные данные совпадают с зарубежными данными, но в российских стационарах преобладают грамотрицательные возбудители, они вызывают около 75% НИ. По результатам зарубежных исследований, на долю грамотрицательных бактерий приходится около 60% всех НИ, грамположительных — 30–35% и грибов — 5–10% [2, 3, 6–9, 10].

Основные проблемы резистентности нозокомиальных штаммов энтеробактерий связаны с выработкой бета-лактамазы расширенного спектра (БЛРС) — это ферменты, способные разрушать различные беталактамы антибиотиков. Описано более 350 различных бета-лактамаз, некоторые из них способны разрушать цефалоспорины (ЦП) широкого спектра, что обуславливает резистентность к ЦП I–IV поколений и азтреонаму [5]. Доказано, что выработка БЛРС приводит к ухудшению исхода инфекции: повышению летальности, длительности госпитализации и стоимости лечения [11]. Уже при проведении первого исследования NPRS в 1995–96 гг. [11, 12] было обнаружено, что около 30% штаммов *Klebsiella pneumoniae* в российских ОРИТ выраба-

тывали БЛРС [5, 13]. Преодолеть указанный механизм резистентности удастся только путём применения карбапенемных (КП) антибиотиков. Однако, широкое применение КП, привело к распространению приобретённой устойчивости к данной группе препаратов [14].

Наиболее распространёнными и клинически значимыми в настоящее время являются карбапенемазы двух групп: сериновые и металло-бета-лактамазы (МБЛ) [15, 16]. Другим распространённым типом карбапенемаз являются КРС (*Klebsiella Pneumoniae Carbapenemase*), активные в отношении пенициллинов, цефалоспоринов, карбапенемов и азтреонама. Кроме *K. pneumoniae*, ферменты этого типа были обнаружены и у других энтеробактерий, а также у *P. aeruginosa* [17–19]. МБЛ гидролизуют не только КП, но и другие беталактамы антибиотиков, включая пенициллины и ЦП, но не активны в отношении монобактамов (азтреонама). МБЛ не чувствительны к ингибиторам сериновых бета-лактамаз (клавуланат, сульбактам, тазобактам) [20]. Наиболее часто приобретённые МБЛ выявляются у *P. aeruginosa*. В настоящее время существует не менее девяти различных типов приобретённых металло-бета-лактамаз, наиболее важными по распространённости и клинической значимости являются МБЛ типов IMP, VIM, NDM [21].

ОХА-карбапенемазы являются β -лактамазами класса D, наиболее важным свойством которых является активность в отношении КП.

Таким образом, карбапенемазы представляют большую угрозу, так как обладают высокой каталитической активностью и широким спектром субстратной специфичности, включающём практически все классы β -лактамов антибиотиков. В результате приобретения генов карбапенемаз нередко формируются отдельные эпидемиологически значимые клоны поли- и панрезистентных микроорганизмов, способны вызывать тяжёлые инфекции и быстро распространяться. Определение этих механизмов резистентности необходимо для назначения адекватной терапии и для эпидемиологического контроля распространения резистентных штаммов и разработки мероприятий инфекционного контроля [21].

Целью работы было определение уровня и механизмов антибиотикорезистентности у представителей внутрибольничной микробиоты трахеального аспирата при ТЧМТ у детей, находящихся на ИВЛ.

Материал и методы

За период 2010–2013 гг. было исследовано 189 проб трахеального аспирата от 69 детей с ЧМТ, находящихся на ИВЛ в ОРИТ. Исследования проводили в 3 периода пребывания ребенка в ОРИТ: I период включал 1–3 сутки после поступления в ОРИТ, II — 4–7 сутки, III — ≥ 8 суток. Идентификация микроорганизмов выполнена на анализаторах Vitek 2 Compact

(BioMerieux, Франция) и MALDI-TOF (Microflex, Bruker Daltonics, Германия). Чувствительность к антибиотикам у выделенных микроорганизмов определяли на анализаторе Vitek 2 Compact и диско-диффузионным методом на среде Мюллера-Хинтона. МПК меропенема и имипенема определяли с помощью Е-тестов (BioMerieux). Результаты интерпретировали согласно стандартам МУК 4.2 1890-04, а также по критериям EUCAST 2014 [www.eucast.org]. Металло-бета-лактамазу (МБЛ) выявляли методом «двойных дисков», наличие карбапенемаз у штаммов *K.pneumoniae* — модифицированным тестом Ходжа. Выявление генов, кодирующих продукцию карбапенемаз, проводили методом ПЦР-РВ на амплификаторе CFX 1000 (Bio-Rad, США) с использованием тест-наборов «АмплиСенс MDR MBL-FL» (VIM, IMP, NDM), «АмплиСенс® MDR KPC/OXA-48-FL» и «АмплиСенс MDR Ab-OXA-FL» (OXA-23, OXA-40, OXA-58) ЦНИИЭ Роспотребнадзора.

Для определения вида карбапенемазы в период 2012—2013 г. было изучено 65 штаммов грамотрицательных микроорганизмов, резистентных к карбапенемам (20 штаммов *P.aeruginosa*, 14 штаммов *K.pneumoniae* и 31 штамм *A.baumannii*), выделенных из трахеального аспирата (41 штамм), люмбального ликвора (8 штаммов), крови (3 штамма) и других локусов от детей в ОРИТ. Статистический анализ достоверности различий между выборочными относительными величинами проводили по критерию Стьюдента [22].

Результаты исследования

Для анализа динамики микробиоты, колонизирующей слизистые оболочки верхних дыхательных путей во время пребывания в ОРИТ, больные были разделены на 2 группы: 1-я — включала 11 первично госпитализированных детей, больные 2-й группы (58) поступили из других лечебных учреждений.

Состав микробиоты, выделенной из трахеального аспирата во все рассматриваемые периоды, включал 327 изолятов, относившихся к 27 видам микроорганизмов. С наибольшей частотой от пациентов, находившихся на ИВЛ, выделялись *K.pneumoniae* (34,6 и 31,9%), *A.baumannii* (15,4 и 30,7%), *P.aeruginosa* (9,1 и 11,2%) и *S.aureus* (26,9 и 17,2%) (соответственно указанным выше группам обследованных больных). Мониторинг микробиоты трахеального аспирата во время пребывания больного на ИВЛ в ОРИТ и анализ её антибиотикорезистентности проводился у представителей этой группы патогенов, учитывая высокую частоту их циркуляции в ОРИТ. Остальные виды микроорганизмов, выделенные из трахеального аспирата с частотой от 0,5 до 4,7%, в сумме составили соответственно 23,1 и 32,5%.

Анализ динамики колонизации слизистых оболочек верхних дыхательных путей микроорганизмами, проведённый отдельно по двум группам пациентов (табл. 1), показал, что в первые 3 дня от поступления в ОРИТ у детей 1-й группы (10 человек) из трахеального аспирата в совокупности было выделено всего 6 изолятов, включавших *K.pneumoniae* (2/10), *S.aureus* (1/10) и 3 изолята, относившихся к другим видам. Во II периоде (4—7 день) исследования в трахеальном аспирате пациентов этой группы появилась внутриболь-

Таблица 1. Частота выделения преобладающих видов микробиоты из трахеального аспирата в разные сроки пребывания пациентов в ОРИТ

Группа/Сроки пребывания в ОРИТ (дни)	Число пациентов	Роста нет	Микроорганизмы				Другие м/о n (%)	Всего изолятов	Число изолятов на 1 пациента
			<i>P.aeruginosa</i> n (%)	<i>K.pneumoniae</i> n (%)	<i>A.baumannii</i> n (%)	<i>V.serratia</i> n (%)	<i>S. aureus</i> n (%)		
I-я									
1–3	10	4/10	0	2 (20%)	0*	0	1/10	6	0,6
4–7	11	0	1 (9%)*	5 (45%)	3 (27%)*	0	5 (45%)	20	1,8
≥8	5	0	1/5	2/5	1/5	0	1/5	7	1,4
2-я									
1–3	54	15/54	5 (9%)*	14 (26%)	13 (24%)*	4 (7%)	10 (18%)	66	1,2
4–7	51	2/51	7 (14%)	17 (33%)	19 (37%)	5 (10%)	8 (16%)	92	1,8
≥8	58	3/58	19 (33%)*	21 (36%)	18 (31%)	11 (19%)	15 (25%)	135	2,3

Примечание. Группы сравнения: * — $p < 0,05$ — для 1-й группы в сроки 1–3 и 4–7 дней и между группами 1–2 в сроки 1–3 дня в отношении *A.baumannii*; ** — $p < 0,001$ — для 2-й группы в сроки 1–3 и ≥8 дней и между группой 1 (в сроки 4–7) и группой 2 (в сроки ≥8) в отношении *P.aeruginosa*.

Таблица 2. Чувствительность (Ч в %) к антибактериальным препаратам грамотрицательной флоры, выделенной из трахеального аспирата детей в ОРИТ (период 2010–2013 г.)

Препарат	<i>P.aeruginosa</i>		<i>A.baumannii</i>		<i>K.pneumoniae</i>	
	n	Ч	n	Ч	n	Ч
Меропенем	49	39,2	60	21,6	69	82,6
Имипенем	50	46,0	64	21,9	73	84,9
Эртапенем	—	—	—	—	33	66,7
Амоксициллин/клавуланат	—	—	—	—	59	15,3
Цефепим	45	67,3	52	9,6	70	2,9
Цефтазидим	50	62,0	59	3,4	68	4,4
Сульперазон	46	64,6	60	68,3	66	47,0
Гентамицин	39	35,9	51	11,8	70	31,4
Амикацин	49	39,2	48	12,5	63	58,7
Нетилмицин	47	48,9	51	19,6	61	39,3
Колистин	49	100	51	100	13**	53,8
Тикарциллин/клавуланат	43	39,5	49	6,1	—	—
Пиперациллин/тазобактам	41	63,4	48	4,2	—	—
Азтреонам	17*	100	13	0	36	2,8
Ципрофлоксацин	39	34,7	61	4,9	75	40,0
Фосфомицин	—	—	—	—	42	45,2
Ко-тримоксазол	—	—	—	—	61	39,3
Нитрофурантоин	—	—	—	—	57	10,5

Примечание. n — число изученных штаммов; * — согласно критериям EUCAST 2014 данные штаммы были отнесены к слабо чувствительным штаммам (клинические критерии); ** — исследования проводились только в 2013 г.

ничная микробиота, включавшая *A.baumannii* (27,3%, $p<0,05$) и *P.aeruginosa* (9,1%). В этот же период увеличилась до 45,4% частота выделения *K.pneumoniae* и *S.aureus*. В III периоде наблюдения (≥ 8 суток) появившиеся ранее микроорганизмы сохранялись.

У детей 2-й группы уже в I периоде исследования из трахеального аспирата выделялись внутрибольничные патогены с частотой: 25,0% — *K.pneumoniae*, 24,1% — *A.baumannii*, 7,4% — *Burkholderia cepacia*. *P.aeruginosa* в первые сроки поступления пациентов в ОРИТ встречался с низкой частотой (9,2%). Во II периоде наблюдения частота выделения *P.aeruginosa* от пациентов увеличилась до 13,7%, а в III периоде исследования этот патоген встречался у каждого 3-го больного (33,3%). Во II и III периодах в составе микробиоты появился *Stenotrophomonas maltophilia* (5,9 и 8,6% соответственно) и в 2 раза возросла частота выделения *B.cepacia* (9,8 и 19,0% соответственно). Если рассмотреть количество изолятов микроорганизмов, приходящихся на каждого пациента в разные сроки пребывания в ОРИТ, то заметно повышение числа микробных изолятов по мере пребывания больного в ОРИТ: с 0,6 до 1,8 и 1,4 у больных 1-й группы и с 1,2 до 1,8 и 2,3 у пациентов 2-й группы. Это указывает на то, что микробиота трахеального аспирата состояла из ассоциации патогенов, включавших более двух видов микроорганизмов.

Результаты определения чувствительности к антибиотикам у выделенных штаммов грамотрицательной флоры (табл. 2) выявили, что среди изолятов *P.aeruginosa* резистентность к меропенему охватывала 60,8% выделенных штаммов, к имипенему — 54%, к сульперазону — 35,4%, к

цефтазидиму — 38,0%, цефепиму — 32,7%. К пиперациллину/тазобактаму было чувствительно 63,4% штаммов, к колистину были чувствительны все штаммы.

Среди изолятов *A.baumannii* чувствительные к меропенему и имипенему составили только 21,6 и 21,9%, к сульперазону — 68,3%, лишь к колистину были чувствительны все штаммы.

У штаммов *K.pneumoniae* в 17,4 и 15,1% случаях выявлена резистентность к меропенему и имипенему, а 33,3% изолятов было устойчиво к эртапенему. Среди аминогликозидов наибольшую активность проявлял амикацин (58,1%), к другим препаратам данной группы было чувствительно только 1/3 изолятов.

Сравнительный анализ антибиотикоустойчивости штаммов *P.aeruginosa*, выделенных во 2-й периоде исследования (2010–2011 г. и 2012–2013 гг.), не выявил статистически достоверного увеличения резистентности к тестируемым препаратам. Относительно *A.baumannii* отмечено, что резистентность к меропенему и имипенему за сравниваемые периоды наблюдения возросла с 66,7 до 83,8% и с 66,7 до 85,0% (соответственно), но не достигала уровня статистической значимости ($p>0,05$). Следует отметить, что в последний период среди изолятов *A.baumannii* наблюдалось снижение устойчивости к сульперазону (с 47,8 до 21,6%, $p<0,05$).

Во же время относительно *K.pneumoniae* мы наблюдали в период 2012–2013 г. по сравнению с периодом 2010–2011 г. существенное возрастание устойчивости к карбапенемам: с 3,8 до 25,6%, $p<0,01$ — для меропенема, до 21,3%, $p<0,05$ — для имипенема и до 38,5%, $p<0,001$ — эртапенема (рисунок). В этот же период отмечено повышение резистентности

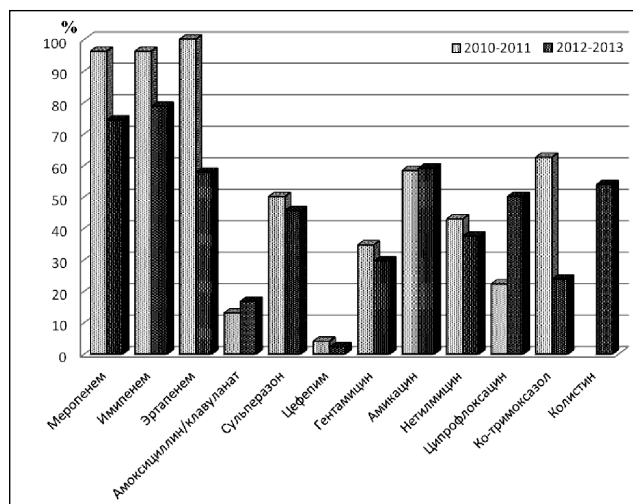
штаммов *K.pneumoniae* к ко-тримоксазолу с 37,5 до 75,7% ($p<0,01$). Отношение *K.pneumoniae* к сульперазону имело особенность, заключавшееся в переходе слабчувствительных (31,8%) штаммов, выявленных в период 2010—2011 г. в ранг резистентных в период 2012—2013 г., когда слабчувствительные изоляты составили всего 4,5%. Сходная ситуация происходила и с нитрофурантоином: повышение резистентности патогена к препарату зависело от уменьшения частоты выделения слабчувствительных изолятов (с 45,5 до 25,7%). Продукция БЛРС у штаммов *K.pneumoniae*, напротив, уменьшилась за сравниваемый период с 88,0% положительных штаммов до 68,9%, $p<0,05$.

Среди выделенных штаммов *S.aureus* 50,0% относилось к MRSA. Изоляты *S.aureus* сохраняли чувствительность к рифампицину (91,9%) и фузидину (97,3%). Ванкомицинорезистентных штаммов не выявлено.

С практической точки зрения важно отметить, что полученные данные по спектру устойчивости основных внутрибольничных патогенов к антибиотикам указывают на реальную ситуацию неэффективности использования карбапенемных препаратов при тяжёлых внутрибольничных инфекциях, поскольку уровень резистентности к ним у *P.aeruginosa* и *A.baumannii* достигает 61 и 78%.

Среди детерминант антибиотикорезистентности грамотрицательных бактерий к карбапенемам наиболее важными являются приобретённые карбапенемазы. На продукцию карбапенемаз было протестировано 65 изолятов грамотрицательных микроорганизмов, выделенных в 2012—2013 годах и отнесённых к категории слабчувствительных или резистентных.

Все 20 резистентных к карбапенемам штаммов *P.aeruginosa* были продуцентами МБЛ. Из них 12 (60%) изолятов вырабатывали карбапене-



Чувствительность (в %) к антибиотикам штаммов *K.pneumoniae*, выделенных из трахеального аспирата во 2-м периоде наблюдения.

мазы группы VIM, которая в дальнейшем, по результатам проводимого многоцентрового исследования «МЕТАЛЛ», отнесена к типу VIM-2.

Все исследованные карбапенеморезистентные штаммы *K.pneumoniae* (14) не имели МБЛ. Дальнейшее их изучение выявило у 11 (78,6%) из них наличие приобретённых карбапенемаз группы ОХА-48. Продуцирующих КРС-карбапенемазу среди изолятов *K.pneumoniae* не выявлено.

Результаты исследования 31 нозокомиального штамма *A.baumannii*, проявившего нечувствительность к карбапенемам, показали отсутствие среди них продуцентов МБЛ. У 30 (97%) штаммов *A.baumannii* обнаружен ген, кодирующий продукцию ОХА-40-подобных карбапенемаз, и у 1 (3%) штамма — продукцию ферментов группы ОХА-23.

Поскольку известно, что резистентные к карбапенемам микроорганизмы характеризуются ас-

Таблица 3. Чувствительность к антибиотикам изолятов *P.aeruginosa*, *K.pneumoniae* и *A.baumannii* с карбапенемазной активностью

Препарат	<i>P.aeruginosa</i>		<i>K.pneumoniae</i>		<i>A.baumannii</i>
	VIM2 (+) <i>n</i> =12%	VIM2 (-) <i>n</i> =8%	OXA-48 (+) <i>n</i> =11%	OXA-48 (-) <i>n</i> =3 абс	OXA-40 (+) <i>n</i> =30 OXA-23 (+) <i>n</i> =1%
Меропенем	0	0	0	0	0
Имипенем	11	13	0	0	0
Эртапенем	—	—	0	0	—
Цефоперазон/сульбактам	11	25	0	2/3	87
Цефтазидим	56	38	9	0	0
Цефепим	58	75	0	0	3*
Колистин	100	100	55	1/3	100
Гентамицин	11	0	45	0	6
Амикацин	11	0	36	1	3
Нетилмицин	33	25	64	0	3
Пиперацillin/тазобактам	83***	38	—	—	0
Азтреонам	100**	100**	0	0	—
Ципрофлоксацин	0	13	9	1/3	0

Примечание. * — один штамм относился к категории слабчувствительных; ** — согласно критериям EUCAST 2014 данные штаммы были отнесены к категории слабчувствительных (клинические критерии); *** — $p<0,05$.

социированной антибиотикорезистентностью, следующим этапом был анализ чувствительности к антибиотикам, относящихся к разным классам, у карбапенеморезистентных штаммов *P.aeruginosa*, *A.baumannii* и *K.pneumoniae* с разными типами приобретённых карбапенемаз.

Результаты сравнительного анализа чувствительности к антибиотикам внутрибольничных патогенов в зависимости от типа продуцируемой карбапенемазы представлены в табл. 3. Отнесение изолята *P.aeruginosa* к категории чувствительных или резистентных к карбапенемам проводилось согласно рекомендациям EUCAST 2014 [www.eucast.org]. В отношении изолятов *P.aeruginosa*, продуцирующих VIM-2-карбапенемазу, МПК меропенема и имипенема составляла >32 мкг/мл. VIM-2-продуцирующие изоляты *P.aeruginosa* сохраняли чувствительность к колистину (100%), пиперацилину/тазобактаму (83%) и реже — цефепиму (58%), но обладали высокой устойчивостью к сульперазону (89%), цiproфлоксацину (100%) и аминогликозидам: тобрамицину (100%), гентамицину (89%), амикацину (89%). К азтреонаму все штаммы *P.aeruginosa*, продуцирующие VIM-2 карбапенемазу, были отнесены к категории слабочувствительных (согласно критериям EUCAST 2014).

Для изолятов *P.aeruginosa*, не продуцирующих VIM-2-карбапенемазу, значения МПК меропенема и имипенема также превышали 32 мкг/мл, кроме штаммов: одного с МПК 12 мкг/мл меропенема и другого с МПК 8 мкг/мл имипенема. Эти изоляты (без VIM-2-карбапенемазы) также были чувствительны к колистину (100%) и цефепиму (75%), но по сравнению с изолятами *P.aeruginosa*, продуцирующими VIM-2-карбапенемазу, были менее чувствительны к пиперацилину/тазобактаму (38 против 83%, $p<0,05$). Все изоляты *P.aeruginosa* были нечувствительны к аминогликозидным препаратам, но к нетилмицину доля чувствительных изолятов в обеих сравниваемых группах достигало соответственно 33% и 25%.

Для большинства штаммов *K.pneumoniae*, продуцирующих ОХА-48, МПК меропенема и имипенема составляла >32 мкг/мл. Два изолята, для которых МПК меропенема составляла 12 мкг/мл и 6 мкг/мл, относились к категории слабочувствительных. Сходная ситуация сохранялась и в отношении имипенема: для 4 из 6 изолятов МПК препарата составила >32 мкг/мл, для 1 — МПК 12 мкг/мл. Лишь один штамм отнесён к категории слабочувствительных к имипенему (МПК 6 мкг/мл).

Среди ОХА-48-положительных штаммов *K.pneumoniae* наибольшая чувствительность отмечена к нетилмицину (64%) и колистину (55%). Все изоляты были устойчивы к цефепиму, амоксициллину/клавуланату, сульперазону, а к цефта-

зидиму и цiproфлоксацину — до 91%. По сравнению с ОХА-48-положительными изолятами, которые все были нечувствительны к сульперазону, 2 из трёх изолятов группы ОХА-48-отрицательных были чувствительны к сульперазону.

Изоляты *A.baumannii*, продуцирующие карбапенемазу ОХА-40 и ОХА-23, в 100% случаях были устойчивыми к цефтазидиму, пиперацилину/тазобактаму, тикарциллину/клавуланату, цiproфлоксацину. К цефепиму, амикацину и нетилмицину было резистентно 97% изолятов, к гентамицину — 93%. Чувствительны изоляты *A.baumannii* были лишь к колистину (100%) и сульперазону (87%).

Обсуждение результатов

Во время пребывания больных в ОРИТ уже на 4—7-й день отчётливо прослеживается заселение слизистых оболочек респираторного тракта первично поступивших в стационар больных внутрибольничными микроорганизмами. Колонизация слизистых оболочек дыхательных путей пациентов, находящихся на ИВЛ, происходит нозокомиальными патогенами, среди которых доминируют *K.pneumoniae* и *A.baumannii*, т.е. теми видами возбудителей внутрибольничных инфекций, которыми уже изначально были колонизированы пациенты 2-й группы в других лечебных учреждениях. В динамике наблюдения за пациентами 2-й группы не отмечено значимых изменений в частоте выделения этих двух патогенов из трахеального аспирата. Особенностью заселения верхних дыхательных путей *V.cepacia* является возрастание её роли у пациентов 2-й группы (с 7 до 19%) и отсутствие колонизации этим патогеном первично поступивших больных. В то же время заселение трахеального аспирата *P.aeruginosa* наступает позднее и не зависит от группы госпитализированных детей, что предполагает его локальное происхождение и циркуляцию патогена в исследованном стационаре.

Карбапенемы являются основной группой антибиотиков против внутрибольничных патогенов, но их эффективность резко падает в связи с ростом устойчивости к данной группе лекарственных препаратов. Видовой спектр карбапенемаз, продуцируемый нозокомиальными патогенами в исследованном стационаре, представлен несколькими типами карбапенемаз: для *P.aeruginosa* — VIM-2, для *K.pneumoniae* ферментами группы ОХА-48, для *A.baumannii* — ОХА-40 и в меньшей степени ОХА-23.

Только у всех изолятов *A.baumannii* был идентифицирован вид карбапенемазы, но их спектр не отличался разнообразием, поскольку 97% выявленных ферментов относилось к одному преобладающему типу ОХА-40-подобных. С каждым годом число карбапенемоустойчивых штаммов

A.baumannii увеличивается по всему миру [23]. Согласно зарубежному исследованию MYSTIC в 2006 г. в Европе число мультирезистентных штаммов выросло в 1,5 раза. Причинами такой резистентности являются изменение проницаемости наружной клеточной мембраны, продукция приобретенных карбапенемаз (МБЛ, ОХА), эффлюкс, или комбинация нескольких механизмов [23]. Наши результаты сопоставимы с данными зарубежных исследований, подтверждающими мультирезистентность изолятов *A.baumannii* — продуцентов ОХА-40 карбапенемазы. Из арсенала антибактериальных средств препаратом выбора для лечения внутрибольничных инфекций, вызванных мультирезистентными штаммами *A.baumannii*, в педиатрии остается колистин. Важно отметить, что в 78,4% случаев у этого микроорганизма еще сохранилась чувствительность к сульперазону. Данные многоцентровых исследований в России, таких как «РЕВАНШ» и «РЕЗОРТ», также показывают сохранение чувствительности к колистину и полимиксину и сульперазону [23].

Изоляты *P.aeruginosa* в 60% случаях были продуцентами VIM-2 карбапенемазы. Впервые карбапенеморезистентный штамм, несущий карбапенемазу типа VIM-2, был обнаружен во Франции в 1996 году [24]. Относительно распространения МБЛ в России, известно, по данным многоцентровых исследований «Металл» и «РЕЗОРТ» с 2002 по 2007 год, что штаммы *P.aeruginosa*, продуцирующие МБЛ, широко распространены по территории России. Результаты другого исследования, полученные из Казахстана, Беларуси и России, показали, что преобладающей карбапенемазой, определяющей резистентность штаммов *P.aeruginosa*, была VIM-2. Как показали динамические наблюдения в Европе и Средиземноморье, число штаммов *P.aeruginosa*, резистентных к карбапенемам, росло с каждым годом (от 5% в 2009 до 30% в 2011) [25], среди них изоляты, несущие карбапенемазу VIM-2, преобладают над другими типами МБЛ. В данном исследовании показана роль и других механизмов резистентности, таких как эффлюкс, снижение/потеря OprD и гиперэкспрессия AmpC. Эти данные указывают на то, что резистентность к карбапенемам определяется комбинацией механизмов, в том числе сочетанием продуцирования МБЛ с эффлюксом либо снижением/потерей OprD, либо гиперэкспрессией AmpC.

Результаты нашего исследования также демонстрируют преобладание карбапенемазы VIM-2 у изолятов *P.aeruginosa*, что подтверждает выявленную особенность повсеместного распространения данного типа карбапенемазы, которая распространяется и на наш стационар. При этом следует учитывать также факт, что контингент пациентов в большинстве случаев состоял из больных, переве-

дённых из разных стационаров Москвы и Московской области.

Результаты проведенного анализа чувствительности внутрибольничных патогенов с выявленным типом карбапенемазы к антибиотикам других классов определили некоторые возможности использования отдельных антибактериальных препаратов в клинической практике. При выборе антибиотика из узкого спектра эффективных препаратов для педиатрических пациентов приходится принимать во внимание и возрастные ограничения в применении отдельных групп антибактериальных средств (тигекцилина, фторхинолонов), что ещё более суживает их выбор. Так, для антибактериальной терапии инфекции, вызванной *P.aeruginosa* с карбапенемазой VIM-2, возможен выбор среди таких препаратов, как колистин, пиперацillin/тазобактам или азтреонам. В случаях инфекции, обусловленной *A.baumannii* с карбапенемазами ОХА-40-подобных и ОХА-23, выбор ограничивается 2 препаратами: колистином и сульперазоном. На сегодняшний день, согласно данным нашего исследования и литературным источникам [25], препаратом выбора для лечения ко-инфекции, вызванной карбапенеморезистентными штаммами *P.aeruginosa* и *A.baumannii*, является лишь колистин.

Еще хуже сложилась ситуация с карбапенеморезистентными изолятами *K.pneumoniae*, продуцирующими карбапенемазу ОХА-48 (78% штаммов), которые только в половине случаев были чувствительны к колистину и нетилмицину. Впервые *K.pneumoniae*, продуцирующая ОХА-48, была обнаружена в 2001 году в Турции. Чуть позже стали появляться данные о выявлении ОХА-48, образуемой карбапенеморезистентной *K.pneumoniae*, по всему миру [26]. Также имеются данные о преобладании мультирезистентных штаммов *K.pneumoniae*, продуцирующих ОХА-48, во Франции. Пациенты, находящиеся на лечении в ОРИТ, были инфицированы данным штаммом, вызвавшим у них внутрибольничную пневмонию и катетер-ассоциированную бактериемию [26]. Препаратами выбора в данном случае являлись амикацин и колистин. Согласно результатам нашего исследования, препаратами выбора для лечения внутрибольничных инфекций, вызванных *K.pneumoniae* продуцирующими ОХА-48-карбапенемазу, являются колистин и нетилмицин, но только при лабораторно подтвержденной чувствительности возбудителя к конкретному препарату.

Приведённые данные, демонстрирующие низкую чувствительность основных внутрибольничных патогенов к узкому набору антибактериальных препаратов, указывают на реальную невозможность использования эмпирической антибиотикотерапии в ОРИТ, и, следовательно, выбор антибактериального препарата при развитии

нозокомиальных инфекций для каждого пациента должен быть строго индивидуализирован согласно данным микробиологического исследования.

Таким образом, проблема антибиотикорезистентности занимает одну из лидирующих позиций в мировой медицине. Остро стоит вопрос о предотвращении распространения микробных патогенов, резистентных к карбапенемам, т.к. известно, что новых антибактериальных препаратов, способных справиться с инфекциями, вы-

званных такими штаммами, на сегодняшний день практически не существует. К тем препаратам, к которым на сегодняшний день ещё сохраняется чувствительность, в ближайшем будущем также может сформироваться антибиотикорезистентность.

Уведомление. «Исследование выполнено при поддержке Министерства образования и науки РФ (соглашение № 14.607.21.0064)»

ЛИТЕРАТУРА

- Шагинян И.А., Чернуха М.Ю. Неферментирующие грамотрицательные бактерии в этиологии внутрибольничных инфекций: клинические, микробиологические и эпидемиологические особенности. *Клин микробиол антимикроб химиотер* 2005; 7: 3: 271—285.
- Vincent J.L., Bihari D.J., Suter P.M., Bruining H.A., White J., Nicolas-Chanoine M.H., Wolff M., Spencer R.C., Hemmer M. The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe. Results of the European Prevalence of Infection in Intensive Care (EPIC) Study. EPIC International Advisory Committee. *JAMA* 1995; 274: 639—644.
- Weber D.J., Raasch R., Rutala W.A. Nosocomial infections in the ICU: the growing importance of antibiotic-resistant pathogens. *Chest* 1999; 115: 34—41.
- Alberti C., Brun-Buisson C., Burchardi H., Martin C., Goodman S., Artigas A., Sicignano A., Palazzo M., Moreno R., Boulmé R., Lepage E., Le Gall R. Epidemiology of sepsis and infection in ICU patients from an international multicentre cohort study. *Intensive Care Med* 2002; 28: 108—121.
- Козлов Р.С., Стецюк О.У., Андреева И.В. Современные тенденции антибиотикорезистентности возбудителей нозокомиальных инфекций в ОРИТ России: что нас ждет дальше? *Интенсив тер* 2007; 4: 4.
- Hartmann B., Junger A., Brammen D., Röhrig R., Klasen J., Quinzio L., Benson M., Hempelmann G. Antibiotic usage in an intensive care unit in a Danish university hospital. *J Antimicrob Chemother* 1993; 32: 633—642.
- Plowman R., Graves N., Griffin M.A., Roberts J.A., Swan A.V., Cookson B., Taylor L. The rate and cost of hospital-acquired infections occurring in patients admitted to selected specialists of a district general hospital in England and the national burden imposed. *J Hospital Infection* 2001; 47: 198—209.
- Richards M.J., Edwards J.R., Culver D.H., Gaynes R.P. Nosocomial infections in medical intensive care units in the United States. National Nosocomial Infections Surveillance System. *Crit Care Med* 1999; 27: 5: 887—892.
- Geffers C., Zuschneid I., Sohr D., et al. Microbiological isolates associated with nosocomial infections in intensive care units: data of 274 intensive care units participating in the German Nosocomial Infections Surveillance System (KISS). *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 2004; 39: 1: 15—19.
- Pfaller M.A., Jones R.N., Doern G.V. et al. Bacterial pathogens isolated from patients with bloodstream infection: frequencies of occurrence and antimicrobial susceptibility patterns from the SENTRY antimicrobial surveillance program (United States and Canada, 1997). *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42: 7: 1762—1770.
- Schwaber M.J., Carmeli Y. Mortality and delay in effective therapy associated with extended-spectrum beta-lactamase production in Enterobacteriaceae bacteraemia: a systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother* 2007; 60: 913—920.
- Семина Н.А., Страчунский Л.С., Козлов Р.С. и др. Состояние антибиотикорезистентности грамотрицательных возбудителей нозокомиальных инфекций в отделениях интенсивной терапии. Информационное письмо. Available from: www.antibiotic.ru/iac-mac/ru/pub/letters/argmnnoz/.
- Решедько Г.К., Рябкова Е.Л., Кречикова О.И., Сухорукова М.В., Шевченко О.В., Эйдельштейн М.В., Козлов Р.С., исследовательская группа РОСНЕТ. Антибиотикорезистентность грамотрицательных возбудителей нозокомиальных инфекций в отделениях реанимации и интенсивной терапии России. *Клин микробиол антимикроб химиотер* 2008; 10: 2: 163—179.
- Галкин Д.В. Карбапенемы через 20 лет после открытия: современные микробиологические и клинические аспекты. *Клин микробиол антимикроб химиотер* 2007; 9: 2: 133—152.
- Bush K., Jacoby G.A., Medeiros A. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39: 1211—1233.
- Queenan A.M., Bush K. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev* 2007; 20: 440—458.
- Walsh T.R. Clinically significant carbapenemases: an update. *Curr Opin Infect Dis* 2008; 21: 367—371.
- Pournaras S., Protonotariou E., Voulgari E., Kristo I., Dimitroulia E., Vitti D., Tsolidou M., Maniatis A.N., Tsakris A., Sofianou D. Clonal spread of KPC-2 carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* strains in Greece. *J Antimicrob Chemother* 2009; 64: 348—352.
- Woodford N., Zhang J., Warner M. et al. Arrival of *Klebsiella pneumoniae* producing KPC carbapenemase in the United Kingdom. *J Antimicrob Chemother* 2008; 62: 1261—1264.
- Gupta V. Metallo beta lactamases in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* species. *Expert Opin Invest Drugs* 2008; 17: 131—143.
- Тапальский Д.В., Осипов В.А., Жаворонок С.В. Карбапенемазы грамотрицательных бактерий: распространение и методы детекции. *Мед журн* 2012; 2: 10—15.
- Плохинский Н.А. Биометрия. М.: 1970; 367
- Мартинович А.А. Динамика антибиотикорезистентности и эпидемиология инфекций, вызванных *A.baumannii*, в России. *Клин микробиол антимикроб химиотер* 2010; 12: 2: 94—105.
- Woodford N., Turton J.F., Livermore D.M. Multiresistant gram-negative bacteria: the role of high-risk clones in the dissemination of antibiotic resistance. *FEMS Microbiol Rev* 2011; 35: 5: 736—755.
- Castanheira M., Deshpande L.A., Costello A., Davies T.A., Jones R.N. Epidemiology of carbapenem-non-susceptible *Pseudomonas aeruginosa* collected during 2009—11 in 14 European and Mediterranean countries. *J Antimicrob Chemother* 2014 March.
- Cuzon G., Ouanich J., Gondret R., Naas T., Nordmann P. Outbreak of OXA-48-positive carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates in France. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 5: 2420—2423.

Ренгалин — новый препарат для лечения кашля у детей. Промежуточные итоги многоцентрового сравнительного рандомизированного клинического исследования

Н. А. ГЕППЕ¹, Е. Г. КОНДЮРИНА², А. Н. ГАЛУСТЯН³, Т. Е. ПАК³, Н. Б. БАЛЬЦЕРОВИЧ⁴,
О. В. ЖИГЛИНСКАЯ⁵, А. В. КАМАЕВ⁶, С. Г. ЛАЗАРЕВА⁷, С. Л. ЛАЛЭКО⁸, И. М. МЕЛЬНИКОВА⁹,
Е. В. МИХАЙЛОВА¹⁰, О. А. ПЕРМИНОВА¹¹, А. У. САБИТОВ¹², Ю. М. СПИВАКОВСКИЙ¹⁰

¹ ГБОУ ВПО «Первый Московский Государственный Медицинский Университет им. И. М. Сеченова» МЗ РФ, Москва

² ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Новосибирск

³ ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» МЗ РФ, Санкт-Петербург

⁴ Санкт-Петербургское ГБУЗ «Детская городская поликлиника №45 Невского района», Санкт-Петербург

⁵ Санкт-Петербургское ГБУЗ «Городская поликлиника №44», Санкт-Петербург

⁶ ГБУЗ «Городская детская поликлиника №44», Санкт-Петербург

⁷ Общество с ограниченной ответственностью «Альянс Биомедики-Русская группа», Санкт-Петербург

⁸ ГБУЗ «Детская городская больница № 22», Санкт-Петербург

⁹ ГБОУ ВПО «Ярославская государственная медицинская академия» МЗ РФ на базе: МУЗ Клиническая больница №8, Ярославль

¹⁰ ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет им. В. И. Разумовского» МЗ РФ, Саратов

¹¹ МУЗ «Городская детская клиническая поликлиника №5», Пермь

¹² МУЗ «Детская городская больница №11», Екатеринбург

Rengalin, a Novel Drug for Treatment of Cough in Children. Intermediate Data on Multicentre, Comparative Randomized Clinical Trial

N. A. GEPPE¹, E. G. KONDYURINA², A. N. GALUSTYAN³, T. E. PAK³, N. B. BALTSEROVICH⁴,
O. V. ZHIGLINSKAYA⁵, A. V. KAMAEV⁶, S. G. LAZAREVA⁷, S. L. LALEKO⁸, I. M. MELNIKOVA⁹,
E. V. MIKHAIKOVA¹⁰, O. A. PERMINOVA¹¹, A. U. SABITOV¹², YU. M. SPIVAKOVSKY¹⁰

¹ I. M. Sechenov 1st Moscow State Medical University, Moscow

² Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk

³ St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg

⁴ Municipal Children Polyclinic No. 45, Neva Region, St. Petersburg

⁵ Municipal Polyclinic No. 44, Children Polyclinic Department No. 41, St. Petersburg

⁶ Municipal Children Polyclinic No. 44, St. Petersburg

⁷ Biomedical Russian Group Alliance, St. Petersburg

⁸ Municipal Children Hospital No. 22, St. Petersburg

⁹ Yaroslavl State Medical Academy, Yaroslavl

¹⁰ V. I. Razumovsky Saratov State Medical University, Saratov

¹¹ Municipal Children Clinical Polyclinic No. 5, Perm

¹² Municipal Children Hospital No. 11, Ekaterinburg

Жидкая лекарственная форма ренгалина — препарата на основе антител к брадикинину, гистамину и морфину — специально разработана для лечения кашля у детей. Комбинация трех компонентов проявляет терапевтическую активность в отношении и сухого, и влажного кашля за счёт влияния на различные патогенетические звенья кашлевого рефлекса. Многоцентровое сравнительное рандомизированное клиническое исследование проводилось с целью оценки эффективности и безопасности ренгалина в лечении кашля на фоне острой респираторной инфекции (ОРИ) верхних дыхательных путей. **Методы.** Обследовано 146 пациентов от 3 до 17 лет (средний возраст $8,2 \pm 3,6$ лет) из 14 исследовательских центров России, страдающих сухим/непродуктивным, частым, болезненным кашлем, нарушающим дневную активность и/или ночной сон (тяжесть кашля — ≥ 4 баллов по «Шкале тяжести кашля»; длительность — от 12 часов до 3 суток). В течение 3 дней пациенты 1 группы ($n=71$) получали ренгалин; 2 группы ($n=75$) — синекод® (бутамират); последующие 4 дня (при выделении вязкой мокроты) — амброксол в возрастной дозировке. Представлены результаты Per Protokol-анализа ($n=67$ — группа ренгалина; $n=73$ — группа синекода), который проводили с учётом дизайна «non-inferiority». **Результаты.** Через 3 дня процент пациентов 1 группы со значимым улучшением/выздоровлением по результатам дневных оценок составил 90%, ночных — 88% (против 81 и 88% соответственно во 2 группе), в том числе, полное отсутствие ночного кашля после 3 дней лечения ренгалином отмечено у 52% (против 34% больных группы синекода; $p=0,0003$). На 7 сутки в группе ренгалина доля детей со значимым улучшением/выздоровлением от дневного кашля была 99%, ночного — 93% (у 90% из них ночной кашель полностью отсутствовал; $p=0,0008$). В группе сравнения аналогичные показатели составили 93 и 90%; в том числе, полное излечение от

© Коллектив авторов, 2014

Адрес для корреспонденции: 113105 Москва, Нагатинская ул., д. 3а.
Редакция журнала

ночного кашля было у 81% пациентов. Сроки появления продуктивного/влажного кашля в обеих группах в течение 3-дневного курса были одинаковыми ($2,9 \pm 0,3$ в 1 группе и $2,9 \pm 0,4$ дня во 2 группе); при этом у 34% детей группы ренгалина сухой кашель перешел в «остаточный» (проявлялся в виде редких эпизодов покашливания с небольшим количеством отделяемого экссудата). Через 3 дня терапии ренгалином амброксол назначили 66% больным (против 95% в группе синекода; $p < 0,0001$ — по данным сравнительного анализа; $\chi^2 = 17,7$; $p < 0,0001$ — по данным частотного анализа). Общая продолжительность кашля в двух группах составила $6,5 \pm 0,8$ и $6,7 \pm 0,7$ дней соответственно (достоверная сопоставимость; $p = 0,0001$). Тяжесть дневного кашля по результатам «площади под кривой» за 7 суток лечения у детей группы ренгалина была $14,3 \pm 5,6$ (баллы $\times$ дни); группы синекода — $15,9 \pm 6,1$ (баллы $\times$ дни); тяжесть ночного кашля — $4,2 \pm 4,1$ и $4,2 \pm 2,7$ (баллы $\times$ дни) соответственно. У 2 (3%) пациентов после 3 дней приема синекода® были выявлены симптомы генерализации ОРИ ($p < 0,0001$). Сочетание анти- и протуссивной активности в одном препарате, по мнению врачей-исследователей (шкала CGI-EL), оказалось эффективным и полностью безопасным для детей. Терапевтическая эффективность у пациентов группы ренгалина была выше и через три ($2,1 \pm 0,5$ баллов), и через семь ($2,7 \pm 0,5$ баллов) дней; в группе синекода — $1,8 \pm 0,4$ и $2,5 \pm 0,6$ баллов соответственно (однофакторный дисперсионный анализ для повторных измерений ANOVA: фактор Визит — $F_{1/138} = 146$; $p < 0,0001$; фактор Препарат — $F_{1/138} = 9,0$; $p = 0,003$). Показатель побочных эффектов в группе ренгалина был нулевой (ни у одного пациента не было зарегистрировано нежелательных явлений, связанных с лечением); в группе синекода за 3 дня применения — $0,1 \pm 0,3$ (достоверное превосходство ренгалина по данным ANOVA: фактор Препарат — $F_{1/138} = 4,7$; $p = 0,03$). Индекс эффективности был также в пользу ренгалина (ANOVA: фактор Визит — $F_{1/138} = 182$; $p < 0,0001$; фактор Препарат — $F_{1/138} = 7,3$; $p = 0,008$). На фоне лечения ренгалином не выявлено отклонений биохимических и общеклинических показателей крови и мочи; не отмечено побочных реакций, характерных для противокашлевых препаратов центрального действия. Уровень приверженности терапии составил 100%. **Выводы.** Антитуссивный эффект ренгалина при частом сухом дневном и ночном кашле наступает быстро и сопоставим с эффективностью бутамирата (синекода®). Препарат предотвращает развитие выраженной экссудации с образованием вязкой мокроты у значительной части больных, способствует быстрому переходу сухого кашля в «остаточное» покашливание и выздоровлению пациента. Применение ренгалина в течение трех дней существенно сокращает процент больных, нуждающихся в назначении муколитической терапии на последующих стадиях ОРИ.

Ключевые слова: ренгалин, кашель, дети, противокашлевое действие.

Rengalin liquid formulation on the basis of antibodies to bradikinin histamine and morphine was specially designed for the treatment of cough in children. The three-component combination is therapeutically active against both dry and wet cough due to effect on diverse pathogenetic aspects of the cough reflex. The aim of the multicenter, comparative, randomized clinical trial was to estimate the efficacy and safety of rengalin in the treatment of cough in patients with acute respiratory infection (ARI) of the upper respiratory tract. Methods. One hundred forty six patients at the age of 3 to 17 years (the average age of 8.2 ± 3.6 years) from 14 medical centres of Russia were observed. The patients suffered from dry/nonproductive, frequent, sore cough preventing from day-time activity and/or night sleep (≥ 4 by the Cough Severity Scale). The cough duration ranged from 12 hours to 3 days. For 3 days the patients of group 1 ($n=71$) and group 2 ($n=75$) were treated with rengalin and sinekod (butamirate) respectively. For the following 4 days the patients (in case of viscid expectoration were treated with ambroxole in the age doses. The results of the Per Protokol Analysis ($n=67$ rengalin group and $n=73$ sinekod group) with an account of the Non-Infectiority Design are presented. Results. In 3 days the number of the group 1 patients with significant improvement/recovery by the day and night estimates amounted to 90% and 88% respectively (vs. 81% and 88% in the group 2 patients, no night episodes of cough after 3-days rengalin use being recorded in 52% of the patients vs. 34% in the sinekod group patients ($p=0,0003$). On the 7th day of the treatment with rengalin the number of the children with significant improvement of or recovery from day-time cough amounted to 99% and that of the patients with significant improvement of or recovery from night-time cough amounted to 93%, in 90% of them no night-time cough being recorded ($p=0,0008$). As for the patients of the reference group, the respective values were 93% and 90%, no night-time cough being recorded in 81% of the patients. The time required for development of productive/moist cough during the 3-day treatment course in the patients of both the group was the same (2.9 ± 0.3 days in the patients of group 1 and 2.9 ± 0.4 days in the group 2 patients. Moreover, in 34% of the rengalin dry cough became residual (as rare episode of tussiculation with scanty exudation). After 3-day course of the rengalin therapy, 66% of the patients was treated with ambroxole (versus 95% in sinekod group ($p < 0,0001$) based on comparative analysis and $\chi^2 = 17.7$, $p > 0,0001$ by the results of the frequency analysis). The total duration of cough in the patients of groups 1 and 2 was 6.5 ± 0.8 and 6.7 ± 0.7 days respectively (the comparability truth, $p = 0,0001$). The severity of the day-time cough by the area under the curve estimates for 7 days of the treatment in the rengalin group patients was equal to 14.3 ± 5.6 numbers — days and that of the patients of the sinekod® group was equal to 15.9 ± 6.1 numbers — days. The severity of the night-time cough was equal to 4.2 ± 2.7 number — days respectively. In 2 patients (3%) treated with sinekod® signs of ARI generalization was observed after the 3-day treatment ($p > 0,0001$). The research physicians-investigators (CGI-EL Scale) the combination of the anti- and protussive activities in one drug to be efficient and absolutely safe for the children. The therapeutic efficacy in the patients of the rengalin group was higher in 3 days (2.1 ± 0.5 numbers) and even in 7 days (2.7 ± 0.5 numbers). The results value in the patients of the sinekod® group being 1.8 ± 0.4 and 2.5 ± 0.6 numbers (one-way ANOVA for repeated estimates ANOVA: Visit — $F_{1/138} = 146$, $p < 0,0001$, TREATMENT — $F_{1/138} = 9,0$, $p = 0,003$). The factor of the side effects in the patients of the rengalin group was zero (no side effects due to the treatment were recorded in the patients), whereas in the patients treated with sinekod® for 3 days the respective value was 0.1 ± 0.3 (true superiority of rengalin by the ANOVA data. TREATMENT — $F_{1/138} = 4,7$, $p = 0,03$). The efficacy factor of the rengalin was also in its favour (ANOVA: Visit — $F_{1/138} = 182$, $p < 0,0001$, TREATMENT — $F_{1/138} = 7,3$, $p = 0,008$). In the patients treated with rengalin there were detected no deviations in the biochemical and general clinical analyses of blood and urine, no adverse reactions characteristic of antitussive drugs of the action. 100-percent adherence to the therapy was stated. Conclusion. The antitussive effect of rengalin in the treatment of frequent dry day-time and night-time cough was observed earlier and proved to be comparable with that of butamirate (sinekod®). Rengalin prevented significant exudation and viscid expectoration in many patients, promoted rapid residual in the patients with dry cough and the patients recovery. The use of rengalin for 3 days significantly lowered the percentage of the patients requiring treatment with mucolytics at the subsequent stages of ARI.

Key words: rengalin, cough, children, antitussive action.

Введение

Кашель у детей — частый повод обращения к врачу-педиатру. Его причинами могут быть различные этиологические факторы, и острые респираторные инфекции (ОРИ) среди них — самые распространённые [1—3]. Являясь защитным рефлексом и важным компонентом лёгочного клиренса, сухой и болезненный кашель на фоне инфекционно-воспалительного процесса приводит к выраженному дискомфорту, нарушению активности и сна больного ребенка [4—7]. Именно в таких ситуациях возникает необходимость в назначении противокашлевой терапии [8—12].

Из большого списка лекарственных средств для лечения кашля врачи-педиатры отдают предпочтение препаратам с доказанной эффективностью и безопасностью [5, 6, 8, 11]. К таким препаратам относится, например, бутамират, оказывающий выраженный противокашлевой эффект за счёт центрального ненаркотического действия [12]. Длительность его применения ограничивается тремя-четырьмя днями; для последующей терапии кашля, сопровождающегося образованием вязкого экссудата, приходится, как правило, переходить на лекарственные средства с протуссивной (муко-/секретолитической) активностью. Одним из подходов для решения данной проблемы является создание комбинированных препаратов, сочетающих в себе компоненты, активные в отношении и сухого, и влажного кашля. Среди них — новое лекарственное средство ренгалин (ООО «НПФ «Материал Медика Холдинг»), разработанное на основе антител к брадикинину (анти-В), гистамину (анти-Н) и морфину (анти-М), которые оказывают влияние на различные патогенетические звенья кашлевого рефлекса [13—18]. Препарат является релиз-активным, то есть обладает особой активностью, которая высвобождается в результате технологической обработки исходных антител и оказывает модифицирующее влияние на молекулы-мишени, против которых данные антитела образованы [19]. До настоящего времени ренгалин, разрешённый к применению, начиная с 3-летнего возраста, производился в виде сублингвальных таблеток. В данной публикации представлены результаты регистрационного исследования новой жидкой формы ренгалина (раствора для приёма внутрь, специально разработанного для детей), в ходе которого подтверждалась его эффективность и безопасность в лечении кашля при ОРИ верхних дыхательных путей, а также проводилось сравнение противокашлевой активности ренгалина и синекода® (бутамира) в первые три дня заболевания и эффективности двух схем терапии [20].

Материал и методы

В многоцентровом сравнительном рандомизированном клиническом исследовании приняли участие 146 пациентов от 3

до 17 лет, равномерно включённых в соответствии с возрастом (средний возраст $8,2 \pm 3,6$ лет), из 14 исследовательских центров России. После подписания родителем/усыновителем, а также пациентом (если он достиг 14 лет), формы информированного согласия на участие в клиническом исследовании, проводилось обследование, регистрировалась сопутствующая терапия.

Диагноз ОРИ (ринит, фарингит, ларингит, ларинготрахеит, трахеит) врач верифицировал на основании типичных клинических проявлений. Тяжесть сухого/непродуктивного кашля, которая оценивалась в баллах в зависимости от количества эпизодов и интенсивности в дневное и/или ночное время суток, влияния на дневную активность и сон пациента (по «Шкале тяжести кашля» [7, 21, 22], должна была быть не менее 4 баллов; длительность кашля к моменту включения пациента в исследование — от 12 часов до 3 суток. Выраженность других симптомов ОРИ оценивалась по 4-балльной шкале (0 — отсутствие симптома; 1 — лёгкая степень; 2 — средняя степень; 3 — тяжёлая степень) и не влияла на включение в исследование.

Пациент не включался в исследование, если у него был кашель продуктивный/требующий назначения мукоактивных препаратов; при наличии клинических проявлений ОРИ нижних дыхательных путей, бронхообструктивного синдрома, острой дыхательной недостаточности; подозрении на инвазивную бактериальную инфекцию; обострении или декомпенсации хронических заболеваний, включая хронические заболевания органов дыхания; наличии в анамнезе воспалительных, дегенеративных, демиелинизирующих заболеваний центральной нервной системы, полиневропатии, эпилепсии, злокачественных новообразований, сахарного диабета, наследственной непереносимости фруктозы (вследствие наличия в составе исследуемого препарата мальтитола), аллергии/непереносимости любого из компонентов лекарственных препаратов, используемых в лечении, а также в случаях курения, употребления родителями/усыновителями/пациентом наркотиков, алкоголя, беременности/нежелания соблюдать методы контрацепции сексуально активными пациентами, психических заболеваний пациента/родителей/усыновителей, участия в других клинических исследованиях в течение 3 предшествующих месяцев.

За 1 месяц до включения в исследование, а также в ходе его проведения, не разрешалась любая терапия, способная повлиять на выраженность кашля у пациента, включая противокашлевые, антигистаминные, бронхолитические, отхаркивающие и муколитические препараты (кроме ренгалина, бутамира и амброксола); препараты, в описании которых указано раздражающее или подавляющее действие на кашлевой центр в ЦНС, в том числе в качестве побочного эффекта; препараты, вызывающие или подавляющие рвотный рефлекс; ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента; β -адреноблокаторы; глюкокортикостероиды, в том числе, ингаляционные и назальные.

Длительность исследования составила 8 дней, в ходе которых пациенты трижды осматривались врачом — на 1-й (визит 1), 4-й (визит 2) и 8-й (визит 3) дни. В течение 7 суток родитель/усыновитель пациента и/или пациент старше 14 лет вели дневник, заполняли размещённую в нём шкалу тяжести кашля, регистрировали число эпизодов дневного и ночного кашля и его характер. По завершении курса лечения (День 8) проводилось заключительное обследование, контроль назначенной и сопутствующей терапии, её безопасности, проверка дневника пациента. Исходно и по завершении терапии оценивались общеклинические и биохимические анализы крови и мочи.

Первичными конечными точками эффективности терапии были процент детей со значимым улучшением/выздоровлением от кашля на 4 и 7 дни (критерий улучшения — снижение тяжести кашля до 2 баллов днём и 1 балла ночью; критерий выздоровления — полное отсутствие кашля в течение суток); сроки появления первых эпизодов продуктивного кашля и общая продолжительность кашля. Вторичными кри-

териями эффективности лечения были доля пациентов, которым дополнительно назначен муколитик амброксол; тяжесть дневного и ночного кашля (по результатам математической модели «площадь под кривой» для показателей дневного/ночного кашля); изменение выраженности синдромов ОРИ; процент больных с генерализацией респираторной инфекции; показатели «Шкалы Общего Клинического Впечатления — Индекс эффективности» (Clinical Global Impression Scale — Efficiency Index [CGI-EI]) на 4 и 7 дни терапии и «площадь под кривой» для показателя терапевтической эффективности и индекса эффективности в двух группах.

Для обработки данных применяли статистический пакет SAS-9.3. Анализ результатов проводился с учётом дизайна «non-inferiority» (отсутствие клинически значимого превосходства препарата сравнения синекод® над тестируемым препаратом ренгалин). Для оценки различий непрерывных переменных, полученных в двух группах, использовался t-критерий Стьюдента для независимых выборок; для сравнения пропорций в группах — метод анализа сопоставимости для пропорций, основанный на Z-статистике; применялись стандартные методы частотного анализа: критерий χ^2 и модификация Cochran-Mantel-Haenszel критерия χ^2 для множественных сравнений; однофакторный дисперсионный анализ для повторных измерений (One-way Repeated Measures ANOVA). В связи с запланированным промежуточным анализом по методу Haybittle-Peto, величина ошибки первого рода (α) вместо стандартного $p=0,05$ была установлена на более консервативном уровне в размере $p=0,001$; все результаты рассматривались как значимые лишь в том случае, если величина «р» была равна или меньше этой величины.

Группы пациентов. По окончании процедур скрининга пациент рандомизировался в одну из двух групп: пациенты 1 группы ($n=71$) получали ренгалин в течение 3 дней по 10 мл 3 раза в день; пациенты 2 группы ($n=75$) — бутамират (синекод®, сироп для приёма внутрь, 1,5 мг/1 мл) в возрастной дозировке. В целях сохранения конфиденциальности каждому пациенту присваивался рандомизационный номер, который исследователь получал с помощью интерактивной голосовой системы. Та или иная группа терапии выбиралась случайным образом с помощью генератора случайных чисел, исходя из соотношения исследуемых групп 1:1.

У всех участников исследования ведущим симптомом ОРИ был сухой/непродуктивный, частый, иногда болезненный кашель, нарушающий дневную активность и/или ночной сон (подобная интенсивность кашля являлась показанием к применению противокашлевой терапии). Среднее значение тяжести кашля днём у детей группы ренгалина составляло $3,3 \pm 0,5$ баллов, группы синекода — $3,4 \pm 0,5$ баллов; ночью — $2,2 \pm 1,0$ в обеих группах; тяжесть кашля не имела значимых различий в группах.

Наиболее выраженными, наряду с кашлем, были другие проявления катара верхних дыхательных путей — назальная обструкция, ринорея, чихание, осиплый голос, боль в горле. Сум-

марная тяжесть катаральных симптомов исходно составляла $5,2 \pm 2,5$ баллов в группе ренгалина и $5,4 \pm 1,9$ баллов в группе синекода; симптомов интоксикации — $2,3 \pm 1,9$ и $2,4 \pm 2,1$ баллов соответственно. Степень выраженности клинических проявлений ОРИ также была сопоставимой в двух группах.

14% пациентов (18% группы ренгалина и 11% группы синекода) имели различные сопутствующие заболевания, в том числе, мочевыделительной системы (хронический пиелонефрит, инфекция мочевых путей, поликистоз почек, пиело- и уретерэктазия; $n=6$; 4%), костно-мышечной системы (нейродистрофическая транзиторная коксопатия, сколиоз, плоскостопие, нестабильность шейного отдела позвоночника; $n=6$; 4%), ЛОР-органов (гипертрофия небных миндалин и аденоидные вегетации; $n=4$; 3%), органов пищеварения (дискинезия желчных путей, целиакия; $n=4$; 3%).

Более половины участников исследования получали разрешённые лекарственные средства, включая, сосудосуживающие назальные капли (63%), противовоспалительные спреи (40%), местные антисептические растворы (6%); противовирусные препараты и иммуномодуляторы (26%). Частота применения сопутствующей терапии не имела различий в обеих группах.

По завершении трёхдневной терапии (День 4) врач-исследователь оценивал состояние пациента и корректировал лечение: при наличии показаний (выделение вязкой мокроты) — назначал муколитик амброксол (лазолван®, сироп 15 мг/5 мл) в возрастной дозировке; при этом пациенты 1 группы продолжали приём ренгалина по 5 мл 3 раза в день, пациентам 2 группы синекод® отменяли. Лечение и наблюдение продолжалось ещё 4 дня.

Досрочно завершили участие в исследовании 6 пациентов, в том числе, из-за невозможности/отказа следовать требованиям протокола ($n=1$; группа ренгалина); необходимости назначения препаратов, недопустимых к применению в рамках данного исследования ($n=1$; группа ренгалина и $n=2$; группа синекода); ошибочного включения непригодного к участию в исследовании пациента ($n=2$; группа ренгалина).

Анализ эффективности проводили на основании данных 140 пациентов ($n=67$ — группа ренгалина; $n=73$ — группа синекода), завершивших участие в исследовании в соответствии с протоколом (Per Protokol-анализ). Оценку безопасности проводили у всех пациентов, включённых в исследование и получивших хотя бы одну дозу исследуемого препарата ($n=146$).

Результаты исследования и обсуждение

Терапевтический эффект ренгалина развивался быстро, начиная с первого дня применения, постепенно нарастал в течение трёх суток и был сопоставим с результатами лечения синекодом® (табл. 1 и 2). По окончании 3-дневного курса про-

Таблица 1. Доли пациентов с улучшением/выздоровлением от дневного кашля на 4 и 7 дни лечения в двух группах

Статистические данные	Ренгалин ($n=67$)	Синекод® ($n=73$)	Ренгалин ($n=67$)	Синекод® ($n=73$)
	День 4		День 7	
N, абс. (%)	60 (90%)	59 (81%)	66 (99%)	68 (93%)
Diff C-T	-8,7%		-5,4%	
90% CI _{diff}	-0,1%; 18,5%		-0,1%; 10,8%	
δ	$\pm 10\%$		$\pm 10\%$	
p^*	$p=0,0008$		$p<0,0001$	

Примечание. Здесь и в других таблицах. N — число пациентов абс. (доля); Diff — разница между эффектами двух препаратов; C — контрольный препарат, или препарат сравнения синекод®; T — тестируемый, или исследуемый препарат ренгалин; CI — доверительный интервал; * — для сравнения эффектов терапии в двух группах использовался метод анализа сопоставимости для пропорций, основанный на Z-статистике.

Таблица 2. Доли пациентов с улучшением/выздоровлением от ночного кашля на 4 и 7 дни лечения в двух группах

Статистические данные	Ренгалин (n=67)		Синекод® (n=73)	
	День 4		День 7	
N, абс. (%)	59 (88%)		62 (93%)	
Diff C-T	-0,4%		-2,1%	
90% CI _{diff}	-8,7%; 9,5%		-5,6%; 9,9%	
δ	±10%		±10%	
p*	p=0,03		p<0,005	

Таблица 3. Общая продолжительность кашля у пациентов двух групп

Статистические данные	Ренгалин (n=67)		Синекод (n=73)	
	Группа		Группа	
M±SD, дни	6,3		6,7±0,7	
95% CI Mean	6,5±0,8		6,8	
Diff C-T	6,7		0,17±0,74	
90% CI _{diff}	6,5		-0,08÷0,41	
δ	±0,2		±0,2	
p*	0,0001		0,0001	

Примечание. M (Mean) — среднее значение; SD — стандартное отклонение; далее — см. примечание к таблице 1.

* — для оценки сопоставимости средних значений использовался критерий Стьюдента (t-test).

цент пациентов со значимым улучшением/выздоровлением по результатам дневных оценок составил 90%, ночных — 88% (против 81% и 88% соответственно в группе синекода), в том числе, полное отсутствие ночного кашля после трех дней лечения ренгалином было отмечено более чем у половины детей (52% против 34% больных группы синекода; $p=0,0003$). На седьмые сутки в группе ренгалина доля детей со значимым улучшением/выздоровлением от дневного кашля была 99%, ночного — 93% (у 90% из них ночной кашель полностью отсутствовал; $p=0,0008$). В группе сравнения аналогичные показатели составили 93% и 90%; в том числе, полное излечение от ночного кашля отмечено у 81% пациентов. Таким образом, по антитуссивной активности в отношении сухого кашля ренгалин не уступал синекоду® в течение первых трёх дней терапии. Более того, продолжение приёма ренгалина приводило к сопоставимому проценту пациентов, излечившихся от кашля в течение последующих четырёх дней.

По окончании периода сухого кашля у детей появлялся «влажный» кашель с мокротой, или, как это было у многих участников группы ренгалина ($n=23$; 34%), сухой кашель переходил в «остаточный», то есть проявлялся в виде редких эпизодов покашливания с небольшим количеством отделяемого экссудата. Сроки появления продуктивного/влажного кашля в обеих группах в течение 3-дневного курса были одинаковыми ($2,9\pm0,3$ в группе ренгалина и $2,9\pm0,4$ дня в группе синекода). Общая продолжительность кашля составила $6,5\pm0,8$ дней в группе ренгалина и $6,7\pm0,7$ дней в группе синекода (табл. 3). Сравнение средних значений с помощью критерия Стьюдента (t-теста) подтвердило, что эффектив-

ность двух вариантов терапии была достоверно сопоставимой ($p=0,0001$).

Таким образом, результаты анализа по первичным конечным точкам свидетельствовали о том, что жидкая лекарственная форма ренгалина является эффективным средством для лечения кашля у детей. Его противокашлевая эффективность сопоставима с действием синекода®. Более того, начиная действовать с первых стадий острого инфекционного воспаления в дыхательных путях, ренгалин предотвращал развитие выраженной экссудации с образованием мокроты у значительной части больных, что приводило к быстрому купированию кашлевого синдрома, то есть переходу сухого кашля в «остаточное» покашливание, завершившееся выздоровлением пациента.

Через 3 дня терапии ренгалином врач назначил амброксол 66% больным, в то время как после 3 дней приёма синекода® муколитическая терапия потребовалась почти всем детям (95%) (рис. 1). Результаты анализа показали не только статистически значимую сопоставимость двух схем терапии ($p<0,0001$ — по данным запланированного, в соответствии с дизайном «non-inferiority», сравнительного анализа), но и значимое превосходство ренгалина над синекодом® ($\chi^2=17,7$; $p<0,0001$ — по данным частотного анализа). Таким образом, применение ренгалина у большинства детей способствовало переходу частого сухого кашля в «остаточный» без образования вязкой мокроты, требующей назначения муколитической терапии.

7-дневный курс лечения оказывал сходное влияние на выраженность кашля и днем, и ночью у пациентов обеих групп на протяжении всего периода

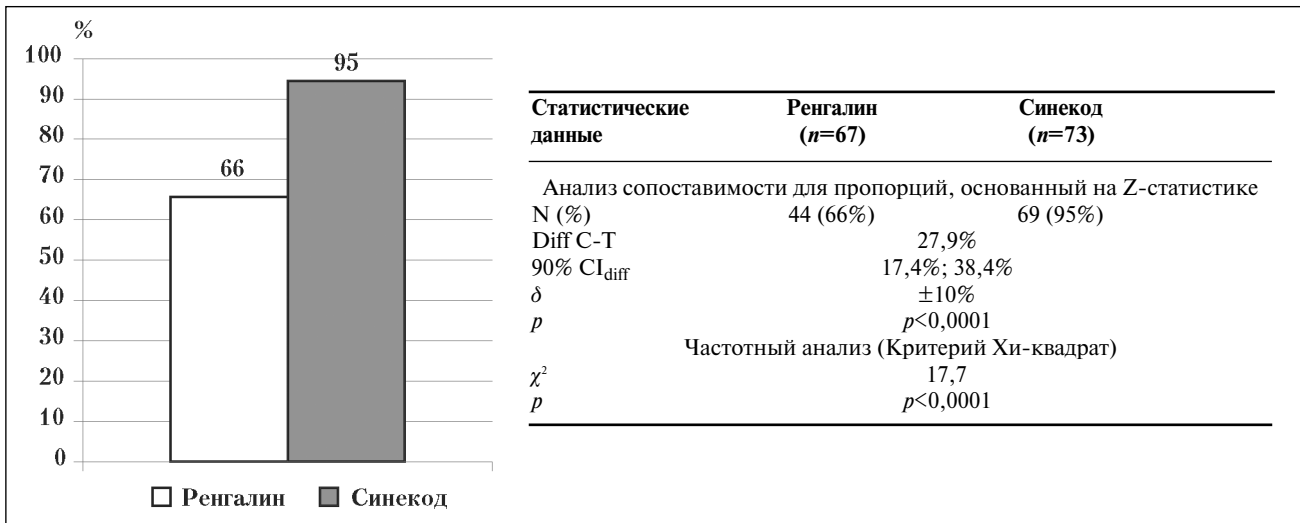


Рис. 1. Доля пациентов, которым дополнительно назначен муколитик амброксол.

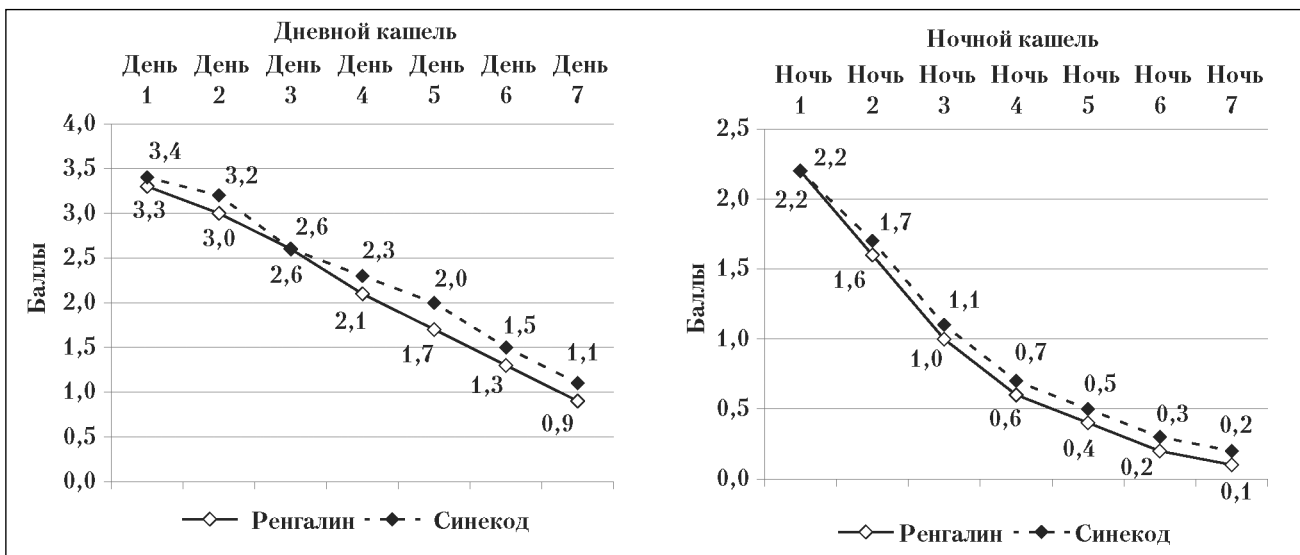


Рис. 2. Динамика тяжести дневного и ночного кашля на фоне лечения.

наблюдения: дневной кашель в группе ренгалина снизился в среднем на $\Delta = -2,4$ баллов, в группе Синекода — на $\Delta = -2,3$ баллов, ночной — на $\Delta = -2,1$ и $\Delta = -2,0$ баллов соответственно (рис. 2). По результатам «площади под кривой» за 7 суток тяжесть дневного кашля у детей группы ренгалина была $14,3 \pm 5,6$ (баллы $\times$ дни); у пациентов группы синекода — $15,9 \pm 6,1$ (баллы $\times$ дни); суммарная тяжесть ночного кашля в обеих группах была одинаковой — $4,2 \pm 4,1$ и $4,2 \pm 2,7$ (баллы $\times$ дни).

Выраженность других клинических проявлений ОРИ у пациентов обеих групп на фоне лечения снижалась, и на визите 2 врачи-исследователи отмечали практически полное отсутствие признаков общепризнаваемого синдрома и незначительную представленность респираторных симптомов. Суммарная тяжесть явлений катара дыхательных путей в группе ренгалина составила $2,9 \pm 2,0$ баллов, в группе синекода —

$3,1 \pm 1,7$ баллов. Однако, у 2 (3%) пациентов после 3 дней приёма синекода®, во время объективного осмотра на визите 2, были выявлены клинические симптомы генерализации ОРИ ($p < 0,0001$). Вероятно, подавление кашлевого рефлекса/нарушение механизмов мукоцилиарного клиренса на фоне лечения синекодом® привело к задержке эвакуации воспалительного экссудата, что могло способствовать распространению инфекционно-воспалительного процесса в респираторном тракте. В группе ренгалина подобных осложнений зарегистрировано не было. За счёт сочетанного влияния на различные звенья кашлевого рефлекса, процессы инфекционного воспаления и тонус дыхательной мускулатуры, ренгалин предупреждал генерализацию ОРИ.

На визите 3, по окончании 7-дневного курса терапии, респираторная симптоматика была минимально выражена у отдельных пациентов, со-

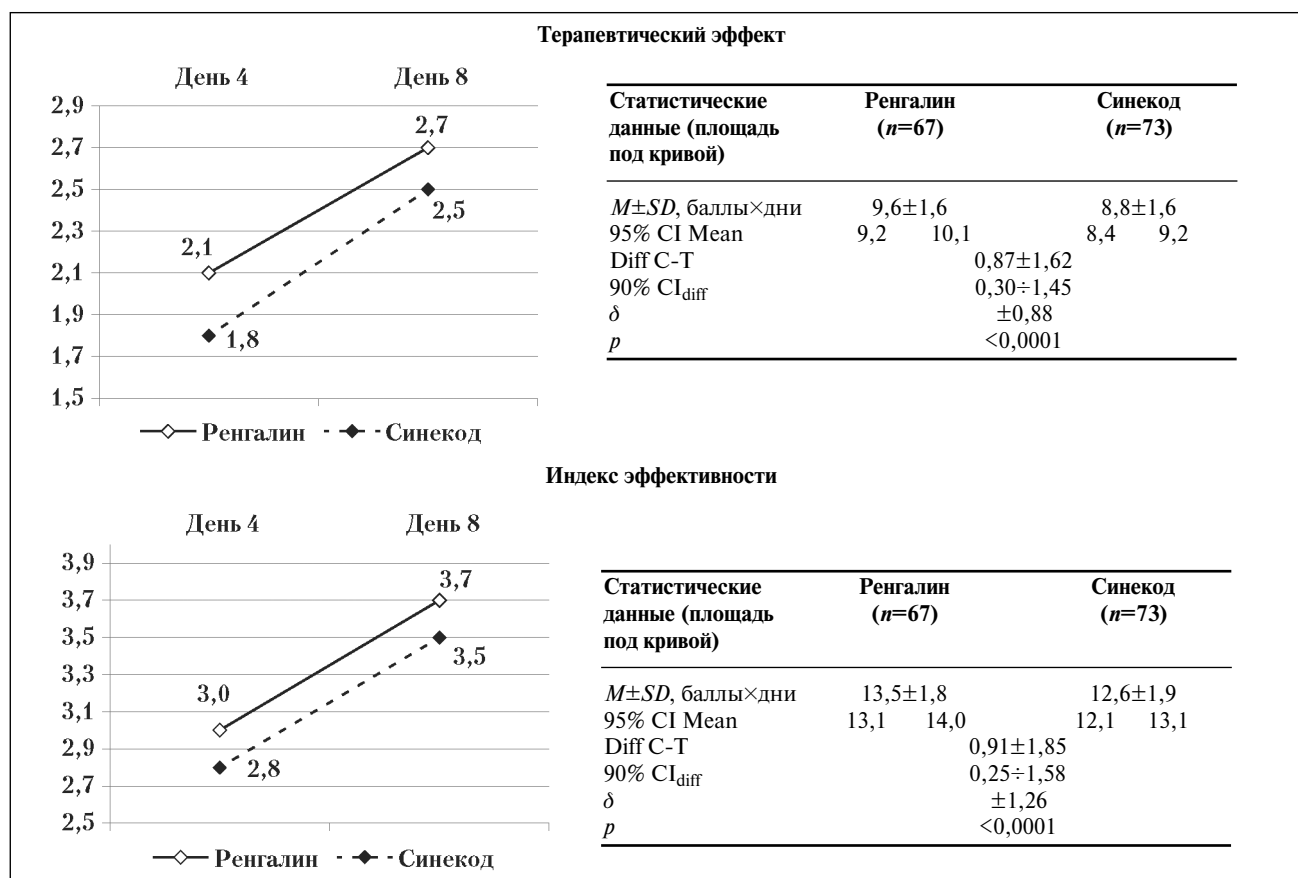


Рис. 3. Показатели шкалы CGI-EI на фоне лечения.

ставляя в среднем $0,6 \pm 0,8$ баллов в группе ренгалина и $0,9 \pm 0,9$ баллов в группе синекода.

Оценки врачей по шкале CGI-EI показали, что терапевтическая эффективность у пациентов группы ренгалина была выше и через три ($2,1 \pm 0,5$ баллов), и через семь ($2,7 \pm 0,5$ баллов) дней, при сравнении с аналогичным показателем в группе синекода ($1,8 \pm 0,4$ и $2,5 \pm 0,6$ баллов соответственно) (рис. 3). Анализ полученных результатов в соответствии с дизайном «non-inferiority» показал сопоставимость обоих вариантов лечения; дополнительно проведенный однофакторный дисперсионный анализ для повторных измерений демонстрировал достоверное изменение терапевтического эффекта шкалы CGI по сравнению с исходными значениями (фактор Визит — $F_{1/138}=146$; $p<0,0001$) и значимое превосходство лечебной схемы, включающей ренгалин (фактор Препарат — $F_{1/138}=9,0$; $p=0,003$).

Показатель побочных эффектов в группе ренгалина был ниже, то есть нулевой, поскольку ни у одного пациента не было зарегистрировано нежелательных явлений, обусловленных лечением. В группе синекода средний балл побочных эффектов, спустя 3 дня применения, составил $0,1 \pm 0,3$. Статистический анализ подтвердил достоверное превосходство применения ренгалина по сравнению с синекодом (ANOVA: фактор Препарат — $F_{1/138}=4,7$; $p=0,03$).

Итоговый коэффициент — индекс эффективности (соотношение терапевтических и побочных эффектов) был также в пользу ренгалина. По окончании 3 дней его применения индекс эффективности составил $3,0 \pm 0,5$, через 7 дней лечения — $3,7 \pm 0,5$ (против $2,8 \pm 0,5$ и $3,5 \pm 0,6$ в группе синекода). Значимая сопоставимость была доказана в соответствии с планом «non-inferiority» (см. таблицу к рисунку 3), а преимущества лечения ренгалином показал дисперсионный анализ (ANOVA: фактор Визит — $F_{1/138}=182$; $p<0,0001$; фактор Препарат — $F_{1/138}=7,3$; $p=0,008$). Таким образом, по мнению врачей-исследователей, сочетание анти- и протуссивной активности в одном лекарственном средстве оказалось и эффективным, и полностью безопасным для детей.

Положительные эффекты лечения ренгалином обусловлены влиянием трёх его компонентов на центральные и периферические звенья кашлевого рефлекса, а также на причину кашля — воспаление в респираторном тракте [2, 4, 7, 17, 18]. За счёт противокашлевого, спазмолитического, противоотечного действия препарат снижал интенсивность кашля, облегчал отхождение мокроты, предупреждал генерализацию респираторной инфекции и способствовал более быстрому выздоровлению пациентов.

Результаты исследования подтвердили высокий уровень безопасности препарата. Всего было зарегистрировано 3 нежелательных явления (НЯ): 1 в группе ренгалина и 2 в группе синекода. Все НЯ проявлялись в виде усиления кашля на фоне 3-дневного курса лечения, что было расценено как «отрицательная эффективность» терапии. Известно, что кашель, индуцированный вирусной инфекцией, может быть следствием различных причин, в том числе, постназального синдрома на фоне хронического аденоидита, кашлевого варианта бронхиальной астмы, и многих других. Противокашлевые средства в таких случаях не могут давать эффект, если отсутствует адекватное лечение основного заболевания. Во всех трёх случаях пациентам была назначена бронхолитическая терапия, запрещённая к применению в данном исследовании, вследствие чего они досрочно завершили в нём участие.

Повторные исследования биохимических и общеклинических показателей крови и мочи у детей не выявили отклонений от нормальных значений. Применение ренгалина не вызывало побочных реакций, характерных для противокашлевых препаратов центрального действия: седативного и снотворного эффектов, угнетения дыхания, нарушения моторики желудочно-кишечного тракта, привыкания и лекарственной зависимости. Сочетанное использование ренгалина с противовирусными и иммуномодулирующими препаратами, антипиретиками и деконгестантами, местными антисептиками и муколитиком амброксолом не приводило к развитию реакций фармакологической несовместимости, антагонистическому или взаимоусиливающему действию. Пациенты хорошо переносили препарат и продемонстрировали высокий (100%) уровень приверженности терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Genne H.A., Волков И.К.* Актуальные вопросы детской пульмонологии в России Вестник Российской академии медицинских наук. 2008; (10): 32–4.
2. *Footitt J., Johnston S. L.* HYPERLINK «<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19480062>» Cough and viruses in airways disease: mechanisms. *Pulm Pharmacol Ther.* 2009; 22(2): 108–13.
3. *Tecu C., Mihai M.E., Alexandrescu V.I. et al.* Single and multipathogen viral infections in hospitalized children with acute respiratory infections. *Roum Arch Microbiol Immunol.* 2013; 72 (4): 242–9.
4. *Canning B. J.* Anatomy and Neurophysiology of the Cough Reflex. ACCP evidence-based clinical practice guidelines. Chest, 2006; 129 (1): 33–47.
5. *Genne H.A., Снегоцкая М.Н.* Диагностический поиск и принципы лечения кашля у детей. *Consilium medicum, Педиатрия*, 2012; (1): 52–55.
6. *Genne H.A., Снегоцкая М.Н., Пенкина М.В.* Алгоритм лечения кашля у детей. *Фарматека*, 2014; (1): 71–75.

Заключение

Жидкая лекарственная форма ренгалина — эффективное и безопасное средство для лечения кашля у детей с ОРИ. Препарат эффективен на протяжении всего периода инфекционно-воспалительного процесса в дыхательных путях и может применяться в лечении как непродуктивного (сухого), так и продуктивного (влажного) кашля. Значимый антитуссивный эффект при частом сухом кашле, нарушающем дневную активность и ночной сон больного ребенка, наступает быстро. По выраженности противокашлевой активности ренгалин сопоставим с бутамиратом (синекодом®). Начиная действовать с первых дней ОРИ, препарат эффективно предотвращает образование мокроты, приводит к переходу сухого кашля в «остаточное» покашливание, способствует купированию кашлевого синдрома и других проявлений катара дыхательных путей. Применение ренгалина в течение трёх дней существенно сокращает процент больных, нуждающихся в назначении муколитической терапии на последующих стадиях ОРИ. Препарат можно применять в течение всего периода ОРИ, сопровождающегося кашлем. Ренгалин предупреждает генерализацию инфекционно-воспалительного процесса в респираторном тракте, поскольку не нарушает механизмы мукоцилиарного клиренса, не задерживает эвакуацию воспалительного экссудата. По оценкам врачей-исследователей применение ренгалина в схеме лечения кашля на фоне ОРИ отличается высоким индексом эффективности. Мониторинг НЯ и лабораторных показателей подтверждают безопасность препарата. Не зарегистрировано случаев развития бактериальных осложнений, обострений сопутствующей хронической патологии. Препарат не вызывает побочных реакций, характерных для противокашлевых препаратов центрального действия, хорошо переносится и сочетается с лекарственными средствами различных классов.

7. *Чучалин А. Г., Абросимов В. Н.* Кашель. Издание второе, переработанное и дополненное. — М.: «Эхо», 2012: 128 с.
8. *Bolser D.C.* Cough suppressant and pharmacologic protussive therapy: ACCP evidence-based clinical practice guidelines. Chest, 2006; 129 (1): 238–249.
9. *Irwin R. S., Baumann M. H., Bolser D. C. et al.* Diagnosis and management of cough. Executive Summary: ACCP evidence-based clinical practice guidelines. Chest, 2006; 129: 1S–23S.
10. *Dicpinigaitis P. V., Colice G. L., Goolsby M. J. et al.* Acute cough: a diagnostic and therapeutic challenge. *Cough*, 2009; 5: 11.
11. *Smith S. M., Schroeder K., Fahey T.* Over-the-counter (OTC) medications for acute cough in children and adults in ambulatory settings. The Cochrane Library, 2010, Issue 9. The Cochrane Collaboration. Published by John Wiley & Sons, Ltd. <http://www.thecochranelibrary.com>
12. *Charpin J., Weibel M. A.* Comparative evaluation of the antitussive activity of butamirata citrate linctus versus clobutinol syrup. *Respiration*. 1990; 57 (4): 275–9.
13. *Kovaleva V. L., Zak M. S., Sergeeva S. A., Epstein O. I.* Antitussive activity of antibodies in ultralow doses. XIV World Congress of

- Pharmacology «The New Century of Pharmacology», San Francisco, California, July 7–12, 2002. Abstract Volume. Pharmacologist, 2002; 44 (2), suppl. 1: 227–28.
14. *Сергеева С. А., Ковалева В. Л., Зак М. С., Эпштейн О. И.* Исследование противокашлевой активности сверхмалых доз антител к брадикинину у морских свинок. IX Российский национальный конгресс «Человек и лекарство», материалы. Москва, 2002: 694–94.
 15. *Ковалева В. Л., Зак М. С., Эпштейн О. И., Сергеева С. А.* Изучение влияния сверхмалых доз антител к гистамину на контрактуру гладких мышц изолированной трахеи морской свинки. X Российский национальный конгресс «Человек и лекарство», материалы. Москва, 2003: 721–21.
 16. *Ковалева В. Л., Зак М. С., Эпштейн О. И., Сергеева С. А.* Исследование влияния сверхмалых доз антител к брадикинину на кашлевой рефлекс у интактных и иммунизированных морских свинок. X Российский национальный конгресс «Человек и лекарство», материалы. Москва, 2003: 721–21.
 17. *Эпштейн О. И., Ковалева В. Л., Зак М. С., Дугина Ю. Л.* Сверхмалые дозы антител к медиаторам воспаления: противокашлевые свойства антител к брадикинину, гистамину и серотонину. Бюлл. эксперим. биол., 2003. Прил. 1: 61–64.
 18. *Эпштейн О. И., Штарк М. Б., Дыгай А. М. и др.* Фармакология сверхмалых доз антител к эндогенным регуляторам функций. М.: Издательство РАМН, 2005; 226.
 19. *Эпштейн О. И.* Феномен релиз-активности и гипотеза «пространственного» гомеостаза. Успехи физиологических наук, 2013, 44 (3): 54–76.
 20. ICH Harmonised Tripartite Guideline. Clinical Investigation of Medicinal Products in the Pediatric Population (E11). Current Step 4 version, July 2000; 12 p.
 21. *Hsu J. Y., Stone R. A., Logan-Sinclair R. B. et al.* Coughing frequency in patients with persistent cough: assessment using a 24 hour ambulatory recorder. Eur. Respir. J. 1994; 7: 1246–53.
 22. *Morice A. H., Fontana G. A., Belvisi M. G. et al.* ERS guidelines on the assessment of cough. ERS Task Force. Eur. Respir. J., 2007; 29: 1256–76.

Применение препарата циклоферон в терапии хронических гастродуоденитов у детей

С. Ю. ЕРМАК¹, С. А. ЛЯЛИКОВ¹, М. Г. ЗУБРИЦКИЙ², О. Н. БОРОДАВКО³

¹ УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно

² УЗ «Гродненское областное патологоанатомическое бюро», Гродно

³ УЗ «Гродненская областная клиническая больница», Гродно, Беларусь

Cycloferon Therapy of Chronic Gastroduodenitis in Children

S. YU. YERMAK, S. A. LIALIKOV, M. G. ZUBRITSKY, O. N. BORODAVKO

Grodno State Medical University, Grodno, Belarus

Grodno Regional Pathoanatomical Bureau, Grodno, Belarus

Grodno Regional Clinical Hospital, Grodno, Belarus

В статье дана оценка эффективности применения иммуномодулирующего препарата циклоферон у детей в возрасте от 10 до 16 лет с верифицированным хроническим гастродуоденитом. Показано, что применение циклоферона приводит к достоверному увеличению Т- и В-клеточных популяций в составе слизистых оболочек желудка и двенадцатиперстной кишки, к нормализации количества CD8-лимфоцитов, повышению титра антител класса IgG к вирусам герпеса 1-го и 2-го типа, а также способствует снижению активности воспалительного процесса в слизистых и уменьшению клинических проявлений заболевания.

Ключевые слова: хронический гастродуоденит, вирусная инфекция, слизистая оболочка, местный иммунитет, дети, циклоферон.

The efficiency of immunomodulating therapy with cycloferon in children aged from 10 to 16 years with verified chronic gastroduodenitis was estimated. It was shown that the cycloferon treatment provided reliable increase of T- and B-cellular populations in mucous membranes of the stomach and duodenum, normalization of the number of CD8-lymphocytes, higher titers of IgG antibodies to herpes viruses 1 and 2. It also promoted reduction of inflammation in the mucous membranes along with reduction of the disease clinical signs.

Keywords: chronic gastroduodenitis, virus infection, mucous membrane, local immunity, children, cycloferon.

Введение

Внедрение в педиатрическую гастроэнтерологическую практику многочисленных современных лабораторных и инструментальных методов диагностики существенно расширило представление об этиологических факторах, а также о патогенетических особенностях развития хронических заболеваний верхних отделов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ).

В течение длительного времени считалось, что благодаря воздействию соляной кислоты слизистая оболочка (СО) желудка практически стерильна [1]. Открытие австралийскими учеными микроорганизма *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) стало переломным моментом во взглядах на природу воспалительных заболеваний верхних отделов желудочно-кишечного тракта [2].

На сегодняшний день общепризнанно, что *H. pylori* играет важную роль в патогенезе хронического гастрита (ХГ), язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки (ДПК), аденокарциномы и В-клеточной MALT-лимфомы желудка [3–5].

При углубленном изучении микрофлоры, колонизирующей СО желудка здоровых людей, были обнаружены лактобактерии, стрептококки, стафилококки, грибы рода *Candida*. Стерильность СО желудка была установлена только у 10% обследованных. При ХГ количество микроорганизмов, колонизирующих СО желудка, возрастает и увеличивается их видовой состав [6].

В последние годы широко обсуждается роль вирусов в этиологии хронических воспалительных заболеваний желудочно-кишечного тракта. В СО желудка и ДПК пациентов с ХГ были обнаружены антигены вируса простого герпеса (ВПГ) 1-го и 2-го типа, вируса Эпштейна-Барр (ВЭБ), вируса папилломы человека (ВПЧ) высокого канцерогенного риска (16-й, 18-й типы), цитомегаловируса (ЦМВ) [7–9].

© Коллектив авторов, 2014

Адрес для корреспонденции: 230015, Гродно, ул. Горького, 80. Кафедра клинической лабораторной диагностики, аллергологии и иммунологии УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Длительная персистенция вирусной и бактериальной инфекции в организме приводит к снижению специфических и неспецифических факторов иммунологической защиты организма, что требует комплексного подхода в лечении с учётом этиологических и патогенетических особенностей данных инфекций [10].

Несмотря на широкий арсенал противовирусных препаратов, лечение герпетической инфекции продолжает оставаться актуальной и весьма трудной задачей.

Современная патогенетическая терапия герпесвирусных инфекций предусматривает использование средств интерферонзаместительной терапии и применение препаратов, стимулирующих выработку эндогенного интерферона в организме, так называемых индукторов интерферонов.

Наличие широкого спектра фармакологических эффектов позволило препаратам из группы индукторов интерферонов занять достойное место в педиатрической практике. Данная группа препаратов представлена семейством высоко- и низкомолекулярных природных и синтетических соединений, обладающих антивирусным, иммуномодулирующим, противовоспалительным и противоопухолевым спектром действия [11].

Наиболее перспективным и детально изученным представителем индукторов эндогенного интерферона является циклоферон. Циклоферон подавляет репродукцию вирусов, активирует Th1-иммунный ответ, стимулирует адаптивный иммунитет, повышает устойчивость организма к вирусным и бактериальным инфекциям, являясь безопасным и эффективным лекарственным средством [12].

Цель настоящего исследования: изучить эффективность иммуномодулирующего препарата циклоферон при лечении детей с хроническим гастродуоденитом.

Материал и методы

На базе Гродненской областной детской клинической больницы обследовано 40 детей (25 мальчиков и 15 девочек). 20 детей (9 мальчиков и 11 девочек) в возрасте от 10 до 16 лет, медиана (Me) — 14,5 лет, нижняя квартиль (Q25) — 12 лет, верхняя квартиль (Q75) — 15 лет с верифицированным диагнозом ХГ составили основную группу.

Представители основной группы принимали препарат циклоферон в таблетках двумя курсами в возрастных дозировках по стандартной схеме (один раз в день в 1, 2, 4, 6, 8, 11, 14, 17, 20, 23-и сутки) с 2-недельным перерывом между курсами.

Перед назначением препарата у родителей было получено информированное добровольное согласие на проведение лечения их детей. Терапия проводилась только в случае клинически стабильного состояния пациентов и при отсутствии соматических заболеваний в состоянии декомпенсации.

Всем пациентам с диагностированной *H.pylori*-инфекцией была проведена стандартная трёхкомпонентная эрадикационная терапия.

Группа сравнения была сформирована из числа пациентов, госпитализированных в хирургическое отделение, с предварительным диагнозом острый аппендицит, у которых в ходе

предусмотренного протоколом клинического и инструментального обследования, включавшего фиброгастродуоденоскопию, предварительный диагноз был исключен. Критериями включения в группу сравнения было наличие информированного добровольного согласия родителей на проведение обследования их детей, отсутствие эндоскопических и морфологических изменений слизистой желудка и ДПК, а также отсутствие в анамнезе указаний на симптомы хронических заболеваний желудка и ДПК. Всего в эту группу было отобрано 20 детей (16 мальчиков и 4 девочки) в возрасте от 6 до 15 лет (Me — 10,5 лет, Q25 — 8 лет, Q75 — 14 лет).

Всем представителям основной группы двукратно, до и после лечения, а детям из группы сравнения однократно были проведены фиброгастродуоденоскопия и забор венозной крови. Интервал между первым и вторым обследованием в основной группе составлял 3 месяца.

Фиброгастродуоденоскопия выполнялась на аппарате «Olympus» (Япония) типа Gif P 30 по традиционной методике. В процессе эндоскопического исследования проводили прицельную биопсию СО антрального отдела и тела желудка, а также СО ДПК. Для морфологического исследования парафиновые срезы, окрашивали гематоксилином и эозином. Согласно критериям модифицированной Сиднейской системы, основные морфологические параметры оценивали полуколичественным способом по стандартной визуально-аналоговой шкале как слабые, умеренные и выраженные.

Стрептавидин-биотинным методом в парафиновых срезах биоптатов с помощью поликлональных кроличьих антител выявляли антигены ВПГ-1, ВПГ-2, с использованием моноклональных мышиных антител («Dako», Дания) — антигены ВЭБ, ЦМВ и вируса папилломы человека (ВПЧ). Продукты иммуногистохимической реакции выявляли по наличию светло-коричневых и тёмно-коричневых гранул в ядрах и цитоплазме клеток. Степень экспрессии антигенов вирусов оценивали полуколичественно: слабая, умеренная и выраженная.

Диагностику *H.pylori* проводили гистологически с использованием окраски полученного материала по Романовскому-Гимзе.

Методом иммуногистохимического типирования при помощи моноклональных антител («ДАКО», Дания) в СО желудка и ДПК определяли выраженность экспрессии CD45, CD3, CD4, CD8 и CD20. Интерпретацию результатов проводили с использованием количественной системы оценки реакции: высчитывали % клеток лимфоидного инфильтрата по отношению к площади стромы. Полученные результаты округлялись до десятков.

В сыворотке крови методом ИФА определяли уровни сывороточных антител классов IgM, IgG к вирусам герпеса 1-го и 2-го типа, а также антител класса IgM, IgG и IgA к капсидному антигену (VCA) вируса Эпштейна-Барр с использованием коммерческих тест систем фирм «Euroimmune» (Германия), «Вектор Бест» (Россия) и «Фармлэнд» (Беларусь).

Эффективность терапии у детей основной группы оценивалась по динамике проявлений, рассчитываемой путём вычитания исходных клинических, морфологических, иммунологических изменений и показателей инфицированности СО вирусами и *H.pylori* (в баллах) из соответствующих показателей (в баллах) после окончания лечения циклофероном:

(Динамика = Показатель_{после лечения} — Показатель_{до лечения}).

Полученные результаты были обработаны при помощи программы STATISTICA 10.0 (SN AXAR207F394425FA-Q). Соответствие распределения каждой анализируемой переменной Гаусовскому (нормальному) распределению оценивали с помощью теста Шапиро-Уилка. При сравнении двух зависимых групп пациентов по признакам, имеющим распределение, отличающееся от нормального, использовали критерий Вилкоксона (Z). При сравнении долей (%) использовали метод Фишера (Fisher exact test, two-tailed). Связи между измеряемыми переменными оценивали методом ран-

Таблица 1. Частота клинических проявлений до и после лечения

Показатели	До лечения (n=20)	После лечения (n=20)	p
Боль в животе	15 (75,0%)	6 (30,0%)	0,007
Пальпаторная болезненность	18 (90,0%)	3 (15,0%)	0,0001
Диспептический синдром	15 (75,0%)	5 (25,0%)	0,003

Таблица 2. Динамика морфологических показателей (в баллах) на фоне терапии

Показатели	До лечения (n=20)	После лечения (n=20)	p
Активность воспаления	3,50 (1,50—5,00)	0,00 (0,00—2,50)	0,002
Выраженность воспаления	5,00 (4,00—6,00)	4,00 (4,00—5,00)	0,07

говой корреляции Спирмена (R). Нулевая гипотеза (о нормальности распределения, отсутствии различий между переменными, отсутствии связи между переменными) отвергалась на уровне значимости $\alpha=0,05$ ($p \leq 0,05$) для каждого из использованных тестов. Результаты статистического анализа представлены в формате Me (Q25-Q75).

Результаты и обсуждение

При исследовании биопсийного материала СО гастродуоденальной области вирусные антигены были выявлены как у пациентов с ХГ, так и у детей из контрольной группы (70 и 50% соответственно, $p > 0,05$).

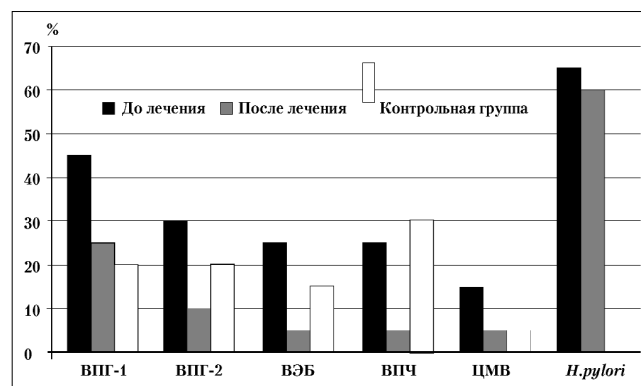
У пациентов основной группы антигены по видовой принадлежности распределились следующим образом: ВПГ-1 был диагностирован в 9 случаях (45,0%), ВПГ-2 — в 6 (30,0%), ВЭБ — в 5 (25,0%), ВПЧ — в 5 (25,0%), ЦМВ — в 3 (15,0% случаев). Установлена высокая частота сочетания вирусных инфекций в исследуемых отделах. У 6 (30,0%) детей в СО обнаружены антигены только одного из определяемых вирусов, сочетание двух и более вирусов встречалось у 8 (40,0%) обследованных.

В СО желудка и ДПК пациентов из контрольной группы ВПГ-1 был выявлен в 4 (20,0%) случаях, ВПГ-2 — в 4 (20,0%), ВЭБ — в 3 (15,0%), ВПЧ — в 6 (30,0%), ЦМВ был обнаружен только у 1 (5,0%) ребенка. Ассоциации нескольких вирусов были у 6 детей (30,0%) контрольной группы.

Обсеменение СО *H. pylori* было выявлено у 13 (65,0%) детей основной группы. При этом у 8 (40,0%) пациентов установлено наличие сочетанного бактериально-вирусного инфицирования исследуемых отделов.

До начала лечения дети основной группы чаще всего предъявляли жалобы на боль в животе, отрыжку, тошноту, снижение аппетита (табл. 1). У 90,0% пациентов при глубокой пальпации отмечалась болезненность в эпигастральной и пилорoduоденальной области. После завершения двух курсов терапии циклофероном дети отмечали улучшение общего самочувствия, значительное уменьшение или ликвидацию болевого и диспептического синдромов.

Установлено, что на фоне лечения произошло статистически значимое снижение активности воспалительного процесса, отмечена тенденция к

**Частота выявления инфекций в СО пациентов до и после лечения циклофероном, %**

достоверному снижению выраженности воспаления в СО желудка и ДПК (табл. 2).

Повторное исследование вирусного инфицирования биоптатов СО выявило снижение частоты обнаружения изучаемых вирусов. После проведенной терапии вирусные антигены были обнаружены у 6 (42,8%) из 14 детей первой группы (по сравнению с исходной частотой $p=0,01$). ВПГ-1 по-прежнему определялся в СО у 5 (25,0%) детей, ВПГ-2 у 2 (10,0%) пациентов, кроме того, было выявлено по 1 (5,0%) случаю инфицирования слизистых ВЭБ, ЦМВ и ВПЧ (рисунок). Достоверных различий в частоте выявления каждого из анализируемых вирусных антигенов по отдельности не установлено ($p > 0,05$ по сравнению с исходной частотой для каждой пары сравнений).

Эрадикации *H. pylori* удалось добиться только у 1 пациента. Вероятными причинами таких низких результатов лечения инфекции *H. pylori* является первичная либо вторичная резистентность данного возбудителя к антибактериальным препаратам, а также внутрисемейное реинфицирование.

После проведенной терапии в слизистых отмечалось существенное снижение степени как суммарной экспрессии вирусных антигенов: до лечения — 4,0 (0—8,5), после лечения — 0 (0—1,0) ($p=0,0009$), так и достоверное снижение степени экспрессии антигенов ВПГ-1, ВПГ-2, ВЭБ и ВПЧ по отдельности ($p < 0,05$ для каждого из перечисленных вирусов). Статистически значимой разницы в степени экспрессии антигенов ЦМВ

Таблица 3. Изменения иммунологических показателей в СО желудка и ДПК

Показатели	До лечения (n=20)	После лечения (n=20)	Группа сравнения (n=20)	P_{1-2}	P_{2-3}	P_{1-3}
CD45						
Тело желудка	30,0 (20,0-40,0)	40,0 (30,0-50,0)	50,0 (50,0-60,0)	0,001	0,003	0,00002
Антральный отдел	40,0 (30,0-40,0)	50,0 (40,0-50,0)	60,0 (55,0-60,0)	0,01	0,0009	0,0001
ДПК	40,0 (35,0-40,0)	45,0 (40,0-50,0)	50,0 (50,0-60,0)	0,01	0,01	0,0002
CD3						
Тело желудка	30,0 (25,0-40,0)	40,0 (30,0-50,0)	50,0 (50,0-60,0)	0,003	0,008	0,00004
Антральный отдел	40,0 (30,0-50,0)	50,0 (40,0-60,0)	60,0 (50,0-60,0)	0,003	0,32	0,00006
ДПК	40,0 (30,0-45,0)	50,0 (40,0-60,0)	60,0 (50,0-60,0)	0,01	0,03	0,00006
CD4						
Тело желудка	30,0 (30,0-40,0)	50,0 (40,0-60,0)	60,0 (55,0-70,0)	0,0003	0,01	0,000002
Антральный отдел	30,0 (30,0-40,0)	50,0 (40,0-65,0)	60,0 (55,0-70,0)	0,0004	0,03	0,00001
ДПК	30,0 (30,0-45,0)	55,0 (40,0-70,0)	60,0 (55,0-70,0)	0,0006	0,19	0,00001
CD8						
Тело желудка	20,0 (20,0-30,0)	30,0 (30,0-40,0)	40,0 (30,0-40,0)	0,0006	0,10	0,0003
Антральный отдел	20,0 (20,0-35,0)	30,0 (25,0-40,0)	40,0 (30,0-40,0)	0,002	0,21	0,0005
ДПК	20,0 (20,0-30,0)	30,0 (30,0-40,0)	40,0 (30,0-40,0)	0,0009	0,33	0,00008
CD20						
Тело желудка	30,0 (30,0-40,0)	40,0 (30,0-40,0)	50,0 (40,0-50,0)	0,004	0,008	0,00009
Антральный отдел	30,0 (30,0-50,0)	50,0 (30,0-50,0)	50,0 (40,0-60,0)	0,08	0,06	0,007
ДПК	30,0 (30,0-40,0)	40,0 (30,0-50,0)	50,0 (40,0-50,0)	0,01	0,05	0,002

Таблица 4. Динамика уровня противовирусных антител на фоне терапии

Антитела	До лечения	После лечения	Группа сравнения	P_{1-2}	P_{2-3}	P_{1-3}
EBV (VCA) Ig G (n=20)	69,15 (27,50-213,0)	117,35 (82,50-169,35)	124,15 (75,25-205,0)	0,55	0,80	0,12
EBV (VCA) IgM (n=15)	10,30 (8,40-13,40)	10,20 (8,89-13,30)	10,30 (8,06-14,75)	0,57	0,78	0,94
EBV (VCA) IgA (n=20)	2,07 (1,87-2,35)	2,06 (1,75-2,52)	2,48 (1,87-2,94)	0,85	0,18	0,44
HSV I-II IgG (n=15)	10,0 (3,10-12,60)	11,50 (2,40-16,00)	10,60 (2,32-13,70)	0,05	0,38	0,86
HSV I-II IgG титр (n=15)	400 (200-800)	800 (200-1600)	400 (100-1600)	0,01	0,63	0,90
HSV I-II IgM	0	0	0	—	—	—

на фоне проведённой терапии не было установлено ($p>0,05$).

При оценке исходного состояния местного иммунитета СО желудка и ДПК у детей основной группы было обнаружено статистически значимое снижение числа клеток, экспрессирующих все анализируемые маркёры (CD45, CD3, CD4, CD8, CD20) по сравнению с представителями группы сравнения (табл. 3). Контрольное исследование после окончания терапии, выявило положительную динамику изученных иммунологических показателей в СО желудка и ДПК.

Установлено, что после проведённой иммунотерапии в СО детей произошло достоверное увеличение числа клеток во всех субпопуляциях лимфоцитов, причём наиболее выраженные изменения произошли в Т-клеточном звене. Следует отметить отсутствие статистически значимых различий в количестве CD8+ клеток в СО пациентов, получивших циклоферон, и детей группы сравнения ($p>0,05$).

При анализе гуморального ответа на вирусную инфекцию было установлено, что специфические антитела класса IgM против вирусов герпеса 1-го и 2-го типа в диагностически значимых титрах не определялись ни у одного ребенка (табл. 4). Следует отметить повышение показателей, характеризующих уровень антител класса

IgG к вирусам герпеса 1-го и 2-го типа ($p=0,05$), а также достоверное увеличение титра к ним ($p=0,01$). Изменения уровней антител классов IgA, IgM и IgG к капсидному антигену ВЭБ после проведённой терапии были статистически незначимыми ($p>0,05$). Следует отметить наличие достоверной отрицательной связи между показателями, характеризующими динамику экспрессии ВПГ-1 и динамику титра антител класса IgG к вирусам герпеса 1-го и 2-го типа ($R=-0,52$, $p=0,04$). Вероятно, увеличение в сыворотке крови пациентов титра антител класса IgG к вирусам герпеса после приёма двух курсов циклоферона способствовало элиминации вируса ВПГ-1 из слизистых желудка и ДПК.

С помощью корреляционного анализа установлено наличие достоверной зависимости между показателями, характеризующими степень вирусной экспрессии после проведённого лечения, динамикой основных морфологических проявлений в СО. Так, динамика выраженности воспалительного процесса достоверно положительно коррелировала с динамикой экспрессии антигенов ВПГ-1 ($R=0,75$; $p=0,0001$), ВЭБ ($R=0,63$; $p=0,002$) и ВПГ-2 ($R=0,48$; $p=0,03$). Динамика активности воспаления была статистически значимо связана с динамикой экспрессии ВПГ-1 ($R=0,50$; $p=0,02$) и ВПГ-2 ($R=0,43$; $p=0,05$).

Не было обнаружено существенной зависимости между степенью экспрессии ВПЧ и ЦМВ и динамикой плазмоцитарной и нейтрофильной инфильтрации слизистых исследуемых отделов (во всех случаях $p > 0,05$). Таким образом, снижение экспрессии вирусных антигенов в клетках СО сопровождалось положительной морфологической динамикой. Полученные данные могут свидетельствовать о патогенетической роли ВПГ-1, ВПГ-2 и ВЭБ в развитии хронического воспаления слизистой желудка и ДПК.

В свою очередь, динамика вирусного инфицирования достоверно отрицательно коррелировала с динамикой лимфоцитарной инфильтрации слизистых: ВПГ-1 с CD3+ ($R = -0,47$; $p = 0,03$), ВЭБ с CD45+ ($R = -0,56$; $p = 0,009$), ВПЧ с CD 45+ ($R = -0,53$; $p = 0,01$). Вероятно, увеличение популяций лимфоцитов в СО на фоне проводимого лечения привело к снижению частоты обнаружения вирусных антигенов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шербаков П.Л., Корсунский А.А., Исаков В.А. Болезни органов пищеварения у детей при хеликобактериозе. М.: Медицинское информационное агентство, 2011; 10—17.
2. Warren J.R., Marshall B.J. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1983; 1: 1311—1315.
3. Correa P., Piazuelo M.B. *Helicobacter pylori* infection and gastric Adenocarcinoma. *US Gastroenterol Hepatol Rev* 2011; 7: 1: 59—64.
4. Marnelli A., Bautista-Quach et al. Gastrointestinal lymphomas: morphology, immunophenotype and molecular features. *J Gastrointest Oncol* 2012; 3: 3: 209—225.
5. Pietroiusti A., Luzzi I., Gomez M.J., Magrini A. *Helicobacter pylori* duodenal colonization is a strong risk factor for the development of duodenal ulcer. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 21: 7: 909—915.
6. Циммерман Я.С. Проблема хронического гастрита. Гастроэнтерология: руководство. М.: 2013; 2: 52—77.
7. Нелюбин В.Н., Мудров В.П., Сениашивили Р.И. Особенности инфицирования барьерных тканей. *Аллергол иммунол* 2010; 11: 2: 98—102.
8. Крулевский В.А., Петровский А.Н., Аничков В.Н., Новикова В.Н. Хронический гастрит и герпетические инфекции у лиц разного возраста. *Архив патол* 2010; 72: 1: 33—35.
9. Канькова Н.Ю., Жукова Е.А., Шабунина Е.И., Видманова Т.А. и др. Динамика клинко-морфологических и микробиологических изменений при хроническом гастродуодените у детей. *Практ мед* 2012; 6: 61: 86—89.
10. Романова Е.И., Красавцев Е.Л. Герпетическая инфекция, вызванная вирусами ВПГ-1 и ВПГ-2: Пособие. Минск: Зималетто, 2012; 36.
11. Исаков В.А. и др. Индукторы интерферонов — эффективные препараты для терапии вирусных инфекций. Герпесвирусные инфекции человека: руководство для врачей / Под ред. В. А. Исакова. СПб.: 2013; 12: 588—640.
12. Ершов Ф.И., Романцов М.Г., Мельникова И.Ю. Антивирусные препараты в практике педиатра: справ. практикующего врача. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013; 30—49.

Заключение

Применение иммуномодулирующего препарата циклоферон у детей, страдающих хроническими гастродуоденитами, приводит к достоверному увеличению Т- и В-клеточных популяций в слизистых оболочках желудка и двенадцатиперстной кишки, нормализации количества цитотоксических лимфоцитов, повышению титра антител класса IgG к вирусам герпеса 1-го и 2-го типа и, тем самым, способствует элиминации вирусов. В результате этого происходит снижение выраженности и активности воспалительного процесса в слизистых и уменьшение клинических проявлений заболевания.

Наличие статистически значимой связи между показателями, характеризующими редукцию экспрессии вирусных антигенов, и динамикой выраженности морфологических проявлений в слизистой оболочке желудка и ДПК подтверждает этиопатогенетическую роль герпесвирусных инфекций, прежде всего герпеса 1-го и 2-го типа в развитии хронического гастрита и дуоденита.

Влияние терапии Цитофлавином® на функцию эндотелия и церебральную гемодинамику у больных гипертонической энцефалопатией

Л. А. БЕЛОВА, В. В. МАШИН, О. Ю. КОЛОТИК-КАМЕНЕВА, А. Н. ПРОШИН

Ульяновский государственный университет

Cytoflavin® Effect on Endothelium Function and Cerebral Hemodynamics in Patients with Hypertensive Encephalopathy

L. A. BELOVA, V. V. MASHIN, O. YU. KOLOTIK-KAMENEVA, A. N. PROSHIN

Ulyanovsk State University, Ulyanovsk

Обследовано 140 больных гипертонической энцефалопатией (ГЭ), средний возраст $46,7 \pm 7,7$ лет. Больные основной группы (74 человека) получали Цитофлавин® (по 2 табл. $\times$ 2 раза в день) на фоне стандартной базисной терапии, больные основной группы, 66 человек — только базисную терапию. Оценена функция артериального эндотелия, проведено ультразвуковое исследование гемодинамики на пяти структурно-функциональных уровнях церебрального сосудистого русла. У всех пациентов с ГЭ выявлены: нарушение функции эндотелия, депрессия кровотока в артериальном русле сосудистой системы головного мозга, снижение реактивности интракраниальных вен, затруднение венозного оттока. В процессе терапии Цитофлавином® отмечено восстановление функции артериального эндотелия у пациентов при I стадии ГЭ, линейной и объёмной скорости кровотока по магистральным и интракраниальным церебральным артериям при I—II стадиях ГЭ, восстановление реактивности интракраниальных вен, линейной скорости кровотока только по магистральным венам до контрольных значений при I—III стадиях ГЭ. Установлена взаимосвязь между показателями церебральной гемодинамики и функциональным состоянием эндотелия сосудов.

Ключевые слова: Цитофлавин®, гипертоническая энцефалопатия, церебральная гемодинамика, дисфункция эндотелия, вены головного мозга.

One hundred forty patients (the average age of 46.7 ± 7.7 years) with hypertensive encephalopathy (HE) were observed. 74 patients of the main group received Cytoflavin® in a dose of 2 tablets twice a day in the standard basic therapy. 66 patients of the reference group received the basic therapy alone. The arterial endothelium function was estimated and ultrasonic examination of the hemodynamics at five structurally functional levels of the cerebral vascular course was used. All the patients with HE had endothelial dysfunction, blood-stream depression in the arterial course of the brain vascular system, decreased reactivity of the intracranial veins, difficulty in venous outflow. In the course of the therapy with Cytoflavin® restoration of the arterial endothelial function in the patients with HE I stage, the linear and volume speed of bloodstream in the main and intracranial cerebral arteries in the patients with HE I—II stages, restoration of the intracranial veins reactivity, the linear speed of bloodstream in intracranial veins in the patients with all three stages of HE, the linear speed of bloodstream in the main veins up to the control values in the patients with I—III stages of HE were observed. Interrelation between the values of the cerebral hemodynamics and the state of the endothelium function was shown.

Key words: Cytoflavin®, hypertensive encephalopathy, cerebral hemodynamics, endothelium dysfunction, cerebral veins.

Высокая распространённость в популяции, трудности диагностики и лечения цереброваскулярных заболеваний (ЦВЗ) определяют очевидный интерес к этой актуальной медицинской проблеме [1—3]. Наблюдается прогрессирующий рост не только острых инсультов, но и случаев хронических ЦВЗ, прежде всего гипертонической энцефалопатии (ГЭ) [4, 5].

В настоящее время достигнут значительный прогресс в изучении патогенеза ГЭ, при этом особая роль придаётся нарушению функции эндоте-

лиальной выстилки сосудистого русла [3, 6]. Показано, что эндотелий — это активный орган, осуществляющий гуморальную регуляцию тонуса сосудистой стенки, влияя на просвет сосуда в зависимости от скорости кровотока и кровяного давления на сосудистую стенку, метаболических потребностей участка ткани, снабжаемого данным сосудом, что и определяет реактивность сосудов [3, 7]. Дисфункция эндотелия, включающая структурные и функциональные изменения, выражается в неадекватном образовании и высвобождении различных биологически активных веществ [8]. К сожалению, существующие современные методики позволяют оценить состояние лишь артериального эндотелия [9], в то время как

© Коллектив авторов, 2014

Адрес для корреспонденции: 432017 Ульяновск, улица Льва Толстого, дом 42. Ульяновский государственный университет

значительный объём сосудистого русла мозга составляют венозные сосуды, и любые проявления венозной дисциркуляции оказывают существенное влияние на течение хронических ЦВЗ [5, 10–12]. Поэтому при подборе этиопатогенетической терапии больных с хроническими ЦВЗ необходимо принимать во внимание состояние не только артериального, но и венозного эндотелия, имеющего свои особенности. В настоящее время доказано, что по сравнению с эндотелием артерий, эндотелий вен обладает большей восприимчивостью к маркерам воспаления [13], запрограммирован на более высокий уровень адгезионных ответов [14], больше восприимчив к ишемии [15], обладает большей проницаемостью [16], способен к поток-зависимому ремоделированию под действием ретроградного кровотока [7]. Проведённые ранее исследования показали положительное влияние на эндотелий вен ряда препаратов, в том числе антиоксидантов, которые, за счёт подавления ингибирующего действия оксидантов на активность эндогенных антипротеиназ, благоприятно воздействуют на функции эндотелия и уменьшают риск повреждения гематоэнцефалического барьера [17].

Одним из препаратов, обладающих антиоксидантной активностью, является отечественный нейропротектор Цитофлавин®, эффективность которого при острых и хронических нарушениях мозгового кровообращения доказана в ранее проведённых многоцентровых плацебо-контролируемых исследованиях [2, 18]. Цитофлавин® представляет собой комплексную субстантную композицию из известных и широко применяемых метаболитов: янтарной кислоты в виде Na, N-метилглуксаммония сукцината, рибоксина и двух коферментов — рибофлавина и никотинамида. Препарат оказывает положительный эффект на процессы энергообразования в клетке, снижая выраженность оксидантного стресса и подавляя избыточный выброс возбуждающих нейротрансмиттеров в условиях ишемии [19]. До настоящего времени не был проведён анализ влияния препарата Цитофлавин® на функцию эндотелия сосудов.

Целью нашего исследования явилось изучение функции эндотелия и состояния церебральной гемодинамики больных ГЭ в процессе терапии препаратом Цитофлавин®.

Материал и методы

Исследование проводилось в условиях неврологического отделения ГУЗ ЦК МСЧ г. Ульяновска в течение 2011–2012 гг.

Обследовано 140 больных ГЭ в I–III стадиях, 38 (27,14%) мужчин в возрасте от 39 до 72 лет и 102 (72,86%) женщины в возрасте от 39 до 73 лет. Средний возраст всех больных — $46,7 \pm 7,7$ лет. Этиологическим фактором хронической мозговой недостаточности у всех обследованных была АГ длительностью более 5 лет ($7,3 \pm 4,77$ года). Среди них 53 (37,86%)

больных страдали АГ I степени, 50 (35,71%) — АГ II и 37 (26,43%) — АГ III степени (в соответствии с рекомендациями ВНОК, 2010). Пациенты разделены на группы в зависимости от стадии ГЭ в соответствии с классификацией Научного центра неврологии РАМН (1985). Обследуемые рандомизированы методом конвертов на две группы. Больные основной группы (ОГ), 74 человека, получали Цитофлавин® с 1 по 25 сутки включительно по 2 таблетки 2 раза в день на фоне стандартной базисной терапии, больные группы сравнения (ГС), 66 человек, — только базисную терапию. Исследуемые группы сопоставимы по возрасту, полу и тяжести состояния на момент включения. Для уточнения характера поражения выполнялась компьютерная (или магнитно-резонансная) томография головного мозга.

Пациентам, принимавшим участие в исследовании, в течение 3 месяцев до начала терапии не назначались нейропротективные препараты. Критериями исключения являлись: тяжёлые соматические, психические, эндокринные, гематологические, онкологические, инфекционные заболевания; церебральный инсульт в остром или восстановительном периоде до 1 года; беременность, лактация; приём других антиоксидантных или ноотропных препаратов в течение последних 3 месяцев. Контрольную группу (ГК) составили 30 практически здоровых людей, сопоставимых по полу и возрасту.

Функцию эндотелия оценивали с помощью ультразвуковой манжеточной пробы по методике D. Celermajer (1992) с исследованием поток-зависимой вазодилатации плечевой артерии. Нормальной реакцией плечевой артерии считали её дилатацию более чем на 10% от исходного диаметра. Эндотелийзависимую вазодилатацию (ЭЗВД) менее 10% рассматривали как эндотелиальную дисфункцию.

Изучены показатели церебральной гемодинамики с применением алгоритма комплексного ультразвукового (УЗ) исследования сосудистой системы головного мозга на основе концепции её построения на пяти функционально-морфологических уровнях [20]: первый структурно-функциональный уровень — общие сонные артерии (ОСА), внутренние сонные артерии (ВСА), позвоночные артерии (ПА); второй уровень — средняя мозговая артерия (СМА); третий уровень — микроциркуляторное русло (МЦР); четвёртый уровень — вены Розенталя (ВР); пятый уровень — внутренние яремные вены (ВЯВ), позвоночные вены (ПВ). Исследование проводилось УЗ-сканером Viamo SSA-640A (Toshiba, Япония) линейными датчиками частотой 7,5 МГц и 2,5 МГц. Оценивали структурные характеристики сосуда, линейную скорость кровотока (ЛСК) — максимальную ($V_{\max}$), минимальную ($V_{\min}$), усреднённую по времени максимальную ($TAV_{\max}$), индексы резистентности (IR) и пульсации (PI), объёмную скорость кровотока (ОСК) максимальную ($Vvol_{\max}$) и среднюю ($Vvol_{\text{med}}$). Исследование МЦР УЗ методами невозможно, поэтому изучали МЦР опосредованно, оценивая реактивность вен Розенталя (ВР) в пробе с ортостатической нагрузкой на вертикализаторе до 60–80°.

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с помощью пакета программ StatSoft Statistica 8.0.550 Portable (2007/Eng). Результаты представлены в виде среднего арифметического (M) и стандартного отклонения [SD]. В зависимости от типа распределения использовались параметрические или непараметрические методы статистического анализа. Статистически значимыми считались различия при уровне вероятности более 95% ($p < 0,05$).

Результаты исследований

Провели анализ показателей эндотелийзависимой вазодилатации (ЭЗВД) у больных ГЭ в динамике (табл. 1).

При оценке ЭЗВД у большинства пациентов с ГЭ выявлено её нарушение ($p > 0,05$). При исследовании на 25-й день отмечена положительная ди-

Таблица 1. Число больных ГЭ с нормальной функцией эндотелия при осмотре в динамике

Группа больных	25 сутки					
	I сутки		I стадия n (%)		II стадия n (%)	
	I стадия n (%)	II стадия n (%)	III стадия n (%)	I стадия n (%)	II стадия n (%)	III стадия n (%)
ОГ	2 (7,4)	0 (0)	1 (5)	16 (59)*	4 (14,8)	3 (16,7)
ГС	1 (4,2)	0 (0)	0 (0)	4 (16,7)	2 (8,3)	2 (11,1)

Примечание. * — $p < 0,05$ — статистически значимые различия при сравнении в динамике.

Таблица 2. Динамика показателей ЛСК и ОСК по ОСА у больных ГЭ

Стадии ГЭ	V _{max} , см/с, Me(SD)		V _{min} , см/с, Me(SD)		V _{med} , см/с, Me(SD)		V _{vol med} , мл/мин, Me(SD)		V _{vol max} , мл/мин, Me(SD)		V _{vol min} , мл/мин, Me(SD)	
	ОГ	ГС	ОГ	ГС	ОГ	ГС	ОГ	ГС	ОГ	ГС	ОГ	ГС
До лечения												
ГЭ I	84,6 (16,3)*	84,3 (14,6)*	21,8 (7,3)	22 (7,1)	42,4 (9,9)	42 (9,0)	239,0 (78,3)*	239,1 (84,2)	482,7 (137,3)*	484,1 (127,1)*	104,3 (19)	103,9 (17,3)
ГЭ II	77,1 (18,2)*	79,3 (16,2)*	21,7 (7,4)	21,9 (6,9)	41,4 (8,7)	41,3 (8,1)	239,1 (74,2)*	230,4 (91,2)	488,4 (136,5)*	485,7 (135,6)*	104,1 (17,5)	104 (17,1)
ГЭ III	81,6 (17,4)*	80,5 (17)*	21,6 (7,3)	21,6 (7,5)	40,7 (9,1)	41 (9,0)	230,4 (85,4)*	234,3 (70)*	493,5 (143,8)*	490,1 (120,4)*	105 (19,2)	105,2 (16)
В динамике												
ГЭ I	97 (21,4)	86,4 (15,9)*	23,2 (10,4)	22,9 (8,4)	45,4 (7,9)	43,7 (8,6)	265,3 (77,1)	236,6 (74,7)*	549,6 (120,1)	499,7 (118,4)*	100,2 (17)	101,2 (18,6)
ГЭ II	80,7 (18,6)*	82,3 (15,7)*	22,6 (8,3)	22,2 (9,1)	41,1 (9,1)	41,2 (8,0)	248,9 (78,6)*	234,6 (70,1)*	534,7 (124,3)*	491,4 (129,1)*	102,6 (12,6)	102,9 (14)
ГЭ III	81,7 (19,4)*	80,9 (17,1)*	22,1 (9,8)	22,1 (9,3)	40,8 (8,9)	41 (8,5)	249,4 (85,4)*	239,7 (82,4)*	525,9 (119,8)*	494,7 (118,7)*	101,5 (18,9)	102,6 (17,5)
ГК	96,7 (12,9)		24,5 (6,2)		46,6 (3,1)		263,9 (88,9)		563,4 (121)		93,2 (12,1)	

Примечание. Здесь и в табл. 3–8: * — $p < 0,05$ — статистически значимые различия при сравнении с ГК.

намика в виде увеличения числа пациентов с нормальной функцией эндотелия при I стадии ГЭ в группе, получавшей Цитофлавин® ($p < 0,04$). В ГС подобной динамики не установлено (см. табл. 1).

При анализе показателей ЭЗВД на 1-е и 25-е сутки наблюдения выявлено снижение ЭЗВД (7,9—6,1 [1,5—1,3]) во всех стадиях ГЭ по сравнению с ГК (13,5 [1,0], $p < 0,01$). Однако в процессе терапии Цитофлавином® при I стадии ГЭ отмечалось статистически значимое увеличение показателя ЭЗВД (11,3 [1,4], $p < 0,01$). В ГС улучшения данного показателя не произошло. Изучили состояние церебральной гемодинамики на всех структурно-функциональных уровнях сосудистой системы головного мозга.

Ультразвуковая характеристика состояния первого структурно-функционального уровня сосудистой системы головного мозга при ГЭ в динамике. Анализ структурных показателей и показателей, характеризующих периферическое сосудистое сопротивление (ПСС) ОСА до лечения, показал увеличение при III стадии ГЭ значений ТИМ в ОГ и ГС (1,0 [0,28—0,32] мм) и IP в ОГ и ГС (1,63 [0,29—0,37]) по сравнению с ГК (0,7 [0,2] мм, $p < 0,05$ и 1,58 [0,4], $p < 0,03$ соответственно). По ВСА значение IR было выше у больных в III стадии ГЭ в ОГ и ГС (0,72—0,74 [0,04—0,06], $p < 0,03$); IP — выше во всех стадиях ГЭ (1,12—1,19 [0,17—0,21]) по сравнению с ГК (1,03 [0,11], $p < 0,04$). По ПА также отмечалось повышение IR в ОГ и ГС (0,68 [0,04—0,08]) и IP в ОГ и ГС (1,11—1,14 [0,14—0,17]) в III стадии ГЭ по сравне-

нию с ГК (0,65 [82,6], $p < 0,05$, и 1,25 [0,17], $p < 0,03$ соответственно). В динамике данные показатели не изменились ни в одной из групп.

Исследовали скоростные показатели по ОСА у больных ГЭ (табл. 2).

Установлено снижение V_{max}, V_{vol med} и V_{vol max} по ОСА в ОГ и в ГС по сравнению с ГК во всех стадиях ГЭ ($p < 0,05$). На 25-е сутки наблюдения в группе, получавшей Цитофлавин®, данные показатели достигли контрольных значений при I стадии ГЭ ($p > 0,05$) (см. табл. 2).

Изучили гемодинамические показатели по ВСА (табл. 3).

По ВСА установлено снижение V_{max}, V_{min} и V_{vol max} при ГЭ I—III стадии во всех группах по сравнению с ГК ($p < 0,03$). В динамике в ОГ показатели V_{vol max} достигли контрольных значений ($p > 0,05$) при I стадии ГЭ. В ГС показатели остались прежними (см. табл. 3).

Проведён анализ скоростных показателей по ПА у больных ГЭ (табл. 4).

По ПА показатели V_{max}, V_{min} и V_{vol max} у больных ГЭ были ниже контрольных значений ($p < 0,02$) в обеих группах и на 25-е сутки терапии в ОГ стали сопоставимы с показателями ГК ($p > 0,05$) при I—II стадиях. В ГС показатели остались прежними (см. табл. 4).

Ультразвуковая характеристика состояния второго структурно-функционального уровня сосудистой системы головного мозга при ГЭ в динамике. При сравнении показателей, характеризую-

Таблица 3. Динамика скоростных показателей по ВСА у больных ГЭ

Стадии ГЭ	$V_{\max}$, см/с, Me (SD)		$V_{\min}$, см/с, Me (SD)		$Vvol_{\text{med}}$, мл/мин, Me (SD)		$Vvol_{\text{max}}$, мл/мин, Me (SD)		$Vvol_{\text{min}}$, мл/мин, Me (SD)	
	ОГ	ГС	ОГ	ГС	ОГ	ГС	ОГ	ГС	ОГ	ГС
До лечения										
ГЭ I	74,8 (5,7)*	74,0 (6,6)*	21,8 (4,3)*	21,8 (3,9)*	254,5 (86,3)	260,1 (85,3)	271,75 (104,1)*	282,1 (110,1)*	90,3 (19,6)	92,6 (19,3)
ГЭ II	72,0 (9,3)*	71,8 (7,7)*	25,0 (3,9)*	24,8 (4,3)*	270,1 (72,7)	271 (89,5)	271,9 (110,9)*	279,7 (115,6)*	100,7 (17,1)	100 (12,4)
ГЭ III	61,8 (5,7)*	62,4 (4,9)*	22,2 (3,8)*	21,4 (5,6)*	260,4 (75,8)	262,3 (74,9)	273 (100,5)*	270,1 (106,4)*	100,9 (17,7)	101,8 (16,3)
В динамике										
ГЭ I	77,4 (9,1)*	75,1 (5,2)*	24,7 (4,5)*	22,5 (4,1)*	277,3 (81,9)	261,3 (70,7)	305,8 (121,1)	283,5 (115,1)*	99,4 (14,9)	101,5 (17,2)
ГЭ II	73,2 (7,9)*	72,8 (6,8)*	25,3 (4,2)*	24,8 (4,0)*	268 (79,1)	270,7 (72,8)	281,9 (111,3)*	281,4 (119,4)*	101,7 (14,6)	102 (13,6)
ГЭ III	70,3 (7,1)*	67,4 (8,0)*	24,7 (5,0)*	22,0 (3,7)*	271,3 (85,1)	265,8 (77,4)	269,7 (88,6)*	271,8 (100,6)*	101,1 (16,7)	101,5 (15,5)
ГК	83,7 (7,2)		32,4 (5,9)		270 (82,6)		310,7 (111,5)		92,1 (13,7)	

Таблица 4. Динамика скоростных показателей ПА у больных ГЭ

Стадии ГЭ	$V_{\max}$, см/с, Me (SD)		$V_{\min}$, см/с, Me (SD)		$Vvol_{\text{med}}$, мл/мин, Me (SD)		$Vvol_{\text{max}}$, мл/мин, Me (SD)		$Vvol_{\text{min}}$, мл/мин, Me (SD)	
	ОГ	ГС	ОГ	ГС	ОГ	ГС	ОГ	ГС	ОГ	ГС
До лечения										
ГЭ I	37,3 (5,5)*	37,0 (4,9)*	15,3 (5,8)*	15,6 (4,9)*	54,5 (26,3)	50,1 (25,3)	85,3 (50,1)*	85,79 (51,1)*	20,3 (15,6)	22,6 (19,3)
ГЭ II	38,8 (5,1)*	39,0 (5,0)*	12,0 (6,8)*	12,0 (7,0)*	50,1 (22,7)	51 (29,5)	95,2 (51,9)*	95,6 (45,6)*	20,7 (17,1)	20,0 (12,4)
ГЭ III	40,1 (4,9)*	40,1 (3,9)*	14,3 (5,7)*	15,0 (6,8)*	50,4 (25,8)	52,3 (24,9)	101,6 (49,5)*	101,1 (48,4)*	20,9 (17,7)	21,8 (16,3)
В динамике										
ГЭ I	50,1 (3,9)	37,2 (4,8)*	18,6 (6,2)	15,6 (5,0)*	47,3 (21,9)	51,3 (20,7)	110,3 (61,1)	85,1 (55,1)*	29,4 (14,9)	21,5 (17,2)
ГЭ II	50,0 (4,6)	38,3 (4,7)*	17,8 (6,7)	12,4 (8,0)*	48 (29,1)	50,7 (22,8)	108,9 (51,3)	96,2 (59,4)*	21,7 (14,6)	22,0 (13,6)
ГЭ III	40,4 (5,3)*	40,3 (4,6)*	15,5 (6,4)*	14,8 (7,2)*	51,3 (25,1)	45,8 (27,4)	101,7 (48,6)*	100,3 (60,6)*	21,1 (16,7)	21,5 (15,5)
ГК	56,4 (5,8)		19,7 (6,4)		49,3 (22,6)		120,4 (111,5)		22,1 (13,7)	

Таблица 5. Динамика скоростных показателей ПА у больных ГЭ

Стадии ГЭ	$V_{\max}$, см/с, Me (SD)		$V_{\min}$, см/с, Me (SD)		V_{med} , мл/мин, Me (SD)	
	ОГ	ГС	ОГ	ГС	ОГ	ГС
До лечения						
ГЭ I	110,2 (16,3)*	1104,3 (14,6)*	50,7 (11,3)*	50,1 (11,1)*	77,3 (10,9)*	77,6 (10,0)*
ГЭ II	107,9 (18,2)*	107,1 (16,2)*	50,8 (11,4)*	50,3 (10,9)*	76,5 (9,7)*	76,0 (10,1)*
ГЭ III	104,5 (17,4)*	103,9 (17,1)*	46,81 (12,3)*	46,2 (10,5)*	72,3 (9,1)*	71,9 (9,0)*
В динамике						
ГЭ I	131,7 (20,2)	113,1 (15,9)*	61,7 (10,4)	52,5 (11,4)*	80,0 (9,9)	79,1 (9,6)*
ГЭ II	111,3 (18,6)*	113,4 (15,7)*	51,2 (11,3)*	51,7 (11,1)*	78,3 (10,1)*	77,3 (10,0)*
ГЭ III	109,4 (19,4)*	106,7 (17,3)*	54,1 (11,8)*	49,9 (10,3)*	73,5 (9,9)*	72,7 (9,5)*
ГК	133,7 (22,9)		62,5 (10,2)		92,5 (6,1)	

ших ПСС в СМА при ГЭ, выявлено повышение IR в I стадии в ОГ и ГС (0,61 [0,3—0,4]) по сравнению с ГК (0,57 [0,26], $p < 0,05$). Показатели PI (0,8—0,85 [0,11—0,15]) во всех стадиях ГЭ соответствовали контрольным значениям (0,84

[0,11], $p > 0,05$). На 25-е сутки исследования достоверных изменений данных показателей не выявлено ни в одной из групп.

Проведена оценка ЛСК по СМА у больных ГЭ в динамике (табл. 5).

Таблица 6. Динамика показателей кровотока по ВР в ответ на тест с ортостатической нагрузкой в ОГ.

Показатели	$V_{\max}$, см/с						$V_{\min}$, см/с					
	до лечения			в динамике			до лечения			в динамике		
	I ст	II ст	III ст	I ст	II ст	III ст	I ст	II ст	III ст	I ст	II ст	III ст
ОГ												
Фон	13,5 (4,1)*	13,4 (4,7)*	13,3 (4,0)*	16,1 (3,3)	16,0 (2,7)	16,0 (3,6)	9,3 (2,9)*	9,1 (2,3)*	9,1 (3,1)*	12,3 (2,7)	12,2 (2,6)	12,4 (2,9)
Ортостаз	12,9 (3,4)	12,9 (3,1)	12,9 (3,5)	13,1 (3,0)#	13,5 (3,2)#	13,3 (3,1)#	9,1 (2,8)	9,0 (2,9)	9,1 (2,6)	7,6 (2,5)#	7,3 (2,6)#	7,2 (2,5)#
ГС												
Фон	13,2 (4,1)*	13,0 (4,3)*	13,1 (4,9)*	13,3 (3,5)*	13,6 (3,3)*	13,3 (3,0)*	9,2 (2,5)*	9,1 (2,8)*	9,0 (2,4)*	10,9 (3,0)*	10,2 (2,5)*	10,0 (2,5)*
Ортостаз	12,5 (3,5)	12,6 (3,2)	12,5 (3,4)	12,0 (3,0)	12,5 (2,9)	12,4 (3,1)	9,2 (2,7)	9,0 (3,0)	9,1 (2,9)	10,0 (3,0)	10,7 (2,9)	10,3 (2,9)
ГК фон				16,0 (4,1)						12,8 (4,1)		

Примечание. # — $p < 0,05$ — статистически значимые различия по сравнению с фоновыми показателями.

Таблица 7. Показатели ЛСК и ОСК по ВЯВ у больных ГЭ в динамике

Стадии ГЭ	$V_{\max}$, см/с, Me (SD)		V_{med} , см/с, Me (SD)		$V_{\text{vol}}_{\max}$, мл/мин, Me (SD)	
	ОГ		ГС		ОГ	
До лечения						
ГЭ I	24,6 (16,3)*	24,6 (15,2)*	16,9 (11,9)*	17,2 (10,4)*	424,6 (164,9)*	423,2 (119,9)*
ГЭ II	29,6 (14,3)*	29,4 (16,7)*	19,5 (10,3)*	19,4 (10,8)*	423,9 (107,3)*	421,9 (158,4)*
ГЭ III	33,9 (15,4)*	34,1 (16,3)*	19,8 (10,1)*	19,5 (11)*	416,7 (131,8)*	421,1 (128,2)*
В динамике						
ГЭ I	41,7 (18,1)	31,6 (15,0)*	21,8 (9,3)	17,5 (9,9)*	547,33 (137,7)	438,3 (118,9)*
ГЭ II	44,3 (19,6)	30,6 (12,7)*	20,2 (9,1)	19,2 (11,1)*	552,7 (143,9)	433,7 (128,9)*
ГЭ III	44,6 (20,4)	39,47 (14,4)*	22,3,6 (9,7)	19,0 (9,5)*	521,1 (136,6)	424,5 (140,7)*
ГК	49,4 (20,7)		23,8 (6,1)		523,9 (112,6)	

Установлена депрессия кровотока по СМА в виде снижения $V_{\max}$, $V_{\min}$, V_{med} по сравнению с ГК ($p < 0,02$). В процессе терапии Цитофлавином® данные показатели при I стадии ГЭ стали сопоставимы с контрольными ($p > 0,05$). Подобной динамики в группе сравнения не наблюдалось (см. табл. 5).

Ультразвуковая характеристика состояния третьего и четвертого структурно-функциональных уровней сосудистой системы головного мозга при ГЭ в динамике. Изучены линейные скоростные показатели и показатели реактивности ВР у больных ГЭ (табл. 6).

До начала лечения отмечалось снижение фоновых показателей ЛСК по ВР у всех больных ГЭ по сравнению с ГК ($p < 0,001$) и реактивности ВР. В процессе терапии показатели ЛСК в ОГ стали сопоставимы с показателями ГК ($p > 0,05$), также установлено снижение ($p < 0,002$) ЛСК в ортостазе по сравнению с фоновыми значениями при всех стадиях ГЭ (табл. 6). В ГС подобной динамики не выявлено.

Ультразвуковая характеристика состояния пятого структурно-функционального уровня сосудистой системы головного мозга при ГЭ в динамике. Выявлено изменение показателей, характеризующих ПСС по сосудам пятого структурно-функционального уровня при ГЭ III стадии, в виде повышения IR по ВЯВ (0,77—0,79 [0,2—0,25]) и по ПВ

(0,74—0,75 [0,23—0,31]) по сравнению с ГК (0,74 [0,2], $p < 0,04$, и 0,7 [0,16], $p < 0,05$ соответственно). На 25-е сутки наблюдения данные показатели оставались прежними в обеих группах.

Исследована динамика показателей ЛСК и ОСК по ВЯВ у больных ГЭ (табл. 7).

Установлено снижение показателей $V_{\max}$, V_{med} и $V_{\text{vol}}_{\max}$ по ВЯВ во всех стадиях по сравнению с ГК ($p < 0,02$). На 25-е сутки в ОГ отмечено восстановление данных показателей при I—III стадиях ГЭ до уровня контрольных значений ($p > 0,05$). В ГС подобной динамики не выявлено (см. табл. 7).

Изучили динамику скоростных показателей по ПВ у больных ГЭ (табл. 8).

По ПВ при всех стадиях ГЭ зарегистрировано повышение $V_{\max}$, $V_{\min}$, $V_{\text{vol}}_{\text{med}}$, $V_{\text{vol}}_{\max}$, $V_{\text{vol}}_{\min}$ по сравнению с ГК ($p < 0,04$). В процессе терапии Цитофлавином® отмечено снижение показателей ЛСК в I—III стадиях ГЭ до показателей ГК ($p > 0,05$). В ГС значения остались прежними (см. табл. 8).

Проведён корреляционный анализ между показателями ЭЗВД и церебральной гемодинамики на каждом структурно-функциональном уровне, на каждой стадии ГЭ (табл. 9).

При изучении взаимосвязей между показателями гемодинамики сосудов и сосудодвигательной функцией эндотелия корреляционный анализ выявил умеренные прямые взаимосвязи

Таблица 8. Показатели ЛСК по ПВ у больных ГЭ в динамике

Стадии ГЭ	V _{max} , см/с, Me(SD)		V _{min} , см/с, Me(SD)		V _{med} , см/с, Me(SD)		Vvol _{med} , мл/мин, Me(SD)		Vvol _{max} , мл/мин, Me(SD)		Vvol _{min} , мл/мин, Me(SD)	
	ОГ	ГС	ОГ	ГС	ОГ	ГС	ОГ	ГС	ОГ	ГС	ОГ	ГС
До лечения												
ГЭ I	20,4 (17,5)*	20,1 (16,9)*	13,6 (4,7)*	13,6 (4,0)*	31,6 (11,6)*	33,0 (11,1)*	13,1 (6,1)*	13,4 (5,8)*	24,6 (18,6)*	24,0 (18,0)*	7,7 (1,3)*	7,4 (1,7)*
ГЭ II	20,5 (15,8)*	20,5 (15,4)*	15,6 (6,3)*	15,8 (6,7)*	32,8 (11,5)*	34,0 (10,7)*	11,4 (4,8)*	11,7 (5,1)*	26,8 (28,9)*	26,6 (29,0)*	7,3 (1,4)*	7,9 (1,3)*
ГЭ III	20,4 (16,7)*	20,8 (17,1)*	16,2 (2,5)*	16,4 (2,3)*	33,5 (9,1)*	34,1 (8,1)*	14,5 (9,0)*	14,0 (9,3)*	22,8 (4,4)*	22,5 (4,9)*	7,8 (1,1)*	7,8 (1,5)*
В динамике												
ГЭ I	15,2 (17,7)	19,4 (16,0)*	7,5 (3,5)	13,2 (3,0)*	20,8 (8,4)	32,3 (8,4)*	11,4 (6,4)*	11,9 (7,1)*	22,5 (18,7)*	23,2 (18,3)*	7,6 (1,2)*	7,3 (1,9)*
ГЭ II	15,1 (15,4)	20,1 (15,0)*	7,3 (2,8)	15,7 (2,1)*	24,9 (12,3)	32,6 (14,1)*	10,3 (3,8)*	11,7 (3,0)*	24,7 (28,3)*	25,1 (28,5)*	7,5 (1,3)*	7,6 (1,5)*
ГЭ III	15,3 (15,7)	20,4 (16,5)*	8,1 (1,3)	16,6 (1,9)*	26,7 (8,5)	32,2 (9,7)*	13,8 (9,2)*	13,9 (9,7)*	22,0 (13,8)*	22,1 (13,1)*	7,6 (1,2)*	7,7 (1,3)*
ГК	16,5 (0,2)		9,73 (0,5)		24,6 (10,6)		7,2 (0,3)		19,5 (0,2)		4,1 (0,02)	

Таблица 9. Взаимосвязь показателей ЭЗВД и гемодинамики сосудов при ГЭ

Сравниваемые параметры	ГЭ I				ГЭ II				ГЭ III			
	1-е сутки		25-е сутки		1-е сутки		25-е сутки		1-е сутки		25-е сутки	
	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p
ОСА V _{max} / ЭЗВД	0,34	0,003	0,47	0,01	0,45	0,001	0,27	0,001	0,34	0,001	0,18	0,008
ОСА V _{min} / ЭЗВД	0,49	0,006	0,35	0,01	0,49	0,006	0,35	0,01	0,49	0,006	0,35	0,01
ВСА V _{max} / ЭЗВД	0,41	0,04	0,45	0,01	0,46	0,02	0,35	0,01	0,40	0,04	0,40	0,05
ВСА V _{min} / ЭЗВД	0,41	0,05	0,32	0,01	0,39	0,04	0,36	0,02	0,34	0,02	0,45	0,05
ПА V _{max} / ЭЗВД	0,45	0,01	0,19	0,002	0,11	0,05	0,17	0,008	0,40	0,05	0,43	0,05
СМА V _{max} / ЭЗВД	0,34	0,02	0,48	0,05	0,42	0,04	0,46	0,04	0,38	0,02	0,40	0,05
ВР V _{min} фон / ЭЗВД	0,40	0,001	0,35	0,01	0,40	0,001	0,17	0,001	0,38	0,02	0,22	0,04
ВР V _{max} орт / ЭЗВД	0,31	0,05	0,40	0,001	0,30	0,02	0,35	0,01	0,35	0,02	0,35	0,01
ВР V _{min} орт / ЭЗВД	0,40	0,001	0,14	0,001	0,45	0,01	0,18	0,008	0,42	0,002	0,16	0,005
ВЯВ V _{max} / ЭЗВД	0,50	0,04	0,46	0,02	0,51	0,03	0,40	0,04	0,47	0,05	0,46	0,02
ВЯВ V _{med} / ЭЗВД	0,47	0,02	0,39	0,04	0,43	0,04	0,34	0,02	0,48	0,02	0,39	0,04
ВЯВ Vvol _{max} / ЭЗВД	0,49	0,03	0,35	0,01	0,43	0,01	0,40	0,05	0,40	0,001	0,35	0,01

ЭЗВД со скоростными гемодинамическими показателями по сосудам всех пяти уровней, при всех стадиях ГЭ до и после лечения (табл. 9). Статистически значимых корреляций между ЭЗВД и структурными показателями выявлено не было.

Обсуждение результатов

Проведённое исследование показало, что курсовая терапия препаратом Цитофлавин® по 2 таблетки 2 раза в день, в течение 25 дней приводит к улучшению ЭЗВД при I стадии ГЭ, восстановлению гемодинамических показателей по сосудам первого структурно-функционального уровня при I—II стадиях ГЭ, по сосудам второго структурно-функционального уровня — при I стадии заболевания. При исследовании состояния третьего структурно-функционального уровня выявлено снижение реактивности ВР до начала лечения, свидетельствующее о недостаточности функционального резерва мозга, страдающего в первую очередь [3]. В процессе терапии Цитофлавином® отмечена адекватная реактивность ВР в пробе с ортостазом во всех стадиях ГЭ, что свидетельствует о восстановлении функционального резерва мозга, состояние которого во многом определяет

прогноз, выбор метода лечения и, самое главное, характеризует эффективность последнего [12]. Также в процессе лечения препаратом Цитофлавин® произошло восстановление кровотока на пятом структурно-функциональном уровне при всех стадиях ГЭ.

Проведение корреляционного анализа показало наличие прямой взаимосвязи между показателями ЭЗВД и ультразвуковыми характеристиками церебрального кровотока на всех структурно-функциональных уровнях сосудистой системы головного мозга. При этом улучшение состояния артериального эндотелия при I стадии ГЭ у больных ОГ сопровождалось улучшением церебральной артериальной гемодинамики при I—II стадиях ГЭ. Наличие прямой взаимосвязи между состоянием артериального эндотелия и показателями венозной гемодинамики, вероятно можно объяснить артерио-венозными взаимоотношениями и концепцией энцефалопатии пульсовой волны [5, 10]. Можно предположить, что существует аналогичная зависимость между состоянием венозного эндотелия и венозной гемодинамикой. Поскольку гемодинамика вен у больных ОГ улучшилась при всех

стадиях ГЭ, то, вероятно, и функция венозного эндотелия у больных данной группы улучшилась при всех стадиях ГЭ.

В свете современных представлений, на определённом этапе развития болезни дальнейшее её прогрессирование определяется уже не начальными причинами, приведшими к заболеванию, а нарушением функции эндотелия, на нормализацию которой должны быть направлены наши усилия [3, 9]. В связи с этим положительное воздействие терапии препаратом Цитофлавин® на артериальный эндотелий при ранних стадиях ГЭ и предполагаемое положительное воздействие на функцию венозного эндотелия при всех стадиях ГЭ является крайне важным.

Таким образом, оценка функции эндотелия с определением показателей церебральной гемодинамики имеет диагностическое и прогностическое значение, а также является необходимым условием для выбора оптимального лечебного комплекса при ГЭ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сковороца В.И. и др. Становление системы оказания медицинской помощи больным с церебральным инсультом в Российской Федерации. Мат. Всерос. научн.-практ. конф. «Совершенствование оказания медицинской помощи больным с сосудистыми заболеваниями», Реал Тайм. М.: 2011; 13—33.
2. Суслина З.А., Ключева Е.Г., Пирадов М.А. и др. Эффективность Цитофлавина при хронической ишемии головного мозга. Клин мед 2010; 3—10.
3. Суслина З.А., Фоякин А.В., Гераскина Л.А., Машин В.В., Трунова Е.С., Машин В.В., Глебов М.В. Практическая кардионеврология. М.: ИМА-ПРЕСС, 2010; 304.
4. Машин В.В., Белова Л.А., Сапрыгина Л.В., Кравченко М.А., Варакин Ю.Я., Гнедовская Е.В., Суслина З.А. Факторы риска развития цереброваскулярных заболеваний по данным скрининга популяции среднего возраста г. Ульяновска. Анн клин экспер неврол 2014; 8: 1: 4—9.
5. Henry-Feugeas M.C., Koskas P. Cerebral vascular aging: extending the concept of pulse wave encephalopathy through capillaries to the cerebral veins. Chin Med J 2012; 125: 7: 1303—1309.
6. Белова Л.А., Машин В.В., Никитин Ю.М., Белова Н.В., Ниязова Р.М., Рыкер С.А. Дисфункция эндотелия и состояние структурно-функциональных уровней сосудистой системы головного мозга при гипертонической энцефалопатии. Неврол вест 2012; 1: 44: 3—9.
7. Adamson R.H., Sarai R.K., Altangerel A., Clark J.F., Weinbaum S., Curry F.E. Microvascular permeability to water is independent of shear stress, but dependent on flow direction. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2013; 11: H1077—H1084.
8. Landmesser U., Hornig B., Drexler H. Pharmacological approaches to improve endothelial repair mechanisms. Circulation 2004; 109: 21: suppl. 1: 1129—1133.
9. Celermajer D. S. et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk atherosclerosis. Lancet. 1992; 340: 1111—1115.
10. Белова Л.А. Роль артериовенозных взаимоотношений в формировании клинко-патогенетических вариантов гипертонической

Выводы

1. Состояние церебральной гемодинамики взаимосвязано с функциональным состоянием эндотелия сосудов.
2. Терапия препаратом Цитофлавин® улучшает функцию артериального эндотелия у пациентов в I стадии ГЭ.
3. Терапия препаратом Цитофлавин® оказывает положительное влияние на церебральную гемодинамику в артериальном русле при I—II стадиях ГЭ, в венозном русле — при всех стадиях заболевания.
4. Терапия препаратом Цитофлавин® способствует нормализации реактивности интракраниальных вен и, следовательно, функционального резерва головного мозга.
5. Препарат Цитофлавин® показан в комплексной терапии больных с ГЭ, особенно на ранней стадии заболевания.

энцефалопатии. Журн неврол психиатрии им. С.С.Корсакова. 2012; 6: 8—12.

11. Машин В. В., Кадыков А.С. Гипертоническая энцефалопатия. Клиника и патогенез. Ульяновск, 2002; 138.
12. Шумилина М.В. Комплексная ультразвуковая диагностика патологии периферических сосудов. Учебно-методическое руководство. М.: 2012; 384.
13. Liu M., Kluger M.S., D'Alessio A., Garcia-Cardena G., Pober J.S. Regulation of arterial-venous differences in tumor necrosis factor responsiveness of endothelial cells by anatomic context. Am J Pathol 2008; 11: 1088—1099.
14. Haselton F.R., Dworska E., Evans S.S., Hoffman L.H., Alexander J.S. Modulation of retinal endothelial barrier in an *in vitro* model of the retinal microvasculature. Exp Eye Res. 1996; 11: 211—222.
15. Morita K., Sasaki H., Furuse M., Tsukita S. Endothelial claudin: claudin-5/TMVCF constitutes tight junction strands in endothelial cells. J Cell Biol 1999; 147: 185—194.
16. Wang X., Feuerstein G.Z. Induced expression of adhesion molecules following focal brain ischemia. J Neurotrauma 1995; 11: 825—832.
17. Minagar A., Alexander J.S., Schwendimann R.N., Kelley R.E., Gonzalez-Toledo E., Jimenez JJ, Mauro L, Jy W., Smith S.J. Combination therapy with interferon beta-1a and doxycycline in multiple sclerosis: an open-label trial. Arch Neurol 2008; 11: 199—204.
18. Белова Л.А., Машин В.В., Колотик-Каменева О.Ю. и др. Эффективность Цитофлавина у больных гипертонической энцефалопатией с конституциональной венозной недостаточностью». Журн неврол психиатр им. С.С. Корсакова 2012; 8: 21—26.
19. Коваленко А.Л., Романцов М.Г., Петров А.Ю. Фармакологическая активность янтарной кислоты и перспектива её применения в клинике. Сборник статей / Под ред. М.Г. Романцова. СПб.: 6—20.
20. Белова Л. А., Никитин Ю.М., Машин В.В., Белов В.Г. Применение алгоритма комплексного ультразвукового исследования сосудистой системы головного мозга при гипертонической энцефалопатии. SonAce-International 2011; 1: 16—18.

Молекулярно-импринтированные полимеры для макролидов, аминогликозидов и некоторых других биосинтетических антибиотиков

М. И. ЯХКИНД, К. Р. ТАРАНЦЕВА, М. А. МАРЫНОВА, П. А. СТОРОЖЕНКО, М. М. РАСУЛОВ

Пензенская государственная технологическая академия, Пенза

Государственный научно-исследовательский институт химии и технологии элементоорганических соединений, Москва

Molecular Imprinted Polymers for Macrolides, Aminoglycosides and Some Other Biosynthetic Antibiotics

M. I. YAKHKIND, K. R. TARANTSEVA, M. A. MARYNOVA, P. A. STOROZHENKO, M. M. RASULOV

Penza State Technological Academy, Penza

State Research Institute of Chemistry and Technology of Elementoorganic Compounds, Moscow

Проведён анализ описанных в литературе молекулярно-импринтированных полимеров (МИП) для макролидов, аминогликозидов и некоторых других биосинтетических антибиотиков, чтобы оценить возможность использования МИП для сорбционного выделения этих антибиотиков.

Ключевые слова: молекулярно-импринтированные полимеры, биосинтетические макролиды и аминогликозиды, линкомицин А, рифамицин SV, ванкомицин, сорбционное выделение.

Molecular imprinted polymers (MIP) for macrolides, aminoglycosides and some other biosynthetic antibiotics described in the literature were analysed with a purpose of evaluating their possible use for the antibiotics sorption.

Key words: molecular imprinted polymers, biosynthetic macrolides and aminoglycosides, lincomycin A, rifamycin SV, vancomycin, sorption.

В последние годы, в связи с появлением и развитием новых технологий, внимание исследователей привлекают молекулярно-импринтированные полимеры (МИП), которые обладают высокой селективностью и сорбционной ёмкостью в отношении используемой при их получении целевой молекулы и, во многих случаях, наиболее близких к ней по структуре соединений.

Основные способы получения МИП, их свойства и возможности применения описаны в обзорах [1, 2]. Для их получения проводят сополимеризацию функционального и сшивающего мономеров в присутствии целевой молекулы (шаблона), которую затем удаляют — этот процесс и получил название молекулярного импринтинга. МИП применяют для различных целей, например, для выделения и очистки продуктов в фармацевтической, химической и биотехнологической промышленности, очистки питьевой и сточной вод, в качестве катализаторов вместо ферментов и т.д. Однако чаще всего встречаются

работы аналитического характера — например, твёрдофазная экстракция (ТФЭ) при подготовке проб, хроматография, и т.д.

Целью настоящей работы является систематизация и анализ представленной в последние годы литературе информации по МИП для макролидов, аминогликозидов и других биосинтетических антибиотиков (кроме тетрациклинов и пенициллинов), чтобы оценить возможность использования МИП для их сорбционного выделения. Обзоров подобного типа нами не обнаружено, однако близкий по тематике обзор, посвящённый применению МИП для анализа различных антибиотиков, включая биосинтетические, был опубликован в 2006 году [3].

Макролиды. В работах [4–6] описано получение МИП эритромицина А с функциональным мономером метакриловой кислотой (МАК) для ТФЭ, в работе [7] — получение МИП тилозина этого типа. Кроме того, описано получение подобных МИП эритромицина А осадительной полимеризацией, при которой образуются наночастицы [8, 9], и суспензионной полимеризацией, дающей микросферы [10–12] (в этом случае также можно использовать акриловую кислоту

© Коллектив авторов, 2014

Адрес для корреспонденции: E-mail: maksud@bk.ru

(АК) [10]). Схожим образом суспензионной полимеризацией с образованием микросфер получают и МИП этилсукцината эритромицина [13].

В работе [14] описано получение МИП эритромицина А, а также олеандомицина и тилозина с использованием МАК для ВЭЖХ. МАК использовали и при получении молекулярно-импринтированных мембран (МИМ) эритромицина А, для чего в качестве мембранообразующего мономера добавляли акрилонитрил [15, 16]. МИМ эритромицина А также были получены с использованием АК полимеризацией на полисульфоновой мембране (подложке) [17], они предназначены для удаления антибиотика из водных сред.

Из других акриловых мономеров описано использование акрилоил- β -циклодекстрина [18]. Его в смеси с МАК (как оптимальный вариант), а также оба этих мономера по отдельности использовали для получения МИП эритромицина А полимеризацией на углеродных нанотрубках (предварительно функционализированных при помощи винилтриэтоксисилана), эти наночастицы предназначены для ТФЭ.

Из алкоксисиланов описано использование 3-аминопропилтриметоксисилана (АПТМОС) для получения МИП эритромицина А [19], при этом были получены наночастицы, предназначенные для ТФЭ при анализе таблеток.

Также были обнаружены описания двух сенсоров, использующих МИП эритромицина А. Для пьезокварцевого сенсора МИП с функциональным мономером МАК получали осадительной полимеризацией, дающей микросферы, которые закрепляли на поверхности электрода сенсора при помощи поливинилхлоридной плёнки, получаемой испарением растворителя [20]. У амперометрического сенсора плёнку МИП получали электрополимеризацией 2-меркаптотимотиновой кислоты на поверхности электрода [21].

Для эритромицина А были опубликованы три работы, где его МИП используются для выделения этого антибиотика, они были получены с использованием МАК [22] или его смеси с 2-гидроксипропилметакрилатом [23, 24].

Также обнаружена работа, где описаны МИП тилозина, которые используются для его выделения [25]. При этом МИП, полученный с использованием смеси акриловых мономеров итаконовой кислоты и акриламида, показал лучшие результаты, чем МИП, полученный с использованием МАК.

Для этой группы антибиотиков большинство обнаруженных работ относится к МИП эритромицина А, включая одну работу по МИП этилсукцината эритромицина. МИП тилозина описаны в трех работах, МИП олеандомицина — в одной.

Аминогликозиды. Получение МИП стрептомицина с функциональным мономером МАК для

ТФЭ описано в работе [26]. Кроме того, описано получение подобных МИП полимеризацией на микрочастицах кремнезёма (после предварительной функционализации 3-(триметоксисилил)-пропилметакрилатом (ТМСПМА) [27].

Также описаны МИП гентамицина, полученные с использованием тетраэтоксисилана (ТЭОС) [28–30], и МИП стрептомицина, полученные с использованием 3-аминопропилтриэтоксисилана, фенилтриэтоксисилана или их смеси полимеризацией на стеклянных микросферах для ТФЭ [31].

Были обнаружены описания нескольких сенсоров, использующих МИП аминогликозидов. Среди них — вольтамперометрический сенсор, в котором МИП стрептомицина получали с использованием АПТМОС в виде плёнки на поверхности электрода при электроосаждении [32], амперометрический сенсор, у которого плёнку МИП канамицина получали электрополимеризацией 3-аминофенилборной кислоты на поверхности электрода [33], амперометрический сенсор, у которого плёнку МИП неомицина получали электрополимеризацией пиррола на поверхности электрода [34].

Кроме того, предложены аналитические системы с использованием МИП стрептомицина, при помощи которых осуществляют ферментный конкурентный псевдоиммуноанализ с обнаружением продуктов ферментативной реакции вольтамперометрическим сенсором; в качестве функциональных мономеров при этом использовали 2-фенилендиамин (полимеризация на магнитных наночастицах, предварительно покрытых поливинилпирролидоном, под действием сорбированных ионов $[\text{AuCl}_4]^-$) [35] или его смесь с анилином (электрополимеризация с образованием плёнки) [36]. Для анализов при этом использовали стрептомицин, меченный глюкозооксидазой.

Также описан сенсор поверхностного плазмонного резонанса, использующий МИП стрептомицина, канамицина или неомицина, которые получают электрополимеризацией в виде плёнки 4-меркаптофенилборной кислоты и 4-аминотиофенола как функционального мономера и сшивающего агента соответственно [37].

Кроме того, была получена монолитная колонка с использованием одновременно трёх шаблонов стрептомицин + неомицин + гентамицин (функциональный мономер МАК), предназначенная для ТФЭ [38].

Прочие биосинтетические антибиотики. Также были обнаружены работы по МИП линкомицина А, рифамицина SV и ванкомицина.

Для линкомицина А описано получение гибридного материала с кремнезёмом [39], т. е. МИП, при получении которого используются как акриловые мономеры, так и алкоксисиланы. Функциональным мономером является МАК, в качестве связующего с кремнезёмом используют

ТМСПМА, кремнезём образуется в результате гидролиза ТЭОС, который выступает в качестве сшивающего агента. Также для линкомицина А описано получение МИП с использованием МАК полимеризацией на частицах полистирола с образованием микросфер [40], полученные частицы предназначены для выделения/очистки этого антибиотика.

Для рифамицина SV был получен вольтамперометрический сенсор, в котором чувствительным элементом является МИП на основе замещённого полифосфазена [41]. В этой работе использовали альтернативный метод получения МИП, отличающийся от описанного в начале обзора и используемого в большинстве рассмотренных работ. При этом сначала получают полимер без шаблона, а потом в растворе проводят его взаимодействие с шаблоном (за счёт активных групп). В данном случае сначала получают полидихлорфосфазен $[-N=PCl_2-]_n$, затем действием 2,2'-бифенола и 4-аминофенола получают замещённый полифосфазен формулы $\{[NP(O_2C_{12}H_8)]_{0,8}[NP(OC_6H_4NH_2)_2]_{0,1}[NPCl(OC_6H_4NH_2)]_{0,1}\}_n$ (аминофеноксигруппы являются активными, сшивающий агент отсутствует). Далее в растворе проводят взаимодействие этого полимера с шаблоном и получают плёнку МИП на поверхности электрода сенсора испарением растворителя.

Для ванкомицина описано получение МИП с использованием акрилоил-D-гликозил-β-цикло-

декстрина [42], подобный МИП также получают полимеризацией на микрочастицах силикагеля (предварительно функционализированных при помощи винилтрихлорсилана) [43], этот вариант подходит при использовании ВЭЖХ.

Также описано получение МИП ванкомицина в виде наночастиц, которые могут найти различные применения [44]. При этом в качестве функционального мономера используют смесь N-изопропилакриламид + N-трет-бутилакриламид + АК, а шаблон предварительно иммобилизуют на стеклянных зернах (обработанных АПТМОС и глутаровым альдегидом), которые помещают в специальную колонку, где происходит полимеризация.

Дополнительно можно упомянуть о МИП сукцинил-L-тирозина с функциональными мономерами винилбензилтриметиламмоний хлорид в смеси с МАК (как оптимальный вариант) или без него, или 4-винилпиридин + МАК [45, 46]. Они используются для удаления этого побочного продукта при очистке клавулановой кислоты — биосинтетического ингибитора β-лактамаз.

В целом можно отметить, что число работ по МИП макролидов заметно больше, чем по МИП аминогликозидов, а для остальных рассмотренных в данном обзоре биосинтетических антибиотиков имеются только отдельные работы. Это соответствует объёмам производства и применения этих антибиотиков.

ЛИТЕРАТУРА

- Гендриксон О. Д., Жердев А. В., Дзантиев Б. Б. Молекулярно-импринтированные полимеры и их применение в биохимическом анализе. Усп биол хим 2006; 46: 149—192.
- Лисичкин Г. В., Крутяков Ю. А. Материалы с молекулярными отпечатками: синтез, свойства, применение. Усп хим 2006; 75: 998—1017.
- Fernández-González A., Guardia L., Badía-Laiño R., Díaz-García M. E. Mimicking molecular receptors for antibiotics — analytical implications. Trends Anal Chem 2006; 25: 949—957.
- Song S., Wu A., Shi X. et al. Development and application of molecularly imprinted polymers as solid-phase sorbents for erythromycin extraction. Anal Bioanal Chem 2008; 390: 2141—2150.
- Заявка КНР 101143910. Method of preparing erythromycin molecular imprinted polymer. 2008.
- Заявка КНР 101148464. Method for purifying erythromycin by using molecular imprinted polymer. 2008.
- Du X. Y., Peng T., Li J. S., Wang Z. D. Anti-tylosin molecularly imprinted polymers and their application to cleanup of tylosin in bovine plasma samples. Chin J Vet Med 2007; 43: 9: 87—89.
- Kou X., Geng L., Lei J. et al. Preparation of molecularly imprinted nanoparticles for erythromycin and their adsorption characteristics. Chin J Process Eng 2011; 11: 481—486.
- Kou X., Lei J., Geng L. et al. Synthesis, characterization and adsorption behavior of molecularly imprinted nanospheres for erythromycin using precipitation polymerization. J Nanosci Nanotechnol 2012; 12: 7388—7394.
- Заявка КНР 101507916. Preparation method of macrolide antibiotics molecular imprinted polymer microspheres. 2009.
- Guan P., Hu X., Zhu L. The binding performance of erythromycin imprinted polymeric microspheres. Key Eng. Mater 2012; 501: 263—268.
- Geng L., Kou X., Lei J. et al. Preparation, characterization and adsorption performance of molecularly imprinted microspheres for erythromycin using suspension polymerization. J Chem Technol Biotechnol 2012; 87: 635—642.
- Geng L., Kou X., Lei J. et al. Synthesis and evaluation of molecularly imprinted polymer microspheres for erythromycin ethylsuccinate. Ion Exchange Adsorp 2011; 27: 495—501.
- Siemann M., Andersson L. I., Mosbach K. Separation and detection of macrolide antibiotics by HPLC using macrolide-imprinted synthetic polymers as stationary phases. J Antibiotics 1997; 50: 89—95.
- Guan P., Hu X., Hao M. Preparation and properties of erythromycin-molecularly imprinted membrane. J Funct Mater 2010; 41: Suppl 2: 379—382.
- Guan P., Hu X., Zhao Y. Influences of preparative conditions on properties of erythromycin-molecularly imprinted membrane. Adv Mater Res 2010; 87—88: 119—124.
- Yu J., Hu X., Li D., Jiao C. Thin layer molecularly imprinted composite membranes for selective separation of erythromycin from water. Front Earth Sci China 2009; 3: 480—489.
- Zhang Z., Yang X., Zhang H. et al. Novel molecularly imprinted polymers based on multi-walled carbon nanotubes with binary functional monomer for the solid-phase extraction of erythromycin from chicken muscle. J Chromatogr B 2011; 879: 1617—1624.
- Zhang Z., Liu L., Nie L. Preparation of erythromycin-imprinted solid-phase extraction material by sol-gel method and the selective adsorption. Acta Polym Sin 2010; 6: 677—683.
- Zhang Z., Liu Y., Long Y. et al. Effect of the size of molecularly imprinted polymers sensing materials on piezoelectric quartz crystal sensor performance. Anal Sci 2004; 20: 291—295.
- Lian W., Liu S., Yu J. et al. Electrochemical sensor based on gold nanoparticles fabricated molecularly imprinted polymer film at chitosan-platinum nanoparticles/graphene-gold nanoparticles double nanocomposites modified electrode for detection of erythromycin. Biosens Bioelectron 2012; 38: 163—169.
- Писарев О. А., Ежова Н. М., Гаркушина И. С. Взаимодействие эритромицина с полимерными сорбентами, «настроенными» на молекулу антибиотика. Журн физ хим 2009; 83: 142—146.
- Ежова Н. М., Гаркушина И. С., Писарев О. А. Синтез новых гидрофильных полимерных сорбентов, несущих импринт-сайты эритромицина. Сорб хром проц 2011; 11: 828—831.

24. Ежова Н. М., Гаркушина И. С., Писарев О. А. Молекулярно-импринтированные гидрофильные сорбенты для селективной сорбции эритромицина. Прикл биохим микробиол 2011; 47: 694—698.
25. Piletsky S., Piletska E., Karim K. et al. Custom synthesis of molecular imprinted polymers for biotechnological application. Preparation of a polymer selective for tylosin. Anal Chim Acta 2004; 504: 123—130.
26. Заявка КНР 1632563. Streptomycin molecular imprinted solid phase extraction column and preparation process and application thereof. 2005.
27. Yang M., Hou C., Li X. et al. Study on synthesis and characterization of molecularly imprinted polymers of streptomycin by surface imprinting polymerization. Sci Technol Food Ind 2012; 33: 8: 155—158.
28. Morais E. C., Correa G. G., Brambilla R. et al. Silica imprinted materials containing pharmaceuticals as a template: textural aspects. J Sol-Gel Sci Technol 2012; 64: 324—334.
29. Morais E. C., Correa G. G., Brambilla R. et al. The interaction of encapsulated pharmaceutical drugs with a silica matrix. Colloids Surfaces B 2013; 103: 422—429.
30. Morais E. C., Correa G. G., Brambilla R. et al. Selective silica-based sorbent materials synthesized by molecular imprinting for adsorption of pharmaceuticals in aqueous matrices. J Separ Sci 2013; 36: 636—643.
31. Li J., Yang M., Huo D. et al. Molecularly imprinted polymers on the surface of silica microspheres via sol-gel method for the selective extraction of streptomycin in aqueous samples. J Separ Sci 2013; 36: 1142—1148.
32. Hu Y., Zhang Z., Zhang H. et al. Selective and sensitive molecularly imprinted sol-gel film-based electrochemical sensor combining mercaptoacetic acid-modified PbS nanoparticles with Fe₃O₄@Au-multi-walled carbon nanotubes-chitosan. J Solid State Electrochem 2012; 16: 857—867.
33. Lian W., Xing X., Liu S. A molecularly imprinted sensor for the detection of kanamycin. J Univ Jinan Sci Technol 2012; 26: 348—352.
34. Lian W., Liu S., Yu J. et al. Electrochemical sensor using neomycin-imprinted film as recognition element based on chitosan-silver nanoparticles/graphene-multiwalled carbon nanotubes composites modified electrode. Biosens Bioelectron 2013; 44: 70—76.
35. Liu B., Tang D., Zhang B. et al. Au(III)-promoted magnetic molecularly imprinted polymer nanospheres for electrochemical determination of streptomycin residues in food. Biosens Bioelectron 2013; 41: 551—556.
36. Que X., Liu B., Fu L. et al. Molecular imprint for electrochemical detection of streptomycin residues using enzyme signal amplification. Electroanalysis 2013; 25: 531—537.
37. Frasconi M., Tel-Vered R., Riskin M., Willner I. Surface plasmon resonance analysis of antibiotics using imprinted boronic acid-functionalized Au nanoparticle composites. Anal Chem 2010; 82: 2512—2519.
38. Заявка КНР 1667409. Molecular imprinted monolithic separating column for gentamycin, streptomycin and neomycin and preparation process thereof. 2005.
39. Lv Y.-K., Wang L.-M., Yan S.-L. et al. Synthesis and characterization of molecularly imprinted poly(methacrylic acid)/silica hybrid composite materials for selective recognition of lincomycin in aqueous media. J Appl Polym Sci 2012; 126: 1631—1636.
40. Jiang X., Li W., Zhang Y. et al. Preparation and properties of lincomycin A molecular imprinted polymer microspheres. J Wuhan Inst Technol 2012; 34: 5: 16-19.
41. Gutierrez-Fernandez S., Lobo-Castañón M. J., Miranda-Ordieres A. J. et al. Molecularly imprinted polyphosphazene films as recognition element in a voltammetric rifamycin SV sensor. Electroanalysis 2001; 13: 1399—1404.
42. Asanuma H., Akiyama T., Kajiya K. et al. Molecular imprinting of cyclodextrin in water for the recognition of nanometer-scaled guests. Anal Chim Acta 2001; 435: 25—33.
43. Akiyama T., Hishiya T., Asanuma H., Komiyama M. Molecular imprinting of cyclodextrin on silica-gel support for the stationary phase of high-performance-liquid-chromatography. J Incl Phenom Macrocycl Chem 2001; 41: 149—153.
44. Poma A., Guerreiro A., Whitcombe M. J. et al. Solid-phase synthesis of molecularly imprinted polymer nanoparticles with a reusable template — «Plastic antibodies». Adv Funct Mater 2013; 23: 2821—2827.
45. Патент США 7087748 (2006). Process.
46. Yu Y., Ye L., de Biasi V., Mosbach K. Removal of the fermentation by-product succinyl L-tyrosine from the β -lactamase inhibitor clavulanic acid using a molecularly imprinted polymer. Biotechnol Bioeng 2002; 79: 23—28.

Противовирусные свойства метаболитов базидиальных грибов

А. В. АВТОНОМОВА, Л. М. КРАСНОПОЛЬСКАЯ

ФГБУ НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе РАМН, Москва

Antiviral Properties of Basidiomycetes Metabolites

A. V. AVTONOMOVA, L. M. KRASNOPOLSKAYA

G. F. Gause Institute of New Antibiotics, Moscow

В статье обобщена информация о противовирусном действии метаболитов базидиальных грибов *Ganoderma lucidum*, *Lentinus edodes*, *Grifola frondosa*, *Agaricus brasiliensis* и др. Указанные виды базидиомицетов синтезируют вещества, проявляющие прямое противовирусное действие в отношении вирусов простого герпеса I и II типов, вируса иммунодефицита человека (ВИЧ), вируса гепатита В, вируса везикулярного стоматита, вируса гриппа, вируса Эпштейна–Барр и др. Также выявлены метаболиты базидиомицетов, повышающие противовирусный иммунитет организма.

Ключевые слова: метаболиты базидиальных грибов, противовирусное действие.

The data on the antiviral action of the *Ganoderma lucidum*, *Lentinus edodes*, *Grifola frondosa*, *Agaricus brasiliensis* and other basidiomycetes metabolites are summarized. The metabolites of these species of basidiomycetes exhibit a direct antiviral effect on herpes simplex virus types I and II, human immunodeficiency virus (HIV), hepatitis B virus, vesicular stomatitis virus, influenza virus, Epstein–Barr virus, and others. Moreover, metabolites of basidiomycetes increased antiviral immunity.

Key words: basidiomycetes metabolites, antiviral action.

Вирусные заболевания представляют серьезную опасность, связанную с высокой контагиозностью инфекций, высокой частотой тяжелого течения и возникновением осложнений. В структуре смертности среди вирусных инфекций лидирующие позиции сохраняют грипп, ОРВИ, герпес-вирусные инфекции, вирусные гепатиты, ВИЧ-инфекция. На 67-й Всемирной ассамблее здравоохранения были приведены данные об одновременной вспышке в мире четырех тяжелых вирусных заболеваний, вызываемых вирусом лихорадки Эбола, коронавирусом ближневосточного респираторного синдрома и двумя разновидностями птичьего гриппа H5N1 и H7N9. Поиск новых веществ, активных в отношении патогенных для человека вирусов, остается по-прежнему актуальной задачей современной науки.

Источником соединений с искомой активностью могут стать базидиальные грибы. Противовирусное действие обнаружено у метаболитов многих видов базидиомицетов. Оно проявляется в отношении вирусов, относящихся к различным систематическим группам.

В настоящем обзоре суммированы сведения, касающиеся действия метаболитов базидиомицетов в отношении вирусов, поражающих человека.

В основе механизма противовирусного действия метаболитов высших грибов лежит прямое действие на вирусы, выражающееся в ингибировании различных этапов взаимодействия вируса с клеткой-хозяином, или повышение иммунной защиты организма, подвергающегося воздействию вируса.

I. Прямое противовирусное действие

Прямой противовирусной активностью обладают метаболиты базидиальных грибов, такие как полисахариды, гликопротеины, тритерпены, белки и др. Источниками их получения служат плодовые тела, споры, мицелий, культуральная жидкость. Эти метаболиты проявляют прямое противовирусное действие в отношении разнообразных вирусов, среди которых вирус простого герпеса (ВПГ), вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), вирус гепатита В, вирус везикулярного стоматита, вирус гриппа, вирус Эпштейна–Барр и др.

1. Действие в отношении герпесвирусов

Герпесвирусы (семейство *Herpesviridae*) представляют большое семейство ДНК-содержащих вирусов. Из представителей этого семейства у человека встречается восемь типов вирусов герпеса.

© А. В. Автономова, Л. М. Краснополянская, 2014

Адрес для корреспонденции: 119021, Москва, ул. Большая Пироговская, д. 11. НИИИНА им. Г. Ф. Гаузе РАМН

Наиболее известными являются вирус простого герпеса I и II типа, вирус ветряной оспы, вызывающий ветрянку в детском возрасте, опоясывающий лишай (вирус III типа), вирус Эпштейна–Барр, вызывающий инфекционный мононуклеоз (вирус IV типа), цитомегаловирус (вирус V типа).

1.1 Активность в отношении вирусов простого герпеса I и II типа. Заболевание, вызванное вирусами простого герпеса типа I и II, характеризуется высыпаниями сгруппированных пузырьков на коже и слизистых оболочках. Простой герпес типа I чаще всего проявляется на губах и вирус типа II в большинстве случаев поражает гениталии.

Основными терапевтическими средствами для лечения заболевания, вызванного вирусами простого герпеса, являются нуклеозидные препараты, такие как ацикловир и видарабин. Мишенью для этих соединений служит ДНК-полимераза вируса. В последнее время возрос интерес к ингибиторам вируса герпеса ненуклеозидной природы.

Показано, что гликопротеины, выделенные из плодовых тел *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst., и полисахаридные фракции, полученные из мицелия этого гриба, проявляли противогерпетическое действие в опытах *in vitro* [1]. Гликопротеины и полисахариды ингибировали образование бляшкообразующих единиц в культуре клеток Vero и Нер-2, инфицированных вирусами герпеса типов I и II и снижали цитопатические эффекты в инфицированных клетках [2]. Дальнейшие исследования одного из гликопротеинов, названного авторами АРВР, показали, что он не оказывал токсического действия на клетки линии Vero в концентрации 1×10^4 мкг/мл и проявлял противовирусное действие в отношении вирусов простого герпеса типов I и II [3, 4]. Гликопротеин АРВР в концентрации 100 мкг/мл ингибировал свыше 50% прикреплений вирусов герпеса типов I и II к клеткам линии Vero и предотвращал проникновение вирусов обоих типов в клетки линии Vero [5]. Этот гликопротеин потенцировал действие нуклеозидных противогерпетических препаратов ацикловира и видарабина [4]. Сильный синергический эффект был обнаружен при совместном применении гликопротеина АРВР с интерферонами- α и - γ [3]. При этом изученный гликопротеин не индуцировал выработку интерферона- γ или других интерфероноподобных субстанций [5].

Известны результаты испытания *in vitro* выделенной из мицелия *G. lucidum* фракции, содержащей полисахариды и белки в соотношении 10,4:1 и названной GLPG. Исследуемая фракция ингибировала цитопатический эффект вирусов простого герпеса I и II типов. Противовирусный эффект носил дозозависимый характер. Выделенная фракция не проявляла цитотоксиче-

ского действия на клетки даже в такой высокой концентрации, как 2000 мкг/мл [6].

Механизм противогерпетического действия гликопротеинов *G. lucidum* неизвестен. Однако, по всей видимости, гликопротеины связываются со специфичными гликопротеинами вируса герпеса, ответственными за прикрепление и проникновение в клетку, или ингибируют адгезию вируса герпеса с клеткой, в конечном счёте, препятствуя взаимодействию вируса с мембраной клетки [7]. Способностью влиять на ранние этапы взаимодействия вируса с клеткой-хозяином авторы, получившие фракцию GLPG, объясняют тот факт, что она обладала минимальной противогерпетической эффективностью при обработке клеток после инфицирования, тогда как в тех же концентрациях при обработке до и во время инфицирования продемонстрировала достоверный высокий эффект [8].

Содержащий лигнин водорастворимый экстракт мицелия *Lentinus edodes* (Berk.) Singer, известный под названием JLS и JLS-18, останавливал высвобождение вируса простого герпеса типа I в экспериментах *in vitro* и *in vivo* [9].

Из плодовых тел *Grifola frondosa* (Dicks.) Gray был выделен белок, ингибирующий репликацию вируса простого герпеса типа I в системе *in vivo*. Белок, названный авторами GFАНР, значительно нейтрализовал у лабораторных животных последствия заболевания вирусом простого герпеса типа I, такие как блефарит, неоваскуляризация и кератит. Местное введение GFАНР в роговицу мышам значительно тормозило вирусную продукцию. По-видимому, GFАНР одновременно инактивировал вирус и ингибировал его проникновение в клетки линии Vero [10].

Сесквитерпены, выделенные из плодовых тел *Lactarius* spp., ингибировали репликацию вируса простого герпеса типа I в системе *in vitro* [11]. Тритерпены ганодерон А, люциальдегид В и эргоста-7,22-диен-3 β -ол, выделенные из плодовых тел *Ganoderma pfeifferi* Bres., проявляли высокую ингибирующую активность в отношении вируса простого герпеса [12].

Водный экстракт *Inonotus obliquus* (Ach. ex Pers.) Pilát проявлял противовирусную активность в отношении вируса простого герпеса типа I, выражающуюся в ингибировании прикрепления вируса к мембране. Водный экстракт *I. obliquus* воздействовал на вирусные гликопротеины, что приводило к воспрепятствованию прикрепления вирусов к мембранам клеток [13].

Две группы ученых изучали действие полисахаридов *Agaricus brasiliensis* Wasser, M. Didukh в отношении вирусов простого герпеса. Из мицелия *A. brasiliensis* был выделен глюкоманнан (β -(1 $\rightarrow$ 2)-глюко- β -(1 $\rightarrow$ 3)-маннан), его сульфатированное производное, названное MI-S,

показало эффективность в отношении вирусов простого герпеса типов I и II в опытах *in vitro* и *in vivo*. С использованием культуры клеток Vero было показано, что MI-S был активен в отношении вирусов простого герпеса типа I, включая ацикловирустойчивый штамм 29R, и типа II. Согласно полученным результатам MI-S препятствовал адсорбции вируса, его проникновению в клетку, экспрессии вирусных белков [14]. MI-S был эффективен в опытах на лабораторных животных при пероральном введении, уменьшая количественные показатели повреждения кожи и слизистых. Также он был способен к ингибирующему действию в отношении простого герпеса типа II, блокируя его передачу половым путем [15].

В работе К.М. Yamamoto с соавт. выделенный из *A. brasiliensis* полисахарид и его сульфатированное производное в опытах *in vitro* ингибировали репликацию простого вируса герпеса I типа и вируса герпеса крупного рогатого скота I типа, воздействуя на ранние этапы этого процесса, однако не оказывая влияния на адсорбцию вируса к клеточной стенке [16].

Активность в отношении вируса простого герпеса II типа в опытах *in vitro* проявили водные экстракты и суммарные фракции полисахаридов, полученные из мицелия *G. lucidum*, *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm., *Pleurotus citrinopileatus* Singer, мицелия и плодовых тел *L. edodes* [17]. В опытах *in vivo* было показано, что выживаемость мышей при внутрибрюшинном введении им за сутки до инфицирования вирусом простого герпеса II типа водных экстрактов выращенного на зерне мицелия *L. edodes* или *P. ostreatus* составляет 100%, водного экстракта собранных в природе плодовых тел *Hydnellum compactum* (Pers.) P. Karst. — 90% [18].

Водные экстракты плодовых тел *Coprinus comatus* (O. F. Müll.) Pers. и *Trametes trogii* Berk., а также этаноловые экстракты плодовых тел *Lycoperdon pyriforme* Vent., *Phallus impudicus* L., *Steccherinum ochraceum* (Pers.) Gray и *Bjerkandera adusta* (Willd.) P. Karst. показали выраженную активность в отношении вируса простого герпеса II типа в опыте *in vitro* с использованием перевиваемой линии клеток Vero [19].

1.2 Активность в отношении вируса Эпштейна—Барр. Вирус Эпштейна—Барр является одним из самых распространенных вирусов человека. У многих людей, зараженных вирусом Эпштейна—Барр, болезнь проходит бессимптомно. С этим вирусом ассоциирован ряд заболеваний, среди которых: инфекционный мононуклеоз, лимфогранулематоз (болезнь Ходжкина), лимфома Беркитта, назофарингеальная карцинома, синдром хронической усталости и другие заболевания.

Выделенные из плодовых тел *G. lucidum* три-терпены: люцидиновые кислоты А, С, D(2), E(2), Р, ганодеровые кислоты Е, F, Т-Q, сложные эфиры — метиллюциденаты А, D(2), E(2), F, L и метилганодерат F ингибировали в клетках линии Raji индукцию антигена EBV-EA вируса Эпштейна—Барр, происходившую под действием 12-О-тетрадеканойлфорбол-13-ацетата [20].

2. Противовирусное действие в отношении ретровирусов

К ретровирусам (семейство *Retroviridae*) относятся РНК-содержащие вирусы, заражающие преимущественно позвоночных. После инфицирования клетки в цитоплазме начинается синтез вирусного генома с использованием РНК в качестве матрицы по механизму обратной транскрипции. Наиболее известный и активно изучаемый представитель — вирус иммунодефицита человека (ВИЧ).

Активность в отношении вируса ВИЧ. ВИЧ вызывает заболевание, последняя стадия которого известна как синдром приобретённого иммунодефицита (СПИД). ВИЧ поражает, прежде всего клетки иммунной системы: CD4+, Т-лимфоциты, макрофаги и дендритные клетки.

В настоящее время существует несколько активно используемых в терапии СПИДа препаратов, которые можно разделить на три класса: 1) ингибиторы протеазы, 2) нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы, 3) нуклеотидные ингибиторы обратной транскриптазы. Однако появление устойчивых штаммов вирусов и потенциальная токсичность используемых на сегодняшний день препаратов в антиретровирусной терапии усиливают актуальность поиска новых эффективных средств. Известно около 100 препаратов из растительного и грибного сырья, ингибирующих ВИЧ.

Результаты исследований *in vitro* показали, что низкомолекулярные фракции и тритерпены, выделенные из *G. lucidum*, оказывали сильное ингибирующее действие на протеазу вируса, обратную транскриптазу ВИЧ и ДНК-полимеразу, что препятствовало функционированию ВИЧ [21–25]. Инкубирование Т-клеток Jurkat с этилацетатной (50 мкг/мл) и щелочной (100 мкг/мл) фракциями плодовых тел *G. lucidum* привело к ингибированию ВИЧ на 75 и 66% соответственно. Высокомолекулярные фракции плодовых тел *G. lucidum* не ингибировали цитопатические эффекты, вызываемые ВИЧ [22, 23]. Ганодериол F и ганодерманонтриол, выделенные из метанолового экстракта плодовых тел *G. lucidum*, ингибировали ВИЧ-1: их IC₁₀₀ составляла 7,8 мкг/мл [21].

Достоверную ингибирующую активность в отношении протеазы ВИЧ-1 проявляли ганодер-

ровые кислоты А, В, С1, Н, α , ганодериолы А и В, выделенные из метанолового экстракта плодовых тел *G.lucidum* и выделенные из спор *G.lucidum* ганодеровая кислота β , люцидумол В, ганодерманондиол, ганодерманонтриол, ганолуцидовая кислота А [24].

Выделенные из плодовых тел *G.lucidum* люциденовая кислота О и люциденовый лактон ингибировали обратную транскриптазу ВИЧ-1 [25].

Полисахаридные препараты *L.edodes*, выделенные из мицелия и плодовых тел, такие как лентинан, LEM (сухой экстракт мицелия шиитаке) и KS-2 обладают противовирусным действием в отношении ВИЧ. Экстракт культуральной жидкости и LEM подавляли в опытах *in vitro* репликацию и цитопатическое действие вируса иммунодефицита человека, стимулируя Т-лимфоциты и увеличивая образование интерлейкина-1 (ИЛ-1) за счёт перитонеальных макрофагов. Лентинан повышал противовирусную активность азидотимидина, проявляющуюся в остановке поверхностной экспрессии ВИЧ на Т-клетках [26, 27]. Лентинан и его сульфатированная форма ингибировали репликацию ВИЧ и его проникновение в клетку. Сульфатированный лентинан предотвращал цитопатические эффекты в клеточной линии, зараженной ретровирусом — Т-клеточным лимфотропным вирусом человека типа 1 [28]. Белок лентин, выделенный из культуральной жидкости *L.edodes*, подавлял активность обратной транскриптазы ВИЧ [29].

3. Действие в отношении гепаднавирусов

Семейство гепаднавирусов (семейство *Hepadnaviridae*) включает представителей, которые вызывают заболевания печени у человека и животных. Геном гепаднавирусов состоит из двунитчатой ДНК с дефектом плюс-цепи. К гепаднавирусам относится вирус гепатита В.

Активность в отношении вируса гепатита В. Вирус гепатита В отличается чрезвычайно высокой устойчивостью к различным физическим и химическим факторам. При вирусном гепатите В происходит гибель заражённых гепатоцитов вследствие атаки собственными иммунными агентами.

Для лечения гепатита В используют противовирусные препараты группы α -интерферонов и аналоги нуклеозидов (ламивудин, адефовир и др.). Длительное лечение антивирусными препаратами нуклеозидной природы приводит к появлению устойчивых мутантных штаммов вируса гепатита В. Поэтому важным является поиск эффективных в отношении вируса гепатита В препаратов ненуклеозидной природы.

В опытах *in vitro* фракция ганодеровых кислот, выделенная из культуральной жидкости *G.lucidum*, обладала активностью в отношении вируса гепа-

тита В. Эта фракция подавляла репликацию вируса гепатита В в клетках линии HepG2215, стабильно продуцирующей вирионы вируса гепатита В, ингибируя секрецию HBs-Ag (поверхностный антиген гепатита В) и HBe-Ag (один из маркёров репликации вируса в клетках печени) из клеток. Изученная фракция ганодеровых кислот была не токсична для клеток HepG2215 [30].

Препарат Ганополи, представляющий собой сухой остаток водного экстракта плодовых тел *G.lucidum* с 25% содержанием неочищенных полисахаридов, продемонстрировал достоверную активность в отношении вируса гепатита В в клинических испытаниях. Девяносто пациентов в возрасте от 18 до 70 лет приняли участие в двойном слепом, рандомизированном, многоцентровом исследовании. Лечение в течение 12 недель препаратом в дозе 1800 мг три раза в сутки привело к снижению у 25 % (у 13 из 52) пациентов в сыворотке крови уровня HBe-Ag (секреторная часть ядерного с-антигена HBc-Ag), являющегося одним из маркёров репликации вируса в клетках печени. Его наличие свидетельствует о высокой инфицирующей способности крови и повышенной вероятности хронического поражения печени. Лечение привело также к снижению уровня ДНК вируса гепатита В в сыворотке крови. Снижение уровня HBe-Ag и ДНК вируса гепатита В в сыворотке крови контрольной группы было только у 1 пациента (4% от группы). В результате шестимесячного лечения у 33% пациентов, принимавших экстракт, нормализовался уровень сывороточной аланинаминотрансферазы и у 7 из 52 (13 %) пациентов в сыворотке не был обнаружен HBs-Ag — поверхностный антиген гепатита В (наличие этого антигена свидетельствует об инфицированности гепатитом В). Ни у одного пациента из контрольной группы не было обнаружено снижения уровня аланинаминотрансферазы или отсутствие HBs-Ag [31].

Экстракт мицелия *L.edodes* LEM стимулировал выделение защитных антител против вируса гепатита В. В клинических испытаниях LEM участвовали 40 человек с хроническим гепатитом В, которые принимали LEM по 6 г перорально ежедневно в течение четырёх месяцев. Было показано, что LEM защищал мембраны клеток печени от проникновения вируса и токсических метаболитов. Проявление симптомов гепатита В было снижено у всех пациентов, у 15 из них вирус был инактивирован. В ходе исследования также было отмечено, что LEM заметно улучшает функции печени и не вызывает побочных эффектов [32].

Д-фракция (D-fraction) — полисахаридная фракция, выделенная из плодовых тел и мицелия *G.fondosa*, в комбинации с интерфероном- α -2b выражено ингибировали вирус гепатита В в клетках линии HepG2 2.2.15, снижая количество ви-

русной ДНК и вирусных антигенов. Сочетанное применение Д-фракции с интерфероном- α -2b обеспечивало больший эффект, чем каждый препарат по отдельности. Активность комбинации препаратов в 9 раз превышала активность интерферона [33].

Экстракт плодовых тел *A.brasiliensis* нормализовал функции печени у пациентов с гепатитом В. После ежедневного приёма 1500 мг экстракта в течение 12 месяцев у больных снизились уровни аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы с крайне высокого до нормального [34].

4. Действие в отношении пикорнавирусов

Семейство пикорнавирусов (семейство *Picornaviridae*) объединяет маленькие икосаэдрические вирусы высших позвоночных, содержащих одноцепочечную геномную РНК положительной полярности. Эта группа вирусов лишена внешней оболочки. К вирусам этого семейства относятся энтеровирусы, риновирусы, вирус полиомиелита, вирус ящура и др.

Активность в отношении полиовируса. Полиовирус — энтеровирус человека, вызывающий полиомиелит.

Водный экстракт, полисахаридная фракция и этаноловый экстракт плодовых тел *A.brasiliensis* показали противовирусный эффект в отношении полиовируса. Наибольший эффект препараты *A.brasiliensis* оказывали при их введении на стадии инфицирования клеток. Так как, метаболиты *A.brasiliensis* лишь незначительно снижали адсорбцию вируса и не проявляли вирулицидной активности, можно предположить, что противовирусные метаболиты *A.brasiliensis* действуют на начальной стадии репликации полиовируса [35].

Водорастворимая фракция JLS, полученная из плодовых тел *L.edodes*, обладала антивирусной активностью в отношении вируса полиомиелита [36].

5. Действие в отношении ортомиксовирусов

Семейство ортомиксовирусы (семейство *Orthomyxoviridae*) включает в себя РНК-содержащие вирусы, которые размножаются в клеточном ядре и цитоплазме птиц, млекопитающих. Распространяются без переносчика. Поражают дыхательные органы. Типичным представителем является вирус гриппа.

Активность в отношении вируса гриппа. Вирус гриппа имеет внешнюю оболочку, состоящую из липопroteидов, при попадании которых в организм начинается тяжёлая интоксикация. Существует три типа вируса гриппа: А, В и С. Большие эпидемии способны вызвать первые два.

Водорастворимая фракция JLS, полученная из плодовых тел *L.edodes*, проявляла иммунологические и антивирусные эффекты в отношении вируса гриппа [36]. Действие в отношении пандемического вируса 2009 г. H1N1, человеческого вируса H3N2, птичьего вируса H9N2, осельтамивироустойчивого вируса H1N1 было обнаружено у водного экстракта *Phellinus igniarius* (L.) Quél. [37]. Изучение действия в отношении вирусов гриппа типа А — человеческого H3N2 и птичьего H5N1 у водных экстрактов мицелия базидиомицетов, собранных на Алтае, позволило выявить активность у штаммов, относящихся к видам *Daedaleopsis confragosa* (Bolton) J. Schröt., *Datronia mollis* (Sommerf.) Donk, *Ischnoderma benzoinum* (Wahlenb.) P. Karst., *Trametes gibbosa* (Pers.) Fr., *Trametes versicolor* (L.) Lloyd, *Laricifomes officinalis* (Vill.) Kotl., и *Lenzites betulina* (L.) Fr. [38].

Активность в отношении вирусов гриппа была выявлена у индивидуальных соединений — метаболитов базидиомицетов. Существенная противовирусная активность в отношении вирусов гриппа типов А и В была выявлена у двух фенольных соединений гисполона и гиспидина, выделенных из плодовых тел *Inonotus hispidus* (Bull.) P. Karst. [39]. Тритерпены *G.pfeifferi* — ганодермодиол, люцидадиол и аппланоксидовая кислота G были активны в отношении вируса гриппа А типа [40]. Белок массой около 10 KD, выделенный из *Rozites caperatus* (Pers.) P. Karst. и названный RC-183, обладал противовирусной активностью в отношении вируса гриппа А типа [41].

6. Действие в отношении арбовирусов

Арбовирусы — группа вирусов, переносчиками которых являются членистоногие. Арбовирусы относятся к различным семействам, в медицинском отношении наиболее важны представители семи семейств (ареновирусы, буньявирусы, филовирусы, флавивирусы, реовирусы, рабдовирусы, тогавирусы). Арбовирусы имеют одноцепочечную геномную РНК и могут передаваться от животных человеку через насекомых и вызывать такие заболевания, как энцефалит, жёлтая лихорадка, лихорадка Данге.

6.1. Активность в отношении рабдовирусов

Представители семейства рабдовирусов (семейство *Rhabdoviridae*) вызывают ряд тяжёлых заболеваний человека, домашних животных и зерновых культур. Геном представлен одной молекулой одноцепочечной РНК. К рабдовирусам относятся вирус бешенства, вирус везикулярного стоматита и др.

Активность в отношении вируса везикулярного стоматита. Вирус везикулярного стоматита вызывает болезнь животных и иногда поражает человека.

В опытах *in vitro* на клетках линий Vero и Нер-2 было показано, что водорастворимые и метанолрастворимые субстанции, выделенные из плодовых тел *G.lucidum*, обладали противовирусным действием, ингибируя цитопатические эффекты вируса везикулярного стоматита. Одна из изученных метанолрастворимых фракций, не обладая цитотоксичностью в концентрации 1000 мкг/мл, проявила сильную противовирусную активность в отношении вируса везикулярного стоматита серотипа Нью-Джерси [42]. Водорастворимая фракция JLS, полученная из плодовых тел *L.edodes*, оказывала иммунологическое и антивирусное действие в отношении вирусов везикулярного стоматита [36].

6.2 Активность в отношении тогавирусов

Семейство тогавирусы (семейство *Togaviridae*) объединяет наиболее мелкие оболочечные РНК-содержащие вирусы животных, имеющие нуклеокапсид с кубической симметрией. Включает два основных рода: альфавирусы (вирусы, передаваемые членистоногими) и рубивирусы (вирус краснухи, патогенный только для человека). Переносчиками заболеваний, вызываемых альфавирусами, являются комары. Альфавирусы вызывают вирусный энцефалит, в частности западный, восточный и вентроуэльский энцефаломиелит лошадей.

Активность в отношении вируса Западного лошадиного энцефаломиелита. Вирус Западного лошадиного энцефаломиелита в США циркулирует между птицами и комарами. Западным лошадиным энцефаломиелитом болеют люди и лошади, но они не играют роли в циркуляции вируса. Среди детей и пожилых людей высока летальность от этого заболевания.

Водный экстракт *A.brasiliensis* ингибировал цитопатический эффект вируса Западного лошадиного энцефаломиелита [43]. Выделенная из плодовых тел *L.edodes* водорастворимая фракция JLS проявляла активность в отношении лошадиного энцефалита [36].

7. Действие в отношении флавивирусов

Семейство *Flaviviridae* включает РНК-содержащие вирусы, сходные по строению с тогавирусами. Флавивирусы имеют сферическую форму, вирион состоит из оболочки, капсида и одноцепочечной линейной плюс-РНК. К флавивирусам относятся вирус лихорадки Западного Нила и вирус гепатита С.

В опытах *in vitro* выявлены фракции водного экстракта *L.obliquus*, проявляющие вирулицидное действие в отношении вируса гепатита С. Отобранные фракции гриба характеризовались низкими цитотоксическими и высокими противовирусными свойствами. Противовирусные свойства исследуемых фракций были отмечены как при их

применении за 24 часа до заражения клеток, так и одновременно с инфицированием клеток. [44].

II. Иммуномодулирующее действие

Одним из важнейших свойств ряда метаболитов базидиальных грибов, прежде всего полисахаридов и их комплексов с белками, является их иммуномодулирующее действие. В частности, эти соединения способны повышать резистентность организма к различным инфекционным агентам, в том числе и к вирусам, повышать противовирусный иммунитет организма.

Противовирусный иммунитет определяется сочетанием специфических факторов (иммуноглобулинов, В- и Т-лимфоцитов) и факторов неспецифической (естественной) резистентности (воспалительной реакции, интерферонов, противовирусных ингибиторов, естественных киллеров, макрофагов и др.).

Важнейшими факторами неспецифической резистентности являются интерфероны, образование которых — одна из первых защитных реакций организма на вирусную инфекцию. Интерфероны подавляют внутриклеточные этапы репродукции вирусов в заражённых клетках и обеспечивают невосприимчивость к вирусам окружающих здоровых клеток. В опытах *in vivo* и *in vitro* было показано, что препараты, полученные из различных базидиальных грибов, например *L.edodes*, *G.lucidum*, *G.frondosa*, *A.brasiliensis*, *Flammulina velutipes* (Curtis) Singer, *P.ostreatus* и многих других, стимулировали экспрессию и-РНК интерферона- γ и продукцию этого цитокина Т-лимфоцитами [45]. В опыте *in vitro* с использованием культуры лейкоцитов крови человека интерферон-индуцирующую способность показали суммарные полисахаридные фракции из мицелия *G.lucidum* и *F.velutipes*, при этом первая стимулировала образование интерферона- γ , а вторая, предположительно, интерферона- α [46, 47].

Большую роль в неспецифической резистентности организма в отношении вирусов играют макрофаги и естественные киллеры. Одним из важнейших механизмов иммуномодулирующего действия полисахаридов базидиальных грибов является активация макрофагов и влияние на их функции. В опытах *in vivo* и *in vitro* было показано, что полисахариды, выделенные из плодовых тел и мицелия базидиомицетов, повышают фагоцитарную активность и эффективность фагоцитоза перитонеальных макрофагов [45], значительно стимулируют продукцию макрофагами цитокинов: интерлейкина-1 β , интерлейкина-6, интерлейкина-12, фактора некроза опухоли- α , колониестимулирующих факторов: гранулоцитарного — Г-КСФ и макрофагального — М-КСФ [45, 48, 49]. Показано, что полисахариды *G.lucidum* и *L.edodes* могут

достоверно повышать количество естественных киллеров в популяции мононуклеарных клеток пуповинной крови человека [50]. Ганодеровая кислота Me, выделенная из мицелия *G.lucidum*, при введении мышам достоверно увеличивала активность естественных киллеров, повышала экспрессию интерлейкина-2 и интерферона- γ [51].

Полисахариды и тритерпены *G.lucidum* способны повышать активность естественных киллеров, лимфоцитов, способных осуществлять быстрый цитолиз чужеродных пролиферирующих клеток, в том числе опухолевых клеток.

Факторы неспецифической резистентности в сочетании с медиаторами воспаления способны разрушать инфицированные вирусами клетки. Если этого не происходит и вирусы размножаются, наступает вторая (специфическая) стадия противовирусного иммунитета, связанная с продукцией вируснейтрализующих антител В-лимфоцитами и активацией регуляторных Т-лимфоцитов (Т-хелперов, Т-супрессоров, цитотоксических лимфоцитов), а также обширного круга Т-лимфоцитов — эффекторов лимфоцитарно-моноцитарного ряда.

Полисахариды, выделенные из плодовых тел, спор и мицелия базидиальных грибов, способны влиять на пролиферацию Т- и В-лимфоцитов. По-

лисахариды базидиомицетов могут стимулировать активность цитотоксических Т-лимфоцитов [45].

Полисахаридные фракции *G.lucidum* оказывают влияние на функционирование нейтрофилов — основных эффекторных клеток на ранних этапах инфекционной агрессии. Полисахаридная фракция, выделенная из плодовых тел, увеличивала фагоцитарную активность и хемотаксис нейтрофилов человека и ингибировала спонтанный и Fas-индуцированный апоптоз нейтрофилов [52].

Таким образом, приведённые выше данные литературы свидетельствуют о способности базидиальных грибов синтезировать метаболиты с противовирусными свойствами. Выявлены соединения или их композиции, обладающие как прямым противовирусным действием по отношению к различным патогенным для человека вирусам, так и оказывающие выраженное активирующее влияние на систему иммунитета и принимающие участие практически во всех его реакциях, увеличивая образование антител, стимулируя фагоцитоз, усиливая цитотоксическую активность лимфоцитов, влияя на процессы реализации иммунологической памяти. Продолжение исследований в данном направлении позволит разработать активные фармакологические субстанции с выраженным противовирусным действием.

ЛИТЕРАТУРА

1. Eo S.K., Kim Y.S., Lee C.K., Han S.S. Antiviral activities of various water and methanol soluble substances isolated from *Ganoderma lucidum*. J Ethnopharmacol 1999; 68: 129—136.
2. Eo S.K., Kim Y.S., Lee C.K., Han S.S. Antiherpetic activities of various protein bound polysaccharides isolated from *Ganoderma lucidum*. J Ethnopharmacol 1999; 68: 175—181.
3. Kim Y.S., Eo S.K., Oh K.W., Lee C.K., Han S.S. Antiherpetic activities of acidic protein bound polysaccharide isolated from *Ganoderma lucidum* alone and in combinations with interferons. J Ethnopharmacol 2000; 72: 451—458.
4. Oh K.W., Lee C.K., Kim Y.S., Eo S.K., Han S.S. Antiherpetic activities of acidic protein bound polysaccharide isolated from *Ganoderma lucidum* alone and in combinations with acyclovir and vidarabine. J Ethnopharmacol 2000; 72: 221—227.
5. Eo S.K., Kim Y.S., Lee C.K., Han S.S. Possible mode of antiviral activity of acidic protein bound polysaccharide isolated from *Ganoderma lucidum* on herpes simplex viruses. J Ethnopharmacol 2000; 72: 474—481.
6. Liu J., Yang F., Ye L.B., Yang X.J., Timani K.A., Zheng Y., Wang Y.H. Possible mode of action of antiherpetic activities of a proteoglycan isolated from the mycelia of *Ganoderma lucidum* in vitro. J Ethnopharmacol 2004; 95: 2—3: 265—272.
7. Gao Y., Tang W., Gao H., Chan E., Lan J., Li X., Zhou S. Antimicrobial activity of the medicinal mushroom *Ganoderma*. Food Rev International 2005; 21: 2: 211—229.
8. Li Z., Liu J., Zhao Y. Possible mechanism underlying the antiherpetic activity of a proteoglycan isolated from the mycelia of *Ganoderma lucidum* in vitro. J Biochem Mol Biol 2005; 38: 1: 34—40.
9. Sarkar S. et al. Antiviral effect of the extract of culture medium of *Lentinus edodes* mycelia on the replication of herpes simplex virus type 1. Antiviral Res 1993; 20: 293—303.
10. Gu C.Q., Li J.W., Chao F., Jin M., Wang X.W., Shen Z.Q. Isolation, identification and function of a novel anti-HSV-1 protein from *Grifola frondosa*. Antiviral Res 2007; 75: 3: 250—257.
11. Krawczyk E., Kniotek M., Nowaczek M., Dzieciatkowski T., Przybylski M., Majewska A., Luczak M. N-acetylphenylisoserinates of Lactarius sesquiterpenoid alcohols-cytotoxic, antiviral, antiproliferative and immunotropic activities in vitro. Planta Med 2006; 72: 7: 615—620.
12. Niedermeyer T.H., Lindequist U., Mentel R., Gordes D., Schmidt E., Thurow K., Lalk M. Antiviral terpenoid constituents of *Ganoderma pfeifferi*. J Nat Prod 2005; 68: 12: 1728—1731.
13. Pan H.H., Yu X.T., Li T., Wu H.L., Jiao C.W., Cai M.H., Li X.M., Xie Y.Z., Wang Y., Peng T. Aqueous extract from a Chaga medicinal mushroom, *Inonotus obliquus* (higher Basidiomycetes), prevents herpes simplex virus entry through inhibition of viral-induced membrane fusion. Int J Med Mushrooms 2013; 15: 1: 29—38.
14. Cardozo F. T. G., Camellini C. M., Mascarello A., Rossi M. J., Nunes R. J., Barardi C. R. M., Mendonza M. M., Simxes C. M. O. Antiherpetic activity of a sulfated polysaccharide from *Agaricus brasiliensis* mycelia. Antiviral Res 2011; 92: 1: 108—114.
15. Cardozo F.T., Larsen I.V., Carballo E.V., Jose G., Stern R.A., Brummel R.C., Camellini C.M., Rossi M.J., Simões C.M., Brandt C.R. In vivo anti-herpes simplex virus activity of a sulfated derivative of *Agaricus brasiliensis* mycelial polysaccharide. Antimicrob Agents Chemother 2013; 57: 6: 2541—2549.
16. Yamamoto K.A., Galhardi L.C., Rincão V.P., Soares S.A., Vieira I.G., Ricardo N.M., Nozawa C., Linhares R.E. Antiherpetic activity of an *Agaricus brasiliensis* polysaccharide, its sulfated derivative and fractions. Int J Biol Macromol 2013; 52: 9—13.
17. Разумов И.А., Колосогова Т.А., Казачинская Е.И., Пучкова Л.И., Щербак Н.С., Горбунова И.А., Михайловская И.Н., Локтев В.Б., Теплякова Т.В. Противовирусная активность водных экстрактов и полисахаридных фракций, полученных из мицелия и плодовых тел высших грибов. Антибиотики и химиотерапия 2010; 55: 9—10: 14—18.
18. Разумов И.А., Казачинская Е.И., Пучкова Л.И., Колосогова Т.А., Горбунова И.А., Локтев В.Б., Теплякова Т.В. Протективная активность водных экстрактов из высших грибов при экспериментальной герпесвирусной инфекции белых мышей. Антибиотики и химиотерапия 2013; 59: 9—10: 8—12.
19. Костина Н.Е., Ибрагимова Ж.Б., Проценко М.А., Макаревич Е.В., Скарнович М.А., Филиппова Е.И., Горбунова И.А., Власенко В.А., Трошкова Г.П., Мазуркова Н.А., Шишкина Л.Н. Выделение, характеристика и противовирусные свойства биологически активных веществ из высших грибов Западной Сибири. Совр пробл наук обр 2013; 3 (Электронный журнал).
20. Iwatsuki K., Akihisa T., Tokuda H., Ukiya M., Oshikubo M., Kimura Y., Asano T., Nomura A., Nishino H. Lucidenic acids P and Q, methyl lucidenate P, and other triterpenoids from the fungus *Ganoderma lucidum* and their inhibitory effects on Epstein-Barr virus activation. J Natur prod 2003; 66: 12: 1582—1585.
21. El-Mekkawy S., Meselhy M.R., Nakamura H., Tezuka Y., Hattori M., Kakiuchi N., Shomotoho K., Kawahata T., Otake T. Anti-HIV and

- anti-HIV-1-protease substances from *Ganoderma lucidum*. Phytochemistry 1998; 49: 6: 1651–1657.
22. Kim B.K., Kim H.W., Choi E.C. Medicinal efficacies of *Ganoderma lucidum* (XV) Anti-HIV activities of *Ganoderma lucidum*. Proceedings of the 2nd International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products, 1996. www.worldmushroomsociety.com
23. Kim H.W., Shim M.J., Choi E.C., Kim B.K. Inhibition of cytopathic effect of human immunodeficiency virus-1 by water-soluble extract of *Ganoderma lucidum*. Archiv Pharmacol Res 1997; 20: 425–431.
24. Min B.S., Nakamura N., Miyashiro H., Bae K.W., Hattori M. Triterpenes from the spores of *Ganoderma lucidum* and their inhibitory activity against HIV-1 protease. Chem Pharmaceut Bull 1998; 46: 10: 1607–1612.
25. Mizushima Y., Takahashi N., Hanashima L., Koshino H., Esumi Y., Uzawa J., Sugawara F., Sakaguchi K. Lucidenic acid O and lactone, new terpene inhibitors of eukaryotic DNA polymerases from a basidiomycete, *Ganoderma lucidum*. Bioorganic & Medicinal Chemistry 1999; 7: 9: 2047–2052.
26. Suzuki H., Okubo A., Yamazaki S., Suzuki K., Mitsuya H., Toda S. Inhibition of the infectivity and cytopathic effect of human immunodeficiency virus by water-soluble lignin in an extract of the culture medium of *Lentinus edodes* mycelia (LEM). Biochem Biophys Res Commun 1989; 160: 367–373.
27. Tochikura T.S., Nakashima H., Ohashi Y., Yamamoto N. Inhibition (*in vitro*) of replication and of the cytopathic effect of human immunodeficiency virus by an extract of the culture medium of *Lentinus edodes* mycelia. Med Microbiol Immunol 1988; 177: 235–244.
28. Hatanaka K., Yoshida T., Uryu T., Yoshida O., Nakashima H., Yamamoto N., Mimura T., Kaneko Y. Synthesis of an inhibitor of human immunodeficiency virus infection. Jpn J Cancer Res 1989; 80: 2: 95–98.
29. Ngai P.H., Ng T.B. Lentin, a novel and potent antifungal protein from shiitake mushroom with inhibitory effects on activity of human immunodeficiency virus-1 reverse transcriptase and proliferation of leukemia cells. Life Sci 2003; 73: 26: 3363–3374.
30. Li Y.Q., Wang S.F. Anti-hepatitis B activities of ganoderic acid from *Ganoderma lucidum*. Biotechnol Lett 2006; 28: 11: 837–841.
31. Gao Y., Zhou S., Chen G., Dai X., Ye J. and Gao H. A Phase I/II Study of a *Ganoderma lucidum* (Curt.: Fr.) P.Karst. (Ling Zhi, Reishi Mushroom) Extract in Patients with Chronic Hepatitis B. Intern J Med Mush 2002; 4: 321–327.
32. Jones K. Shiitake – medicine in a mushroom [Электронный ресурс]. Пе- жим доступа: <http://www.immunesupport.com/news/97spr007txt.htm>
33. Gu C.Q., Li J., Chao F.H. Inhibition of hepatitis B virus by D-fraction from *Grifola frondosa*: synergistic effect of combination with interferon- alpha in HepG2 2.2.15. Antiviral Res 2006; 72: 2: 162–165.
34. Hsu C.H., Hwang K.C., Chiang Y.H., Chou P. The mushroom *Agaricus blazei* Murill extract normalizes liver function in patients with chronic hepatitis B. J Altern Complement Med 2008; 14: 3: 299–301.
35. Faccin L.C., Benati F., Rincao V.P., Mfntovani M.S., Soares S.A., Gonzaga M.L., Nozawa C., Carvalho Linhares R.E. Antiviral activity of aqueous and ethanol extracts and of an isolated polysaccharide from *Agaricus brasiliensis* against pliovirus type 2. Lett App Microbiol 2007; 45: 24–28.
36. Przybylowicz P., Donoghue J. Shiitake growers handbook. The art and science of mushroom cultivation. Northwest mycological consultants, Inc. Kendall. Hunt Publishing Company. 1460 Kerper Boulevard P.O. Box 539 Dubuque, Iowa 52004-0539, 1991. 217.
37. Lee S., Kim J.I., Heo J., Lee I., Park S., Hwang M.W., Bae J.Y. The anti-influenza virus effect of *Phellinus ingiarius* extract. J Microbiol 2013; 51: 5: 676–681.
38. Teplyakova T.V., Psurtseva N.V., Kosogova T.A., Mazurkova N.A., Khanin V.A., Vlasenko V.A. Antiviral activity of polyporoid mushrooms (higher Basidiomycetes) from Altai Mountains (Russia). Int J Med Mush 2012; 14: 1: 37–45.
39. Awadh A.N.A., Mothana R.A., Lesnau A., Pilgrim H., Lindequist U. Antiviral activity of *Inonotus hispidus*. Fitoterapia 2003; 74: 5: 483–485.
40. Mothana R.A., Awandh A.N.A., Jansen R., Wegner U., Mentel R., Lindequist U. Antiviral lanostanoid triterpenes from the fungus *Ganoderma pfeifferi*. Fititerapia 2003; 74: 1–2: 177–180.
41. Piraino F., Brandt C.R. Isolation and partial characterization of an antiviral, RC-183, from the edible mushroom *Rozites caperata*. Antiviral Res 1999; 43: 2: 67–78.
42. Eo S.K., Kim Y.S., Lee C.K., Han S.S. Antiviral activities of various water and methanol soluble substances isolated from *Ganoderma lucidum*. J Ethnopharmacol 1999; 68: 129–136.
43. Sorimachi, K., Ikehara, Y., Maezato, G., Okubo, A., Yamazakki, S., Akimoto, K. and Niwa, A. Inhibition by *Agaricus blazei* Murrill fractions of cytopathic effect induced by Western Equine Encephalitis (WEE) Virus on VERO Cells *in vitro*. Biosci Biotechnol Biochem 2001; 61: 1645–1647.
44. Shibnev V.A., Mishin D.V., Garaev T.M., Finogenova N.P., Botcov A.G., Deryabin P.G. Antiviral activity of *Inonotus obliquus* fungus extract toward infection caused by hepatitis C virus in cell culture. Bull Exp Biol Med 2011; 151: 5: 612–614.
45. Wasser S. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. Appl Microbiol Biotechnol 2002; 60: 258–274.
46. Краснополяская Л.М., Автономова А.В., Щегловитова О.Н., Гушин П.А. Погружённое культивирование *Ganoderma lucidum* и интерферониндуцирующие свойства эндополисахаридов гриба. Башкир хим журн 2012; 19: 4: 83–88.
47. Щегловитова О.Н., Бабаянц А.А., Склянкина Н.Н., Болдырева Н.А., Леонтьева М.И., Автономова А.В., Краснополяская Л.М. Полисахариды из мицелия *Ganoderma lucidum* и *Flammulina velutipes* индуцируют интерферон в культуре лейкоцитов крови человека, но различаются по типу продуцируемого интерферона. Иммунопатол алергол инфектол 2010; 1: 276.
48. Wang, S. Y., Hsu M. L., Hsu H. C., Tzeng C. H., Le S. S., Shiao M. S., Ho C. K. The antitumor effect of *Ganoderma lucidum* is mediated by cytokines released from activated macrophages and T lymphocytes. Intern J Med Mush 1997; 70: 6: 669–705.
49. Ooi L. S., Ooi V. E., Fung M. C. Induction of gene expression of immunomodulatory cytokines in the mouse by a polysaccharides from *Ganoderma lucidum* (Curt.:Fr.) P.Karst (Aphyllphoromycetideae). Intern J Med Mush 2002; 4: 1: 27–35.
50. Chien C. M., Cheng J. L., Chang W. T., Tien M. H., Tsao C. M., Chang Y. H., et al. Polysaccharides of *Ganoderma lucidum* alter cell immunophenotypic expression and enhance CS56+ NK-cell cytotoxicity in cord blood. Bioorg Med Chem 2004; 12: 21: 5603–5609.
51. Wang G., Zhao J., Liu J., Huang Y., Zhong J.J., Tang W. Enhancement of IL-2 and IFN-gamma expression and NK cells activity involved in the anti-tumor effect of ganoderic acid Me *in vivo*. Intern immunopharmacol 2007; 7: 6: 864–870.
52. Hsu M. J., Lee S. S., Lee S. T., Lin W. W. Signaling mechanism of enhanced neutrophil phagocytosis and chemotaxis by the polysaccharides purified from *Ganoderma lucidum*. Brit J Pharmacol 2003; 139: 289–298.

**ПРОТЕОГЕНОМНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА УСТОЙЧИВОСТИ
К АНТИБИОТИКАМ У *ACINETOBACTER BAUMANNII*
DU202, ОБЛАДАЮЩЕГО ЭКСТЕНСИВНОЙ
ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ.**

**PROTEOGENOMIC CHARACTERIZATION
OF ANTIMICROBIAL RESISTANCE IN EXTENSIVELY
DRUG-RESISTANT *ACINETOBACTER BAUMANNII*
DU202 / S.-Y. LEE, S. HO YUN, Y. G. LEE, C.-W. CHOI,
S.-H. LEEM, E. C. PARK, G.-H. KIM, J. C. LEE, S. I. KIM*//
JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY 2014;
69: 6: 1483—1491.**

Задачей исследования было выполнить секвенирование генома у *Acinetobacter baumannii* DU202, обладающего экстенсивной лекарственной устойчивостью, и, используя геномные данные, охарактеризовать антибиотикоустойчивость данного штамма с позиции протеома. Были выполнены секвенирование генома *A.baumannii* DU202 с помощью Hi-Seq 2000 системы и сравнительный анализ для определения уникальных характеристик *A.baumannii* DU202. Были повторно проанализированы результаты определения протеома фракции мембраны клеточной стенки, полученные одномерным электрофорезом и жидкостной хроматографией в сочетании с спектрометрическим анализом (1DE-LC-MS/MS), у референс-штамма *A.baumannii* ATCC 17978, чтобы прояснить механизмы устойчивости *A.baumannii* DU202 с учётом штаммо-специфических геномных данных. Геном *A.baumannii* DU202 содержит 3660 генов и очень близок корейскому штамму *A.baumannii* 656-2. В геноме *A.baumannii* DU202 было определено более 144 генов устойчивости, из которых 72 кодировали белки, ассоциирующиеся с устойчивостью и идентифицированные в результате протеомного анализа *A.baumannii* DU202 при культивировании на среде с бульоном Luria—Bertani (контроль), содержащей тетрациклин и имипенем. Было установлено, что для проявления антибиотикоустойчивости *A.baumannii* DU202 важными являются сильная индукция бета-лактамаз, мультилекарственный помповый выброс и белки RND (устойчивость-нодуляция-деление клетки) мультилекарственного выброса. Таким образом, сочетание геномных и протеомных методов обеспечили исчерпывающую информацию об уникальной антибиотикоустойчивости *A.baumannii* DU202.

* Department of Bio-Analytical Science, University of Science and Technology (UST), Daejeon 305-350, Korea.

**БЫСТРОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ ЦЕЛОГО ГЕНОМА
ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ ПО ЕДИНСТВЕННОЙ
КОЛОНИИ.**

**RAPID SINGLE-COLONY WHOLE-GENOME
SEQUENCING OF BACTERIAL PATHOGENS /
C. U. KÖSER, L. J. FRASER, A. IOANNOU, J. BECQ,
M. J. ELLINGTON, M. T. G. HOLDEN, S. REUTER,
M. E. TÖRÖK, S. D. BENTLEY, J. PARKHILL,
N. A. GORMLEY, G. P. SMITH, S. J. PEACOCK*//
JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY 2014;
69: 6: 1275—1281.**

В результате внедрения современных быстрых секвенсоров (секвенаторов) время, необходимое для культивирования патогенных бактерий и выделения достаточного для приготовления препарата ДНК количества биологического материала, может превышать время собственно секвенирования ДНК. Эта ограничивающая скорость стадия была сокращена за счёт разработки протокола создания библиотек ДНК прямым секвенированием целого генома единственной бактериальной колонии, выросшей на первичной среде культивирования. Протокол был разработан с использованием единичных колоний 17 патогенных бактерий, возбудителей тяжёлых инфекций у человека, выращенных на стандартных диагностических средах в стандартных условиях культивирования. Этот метод далее был применен к 4 клиническим сценариям, требующим затрат времени при обычном лабораторном тестировании: полная идентификация и генотипирование сальмонеллы; идентификация *bla*_{NDM-1}, гена устойчивости высокотрансмиссивной карбапенемазы *Klebsiella pneumoniae*; определение генов, кодирующих стафилококковые токсины, отвечающие за специфические синдромы заболевания; мониторинг вакцинных мишеней для определения ускользающей от иммунологического надзора вакцины для *Neisseria meningitidis*. Разработанный авторами протокол был проверен и подтверждён всеми 40 комбинациями патогенов на протестированных селективных и неселективных или индикаторных средах. Более того, была продемонстрирована клиническая значимость данного метода по сравнению с применяемыми в настоящее время лабораторными референс-тестами. Разработанный метод облегчит применение секвенирования целого генома в диагностической и клинической микробиологии.

* Department of Medicine, University of Cambridge, Cambridge, UK.

* Clinical Microbiology and Public Health Laboratory, Public Health England, Cambridge, UK.

**РАЗЛИЧИЯ ГЕНОМОВ ЧУВСТВИТЕЛЬНОГО
И УСТОЙЧИВОГО К КОЛИСТИНУ КЛИНИЧЕСКИХ
ШТАММОВ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*
И ИХ ВЛИЯНИЕ НА УСТОЙЧИВОСТЬ К КОЛИСТИНУ.**

GENOMIC VARIATIONS BETWEEN COLISTIN-SUSCEPTIBLE AND -RESISTANT *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* CLINICAL ISOLATES AND THEIR EFFECTS ON COLISTIN RESISTANCE / J.-Y. LEE, I. Y. NA, Y. K. PARK, K. S. KO* // JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY 2014; 69: 5: 1248—1256.

Появление устойчивости к колистину у *Pseudomonas aeruginosa* становится серьёзной глобальной проблемой. Проведено исследование генетических изменений, происходящих при приобретении или утрате устойчивости к колистину, у трёх клинических изогенных штаммов *P. aeruginosa* (GKK-1, GKK-2 и GKK-3), выделенных от одного и того же больного, а также оценка их вклада в устойчивость к колистину. Секвенированием целого генома были идентифицированы отдельные нуклеотидные полиморфизмы, а также инсерции или делеции у двух колистиноустойчивых штаммов *P. aeruginosa* GKK-1 и GKK-3. Только один ген (PA1375), кодирующий эритронат-4-фосфат дегидрогеназу, в обоих колистиноустойчивых штаммах был супрессирован. Из 8 генов, активированных в колистиноустойчивых штаммах, 3 кодировали гипотетические белки (PA1938, PA2928 и PA4541), а 5 очевидно участвуют в основных биологических функциях, кодируя гидролазу, ассоциированную с клеточной стенкой (PA1199), регулятор отклика EraR (PA1980), гибрид сенсора/регулятора отклика (PA2583), гликозилтрансферазу (PA5447) и эффлюкс пермеазу арабинозы (PA5548). Все мутанты с аллельными замещениями этих генов, не считая одного (PA1375), демонстрировали повышение чувствительности к колистину в 2—16 раз. Чувствительность к колистину снижалась в комплементарных штаммах по сравнению с мутантами, однако, в 3 случаях не достигала уровня дикого типа. Исследование показало генетические различия между изогенными штаммами *P. aeruginosa* и идентифицировало новые детерминанты, которые могут ассоциироваться с приобретением устойчивости к колистину. Эти данные составят основу для полного понимания молекулярных механизмов устойчивости к колистину у *P. aeruginosa*.

* Department of Molecular Cell Biology, Samsung Biomedical Research Institute, Sungkyunkwan University School of Medicine, Suwon, South Korea.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ДЕТЕРМИНАНТЫ И ЭЛЕМЕНТЫ, СВЯЗАННЫЕ С АНТИБИОТИКОУСТОЙЧИВОСТЬЮ, У СТРЕПТОКОККОВ ГРУППЫ VIRIDANS.

GENETIC DETERMINANTS AND ELEMENTS ASSOCIATED WITH ANTIBIOTIC RESISTANCE IN VIRIDANS GROUP STREPTOCOCCI / A. BRENCIANI, E. TIBERI, E. TILI, M. MINGOIA, C. PALMIERI, P. E. VARALDO*,

E. GIOVANETTI // JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY 2014; 69: 5: 1197—1204.

Исследовали распространение механизмов и детерминант устойчивости к эритромицину, тетрациклину и хлорамфениколу, а также релевантный генетический фон у стрептококков группы viridans (VGS). Всего за 2010—2012 гг. было исследовано и определено до вида 263 культуры VGS, выделенных из обычных мазков из гортани. Детерминанты устойчивости, релевантное генетическое окружение и его элементы определяли методами амплификации, секвенирования и рестрикционным анализом. В результате исследования была получена оригинальная информация о распространении механизмов устойчивости, детерминантах и генетических элементах у VGS. Из 148 (56,3%) устойчивых к эритромицину штаммов 37 принадлежали к cMLS фенотипу, 111 — M фенотипу; 72 (27,4%) и 7 (2,7%) штаммов соответственно были устойчивы к тетрациклину и хлорамфениколу. Были также определены вариации известного генетического фона и элементы, несущие детерминанты устойчивости к указанным антибиотикам, в т.ч. мега элементы: Φ10394.4, Tn2009, Tn2010, the IQ элемент, Tn917, Tn3872, Tn6002, Tn916, Tn5801, a tet(O) фрагмент ICE2096-RD.2 и ICESp23FST81. Полученные данные проливают новый свет на распространение механизмов и детерминант устойчивости к антибиотикам и их генетическое окружение у VGS, о которых в настоящее время очень мало известно. Высокая частота и разнообразие подобных элементов свидетельствует о том, что VGS могут служить важным резервуаром генов устойчивости для более патогенных стрептококков. Высокие уровни устойчивости к макролидам подтверждают персистенцию заметного преобладания устойчивых VGS в Европе, где среди основных патогенных стрептококков, наоборот, устойчивость к макролидам снижается.

* Unit of Microbiology, Department of Biomedical Sciences and Public Health, Polytechnic University of Marche Medical School, 60126 Ancona, Italy.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ *IN VITRO* АКТИВНОСТИ ПЛАЗОМИЦИНА В ОТНОШЕНИИ 5015 КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ И ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ БОЛЬНЫХ КАНАДСКИХ БОЛЬНИЦ, КАК ЧАСТЬ ПРОГРАММЫ CANWARD 2011—2012.

***IN VITRO* ACTIVITY OF PLAZOMICIN AGAINST 5,015 GRAM-NEGATIVE AND GRAM-POSITIVE CLINICAL ISOLATES OBTAINED FROM PATIENTS IN CANADIAN HOSPITALS AS PART OF THE CANWARD STUDY,**

2011–2012 / A. WALKTY*, H. ADAM, M. BAXTER, A. DENISUIK, P. LAGACÉ-WIENS, J. A. KARLOWSKY, D. J. HOBAN, G. G. ZHANEL // **ANTIMICROB. AGENTS CHEMOTHERAPY** 2014; 58: 5: 2554–2563.

Плазомицин — аминогликозид нового поколения, устойчивый к действию наиболее клинически значимых аминогликозид-модифицирующих ферментов. Оценивали *in vitro* активность плазомицина и антибиотиков сравнения в отношении 5015 штаммов бактерий, выделенных от больных в канадских больницах в период с января 2011 г. по октябрь 2012 г. Определение чувствительности методом разведений в бульоне и интерпретацию результатов производили по методике и пограничным значениям МПК CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Плазомицин был высокоактивен в отношении всех видов семейства Enterobacteriaceae, за исключением *Proteus mirabilis*, значения МПК₉₀ ≤ 1 мкг/мл, а также активен в отношении не чувствительных к аминогликозидам штаммов *Escherichia coli*, значения МПК₅₀ и МПК₉₀ которых были идентичны значениям у чувствительных к аминогликозидам штаммов. Плазомицин продемонстрировал равную активность в отношении штаммов *E. coli* и *Klebsiella pneumoniae* как продуцирующих, так и не продуцирующих бета-лактамазы расширенного спектра ((ESBL), значения МПК₉₀ составляли ≤ 1 мкг/мл. Значения МПК₅₀ и МПК₉₀ плазомицина для *Pseudomonas aeruginosa* были равны 4 и 16 мкг/мл, соответственно, против 4 и 8 мкг/мл амикацина, а для 64 штаммов *P. aeruginosa* с множественной лекарственной устойчивостью значения МПК₅₀ и МПК₉₀ были равны 8 и 32 мкг/мл соответственно. Плазомицин был также активен в отношении чувствительного и устойчивого к метициллину *Staphylococcus aureus*, значения МПК₅₀ и МПК₉₀ — 0,5 мкг/мл и 1 мкг/мл соответственно. Итак, плазомицин продемонстрировал высокую активность в отношении разнообразной коллекции грамотрицательных палочек и грамположительных кокков, выделенных в большом географическом ареале, что даёт основание для дальнейшей оценки плазомицина в клинических условиях.

* Departments of Medicine and Clinical Microbiology, Health Sciences Centre, Winnipeg, Manitoba, Canada.

ПЕНИБАКТЕРИН, НОВЫЙ ЛИПОПЕПТИДНЫЙ АНТИБИОТИК, ШИРОКОГО СПЕКТРА ДЕЙСТВИЯ, НЕЙТРАЛИЗУЮЩИЙ ЭНДОТОКСИНЫ И УВЕЛИЧИВАЮЩИЙ ВЫЖИВАНИЕ МЫШЕЙ НА МОДЕЛИ СЕПСИСА, ВЫЗВАННОГО *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*.

PAENIBACTERIN, A NOVEL BROAD-SPECTRUM LIPOPEPTIDE ANTIBIOTIC, NEUTRALISES ENDOTOXINS AND PROMOTES SURVIVAL IN A MURINE MODEL OF *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*-INDUCED SEPSIS / E. HUANG, A. E. YOUSEF* // INTERNATIONAL JOURNAL OF ANTIMICROBIAL AGENTS JUNE 2014. ARTICLE IN PRESS

Пенибактерин, образуемый *Paenibacillus thiaminolyticus* OSY-SE, активен в отношении как грамотрицательных, так и грамположительных патогенных микроорганизмов, включая устойчивые к антибиотикам штаммы *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* и *Enterococcus faecalis*. Пенибактерин показал низкую цитотоксичность на примере линии почечных клеток человека (ATCC CRL-2190), при 50% ингибиторной концентрации (IC₅₀), равной ≥ 109 мкг/мл. *In vitro* катионно-активная молекула пенибактерина связывается с отрицательно заряженными эндотоксинами грамотрицательных бактерий, что может быть причиной нейтрализации липополисахаридов. На модели септического шока у мышей две дозы пенибактерина по 500 мкг значительно увеличивали выживаемость животных при летальном уровне *P. aeruginosa*. Принимая во внимание эффективность пенибактерина в отношении многих антибиотико-устойчивых штаммов патогенных микроорганизмов, можно предположить у этого антимикробного вещества многообещающее будущее в качестве нового лекарственного средства.

* Parker Food Science Building, The Ohio State University, 2015 Fyffe Road, Columbus, OH 43210, USA.

IN VITRO АКТИВНОСТЬ СИДЕРОФОРА МОНОСУЛЬФАТА BAL30072 В ОТНОШЕНИИ СОВРЕМЕННЫХ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ИЗ НЬЮ ЙОРК СИТИ (NYC), ВКЛЮЧАЯ ШТАММЫ С МУЛЬТИЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ.

IN VITRO ACTIVITY OF THE SIDEROPHORE MONOSULFACTAM BAL30072 AGAINST CONTEMPORARY GRAM-NEGATIVE PATHOGENS FROM NEW YORK CITY, INCLUDING MULTIDRUG-RESISTANT ISOLATES / D. LANDMAN*, M. SINGH, B. EL-IMAD, E. MILLER, T. WIN, J. QUALE // INTERNATIONAL JOURNAL OF ANTIMICROBIAL AGENTS 2014; 43: 6: 527–532.

Проведена оценка *in vitro* активности BAL30072 в отношении клинических штаммов, выделенных в больницах NYC, включая полученные в ходе широких городских надзорных исследований, и

коллекции штаммов с хорошо охарактеризованными механизмами устойчивости. BAL30072 был самым активным среди беталактамов в отношении *Pseudomonas aeruginosa* (МПК_{50/90}, 0,25/1 мкг/мл), *Acinetobacter baumannii* (МПК_{50/90}, 4/>64 мкг/мл) и КРС-продуцирующих штаммов *Klebsiella pneumoniae* (МПК_{50/90}, 4/>64 мкг/мл). Комбинация BAL30072 с меропенемом вызывала ≥4-кратное снижение МПК₉₀ BAL30072 в отношении *A.baumannii* и *K.pneumoniae*. У 44% штаммов *P. aeruginosa*, 82% — *A.baumannii* и 23% — *K.pneumoniae* с МПК BAL30072 >4 мкг/мл добавление суб-МПК колистина приводило к 4-кратному снижению МПК BAL30072. При суб-МПК BAL30072 плюс колистин бактерицидное действие в «time—kill» экспериментах наблюдалось у 4 из 11 штаммов. Значения МПК BAL30072 для *P.aeruginosa* и *K.pneumoniae* часто были ниже при испытании на Mueller—Hinton agar, чем Iso-Sensitest agar или Mueller—Hinton бульоне. В опытах с хорошо охарактеризованными штаммами пониженная чувствительность к BAL30072 коррелировала с экспрессией *mexA* и *mexX* (*P.aeruginosa*), экспрессией *adeB* (*A.baumannii*) и наличием ESBL SHV-типа (*A.baumannii* и *K.pneumoniae*). Таким образом, BAL30072 показывает обнадеживающую активность в отношении современных грамотрицательных бактерий, в т. ч. MDR *P.aeruginosa*, *A.baumannii* и *K.pneumoniae*. Усиление активности часто наблюдалось при комбинации BAL30072 с меропенемом или колистином. Величины МПК BAL30072 зависели от метода тестирования, особенно для *P.aeruginosa* и *K.pneumoniae*. Дальнейшие исследования *in vivo* позволят определить возможности клинического применения BAL30072 как одного, так и в комбинации с другими препаратами.

* Department of Medicine, Infectious Diseases Division, SUNY Downstate Medical Center, 450 Clarkson Avenue, Box 77, Brooklyn, NY 11203, USA.

ОЦЕНКА АКТИВНОСТИ ЭРТАПЕНЕМА В ОТНОШЕНИИ ШТАММОВ ГОНОКОККОВ С РАЗНОЙ СТЕПЕНЬЮ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К ЦЕФИКСИМУ.

EVALUATION OF THE ACTIVITY OF ERTAPENEM AGAINST GONOCOCCAL ISOLATES EXHIBITING A RANGE OF SUSCEPTIBILITIES TO CEFIXIME / N. QUAYE, M. J. COLE, C. A. ISON* // JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY 2014; 69: 6: 1568—1571.

С появлением проблемы устойчивости к антимикробным препаратам существует потребность в альтернативных антимикробных средствах. Ис-

следовали активность эртапенема в отношении штаммов *Neisseria gonorrhoeae* со сниженной чувствительностью к цефиксиму. Пределы чувствительности к цефиксиму были представлены набором из 52 клинических и 10 контрольных штаммов *N.gonorrhoeae*. Тестирование чувствительности было выполнено по методологии GRASP (Gonococcal Resistance to Antimicrobials Surveillance Programme). Штаммы были типированы с помощью *N.gonorrhoeae* мульти-антигенного сиквенс-типирования (NG-MAST). Согласно этому методу штаммы относились к 42 различным молекулярным типам. Чувствительность клинических штаммов к эртапенему была сходна с таковой к цефиксиму, коэффициент корреляции Пирсона был равен $r=0,89$. Значения МПК₉₀ и МПК₅₀ эртапенема составляли 0,25 и 0,12 мг/л соответственно, тогда как цефиксима 0,12 и 0,06 мг/л. Однако штаммы были более чувствительны к цефтриаксону, чем эртапенему: МІС₉₀ и МІС₅₀ цефтриаксона 0,03 и 0,016 соответственно, $r=0,65$. Все штаммы, наименее чувствительные к эртапенему, не продуцировали пенициллиназу. Один штамм, высокоустойчивый к цефиксиму и цефтриаксону, был более чувствителен к эртапенему. Как показали результаты исследования, эртапенем не представляет альтернативы антибиотикам первой линии при лечении гонореи, но может быть полезен при лечении высокоустойчивых инфекций.

* Sexually Transmitted Bacteria Reference Unit, Microbiological Services, Public Health England, 61 Colindale Avenue, London NW9 5EQ, UK.

БЕЗОПАСНОСТЬ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ЭРТАПЕНЕМОМ У АМБУЛАТОРНЫХ БОЛЬНЫХ.

SAFETY AND EFFICACY OF LONG-TERM OUTPATIENT ERTAPENEM THERAPY / Z. A. QURESHI, A. SYED, Y. DOI* // ANTIMICROBIAL AGENTS CHEMOTHERAPY 2014; 58: 6: 3437—3440.

Эртапенем всё чаще назначают при парентеральной антимикробной терапии амбулаторных больных, но сведения об эффективности и безопасности продолжительного курса эртапенема ограничены. Было выполнено ретроспективное когортное обследование взрослых больных, получавших амбулаторную терапию эртапенемом в данном медицинском центре в период 2010—2013 гг. Основными показаниями к назначению эртапенема 306 больным были внутрибрюшинные инфекции (38%), последствия пневмонии (12%), инфекции костей и суставов (11%), кровотока (10%), мочевого тракта (10%), мест хирургического вмеша-

тельства (5%), кожи и мягких тканей (4%). Из 306 больных 68 находились под регулярным наблюдением в клинике инфекционных болезней, 91% которых успешно прошёл курс лечения эртапенемом. Из 6 больных с неблагоприятным клиническим исходом, у 2 терапия была прервана из-за побочных эффектов, а 4 потребовалось дополнительное контрольное лечение для достижения клинического успеха. У 2 больных в течение 6 месяцев наблюдались рецидивы инфекции.

Division of Infectious Diseases, University of Pittsburgh School of Medicine, Pittsburgh, Pennsylvania, USA.

ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ГОСПИТАЛИЗИРОВАННЫХ БОЛЬНЫХ, НОСИТЕЛЕЙ ПРОДУЦИРУЮЩИХ КРС ШТАММОВ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*.

PREDICTIVE MODELS FOR IDENTIFICATION OF HOSPITALIZED PATIENTS HARBORING KPC-PRODUCING *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* / M. TUMBARELLO*, E. M. TRECARCHI, F. TUMIETTO, V. DEL BONO, F. G. DE ROSA, M. BASSETTI, A. R. LOSITO, S. TEDESCHI, C. SAFFIOTI, S. CORCIONE, M. GIANNELLA, F. RAFFAELLI, N. PAGANI, M. BARTOLETTI, T. SPANU, A. MARCHESE, R. CAUDA, C. VISCOLI, P. VIALE // ANTIMICROBIAL AGENTS CHEMOTHERAPY 2014; 58: 6: 3514–3520.

Образование представителями Enterobacteriaceae карбапенемаз *Klebsiella pneumoniae* (КРС) в последние годы становится существенной проблемой. Для идентификации факторов, которые могут прогнозировать выделение КРС-продуцирующих штаммов *K. pneumoniae* (КРСКР) в клинических образцах, было выполнено ретроспективное наблюдательное (1:2) «случай—контроль» исследование в 5 крупных итальянских больницах. В группу «случай» входили взрослые больные, у которых при нахождении в стационаре из клинических проб, по крайней мере, один раз была выделена культура КРСКР. Для каждого «случая», включённого в исследование, были рандомизировано выбраны 2 «контроля» с КРСКР-положительными культурами любого типа в период госпитализации. Наблюдение включало больницу, отделение, месяц/год поступления и время риска выделения КРСКР. Была выделена аналитическая подгруппа для идентификации факторов риска, особо связанных с истинной КРСКР инфекцией. Независимыми прогностическими факторами выделения КРСКР были недавнее поступление в отделение интенсивной терапии, внутренний мочевого катетер, центральный венозный катетер и/или хирургический дренаж, 2 и более недавние госпитализации, рак

крови, терапия фторхинолонами или карбапенемами в последнее время. Независимыми факторами риска КРСКР инфекции были индекс Карлсона ≥ 3 , недавнее хирургическое вмешательство, нейтропения, 2 и более госпитализации, лечение фторхинолонами или карбапенемами в последнее время. Разработанные модели для прогнозирования выделения и инфекции КРСКР продемонстрировали хорошие прогностические качества с областями рабочей характеристической кривой 0,82 (95% ДИ 0,80–0,84) и 0,82 (95% ДИ 0,80–0,85) соответственно. Данное исследование содержит новую информацию, полезную при лечении больных, носителей КРСКР, и контроле за распространением микроорганизма.

* Institute of Infectious Diseases, Catholic University of the Sacred Heart, A. Gemelli Hospital, Rome, Italy.

ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ ЛЕКАРСТВЕННЫЙ МОНИТОРИНГ (ТЛМ) АНТИГРИБКОВЫХ ПРЕПАРАТОВ: РУКОВОДСТВО БРИТАНСКОГО ОБЩЕСТВА ПО МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ.

THERAPEUTIC DRUG MONITORING (TDM) OF ANTIFUNGAL AGENTS: GUIDELINES FROM THE BRITISH SOCIETY FOR MEDICAL MYCOLOGY / H. R. ASHBEE*, R. A. BARNES, E. M. JOHNSON, M. D. RICHARDSON, R. GORTON, W. W. HOPE // JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY 2014; 69: 5: 1162–1176.

Груз болезней человека, связанных с основными патогенными грибами, очень существенен. Результатом терапевтического лекарственного мониторинга (ТЛМ) становится лучшее понимание противогрибковой фармакологии и противогрибковой фармакокинетики-фармакодинамики, что является ценным дополнением к рутинному применению некоторых противогрибковых препаратов. ТЛМ может повысить вероятность успешного исхода, предотвратить связанную с лекарством токсичность и появление устойчивости к противогрибковым препаратам. В руководстве освещена обширная литература и даны рекомендации по ТЛМ противогрибковых препаратов.

* Mycology Reference Centre, Department of Microbiology, Leeds General Infirmary, Leeds LS1 3EX, UK.

КОМБИНАЦИЯ ФЛУКОНАЗОЛА С ЛЕКАРСТВЕННЫМИ ПРЕПАРАТАМИ, НЕ ОБЛАДАЮЩИМИ АНТИГРИБКОВЫМИ СВОЙСТВАМИ: МНОГООБЕЩАЮЩИЙ ПОХОД ДЛЯ ПРЕОДОЛЕНИЯ

**ИНФЕКЦИЙ, ВЫЗВАННЫХ УСТОЙЧИВЫМИ
ШТАММАМИ *CANDIDA ALBICANS*,
И ОТКРЫТИЯ НОВЫХ АНТИГРИБКОВЫХ ЛЕКАРСТВ.**

**COMBINATION OF FLUCONAZOLE WITH
NON-ANTIFUNGAL AGENTS: A PROMISING APPROACH
TO COPE WITH RESISTANT *CANDIDA ALBICANS*
INFECTIONS AND INSIGHT INTO NEW ANTIFUNGAL
AGENT DISCOVERY /S. LIU, Y. HOU, X. CHEN, Y. GAO,
H. LI, S. SUN*// INTERNATIONAL JOURNAL
OF ANTIMICROBIAL AGENTS 2014; 43: 5: 395—402.**

Прошедшие десятилетия свидетельствуют о драматическом нарастании инвазивных грибковых инфекций, особенно кандидозов. Несмотря на разработку более эффективных противогрибковых препаратов, флуконазол (ФЛК) всё ещё широко используется в клинике благодаря эффективности и низкой токсичности. Наряду с ростом числа леченных ФЛК больных, всё чаще выявляются устойчивые к ФЛК штаммы *Candida albicans*. Кроме того, обычными становятся инфекции, ассоциированные с образованием биоплёнок, устойчивость которых создаёт проблемы в антигрибковой терапии. Для того чтобы купировать неудачи лечения, предлагаются различные подходы к увеличению чувствительности *C. albicans* к ФЛК, к которым относятся комбинации ФЛК с антибактериальными соединениями других классов, не обладающими антигрибковыми свойствами, как-то ингибиторами кальциейрина, ингибиторами белка 90 теплового шока, регуляторами гомеостаза кальция, медикаментами традиционной китайской медицины. Интересно, что многие из этих комбинаций показали синергидный эффект в отношении *C. albicans*, особенно устойчивых штаммов. Главными механизмами синергидного действия являются увеличение проницаемости мембраны, снижение выброса противогрибковых лекарств, нарушение внутриклеточного гомеостаза ионов, подавление активности белков и ферментов, необходимых для жизнедеятельности грибка, а также подавление образования биоплёнки. Характер действия и антигрибковые механизмы, изложенные в статье, подчёркивают мысль о достижении обратимости грибковой устойчивости через различные механизмы. Результаты исследований взаимодействия лекарств дают надежду найти новые подходы в преодолении антигрибковой устойчивости и открыть новые антигрибковые препараты.

* Department of Pharmacy, Qianfoshan Hospital Affiliated to Shandong University, Jinan 250014, Shandong Province, People's Republic of China.

**ДЕЙСТВИЕ ФЛУКОНАЗОЛА, КАСПОФУНГИНА,
АНИДУЛАФУНГИНА И АМФОТЕРИЦИНА В**

**НА КЛЕТКИ ПЛАНКТОНА И БИОПЛЁНКИ ВИДОВ
CANDIDA, ОПРЕДЕЛЁННОЕ МИКРОКАЛОРИМЕТРИЕЙ.**

**ACTIVITIES OF FLUCONAZOLE, CASPOFUNGIN,
ANIDULAFUNGIN, AND AMPHOTERICIN B
ON PLANKTONIC AND BIOFILM *CANDIDA* SPECIES
DETERMINED BY MICROCALORIMETRY /M. MAIOLO,
U. FURUSTRAND TAFIN, O. BORENS, A. TRAMPUZ* //
ANTIMICROBIAL AGENTS CHEMOTHERAPY 2014;
58: 5: 2709—2717.**

Исследовали действие флуконазола, каспофунгина, анидулафунгина и амфотерицина В в отношении планктонных и образующих биоплёнку клеток у различных видов *Candida*, используя высокочувствительный метод измерения образования тепла в процессе роста (микрокалориметрия). Были протестированы *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, и *C. parapsilosis* и определены значения МПК микроразведениями в бульоне. Противогрибковая активность была определена изотермальной микрокалориметрией при 37°C в RPMI 1640. В случае планктонных клеток *Candida* измеряли выделение тепла в присутствии разведений антимикотиков в течение 24 ч. Биоплёнку *Candida*, выращенную на пористых стеклянных носителях в течение 24 ч, экспонировали с разведениями антимикотиков 24 ч и в течение 48 ч измеряли выделение тепла. За минимальную подавляющую выделение тепла концентрацию (МНКС) была принята самая низкая концентрация антимикотика, подавляющая пик выделения тепла на 50% (90% для амфотерицина В) для планктонных клеток на 24 ч, для клеток биоплёнки — 48 ч (измеренная на 24 ч). Флуконазол и амфотерицин В показали более высокие значения МНКС для планктонных клеток (0,25 — >512 мкг/мл и 0,25—1 мкг/мл соответственно), чем анидулафунгин и каспофунгин (0,015—0,5 мкг/мл и 0,125—0,5 мкг/мл соответственно). В отношении биоплёнок *Candida* spp. активность флуконазола снизилась более чем в 1000 раз при сравнении с планктонными клетками, тогда как эхинокандины и амфотерицин В, главным образом, сохранили свою активность. При суб-МПК флуконазол индуцировал рост планктонных клеток *C. krusei*. При высоких концентрациях каспофунгина (>4 мкг/мл) наблюдали парадоксальный рост планктонных клеток *C. albicans* и *C. glabrata*. Итак, микрокалориметрия способна в реальном времени оценить противогрибковую активность в отношении клеток *Candida* species как планктонных, так и биоплёнки. В будущем это может быть полезно при оценке новых противогрибковых соединений и их комбинаций, а также при изучении устойчивых штаммов.

* Charité—University Medicine, Center for Musculoskeletal Surgery, Berlin, Germany.

**СПОСОБНОСТЬ ИНГИБИТОРОВ СИНТЕЗА
ЭРГОСТЕРОЛА ВЫЗЫВАТЬ УСТОЙЧИВОСТЬ
И ПЕРЕКРЕСТНУЮ УСТОЙЧИВОСТЬ
У *TRICHOPHYTON RUBRUM*.**

**POTENTIAL OF ERGOSTEROL SYNTHESIS INHIBITORS
TO CAUSE RESISTANCE OR CROSS-RESISTANCE
IN *TRICHOPHYTON RUBRUM* / E. GHELARDI,
F. CELANDRONI, S. A. GUEYE, S. SALVETTI*, S. SENESI,
A. BULGHERONI, F. MAILLAND // ANTIMICROBIAL
AGENTS CHEMOTHERAPY 2014; 58: 5: 2825—2829.**

Поверхностные микозы, вызванные *Trichophyton rubrum*, являются наиболее обычными, широко распространёнными инфекциями, трудно поддающимися лечению, и часто ассоциируются с рецидивами после окончания противогрибкового лечения. Тем не менее сообщения об устойчивости *T. rubrum* к обычно применяемым антимикотикам редки. Сравнивали частоту *in vitro* устойчивости и развитие устойчивости *T. rubrum* к тербинафину, итраконазолу, аморолфину и циклопироксу. Как показали результаты, спонтанные мутанты выделяли с частотой, равной 10^{-7} для итраконазола и 10^{-9} для тербинафина и аморолфина. Для того чтобы воссоздать условия тех областей тела, в которых в процессе лечения наблюдается низкий уровень лекарства, выполняли 10 пассажей *T. rubrum* на среде с субингибиторными концентрациями лекарства. Частота появления устойчивости к итраконазолу, тербинафину и аморолфину была выше, чем при спонтанной мутации. Устойчивые к итраконазолу мутанты характеризовались пониженной чувствительностью к аморолфину и тербинафину, также как устойчивые к аморолфину мутанты были менее чувствительны к тербинафину. Мутантов, устойчивых к циклопироксу выделено не было, что, возможно, объясняется отсутствием склонности у *T. rubrum* развивать устойчивость к данному препарату. Обсуждаются различные механизмы, которые могут служить толчком к развитию устойчивости.

* Department of Translational Research and New Technologies in Medicine and Surgery, University of Pisa, Pisa, Italy.

**MSG-01: РАНДОМИЗИРОВАННОЕ ДВОЙНОЕ СЛЕПОЕ
ПЛАЦЕБО-КОНТРОЛИРУЕМОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
ПРОФИЛАКТИКИ КАСПОФУНГИНОМ ПОСЛЕ
ПРЕВЕНТИВНОГО ЛЕЧЕНИЯ ИНВАЗИВНОГО КАНДИДОЗА
У ВЗРОСЛЫХ БОЛЬНЫХ ГРУППЫ ВЫСОКОГО РИСКА
В ОТДЕЛЕНИИ ИНТЕНСИВНОЙ ТЕРАПИИ.**

**MSG-01: A RANDOMIZED, DOUBLE-BLIND,
PLACEBO-CONTROLLED TRIAL OF CASPOFUNGIN
PROPHYLAXIS FOLLOWED BY PREEMPTIVE THERAPY
FOR INVASIVE CANDIDIASIS IN HIGH-RISK ADULTS**

IN THE CRITICAL CARE SETTING /

**L. OSTROSKY-ZEICHNER*, S. SHOHAM, J. VAZQUEZ,
A. REBOLI, R. BETTS, M. A. BARRON, M. SCHUSTER,
M. A. JUDSON, S. G. REVANKAR, J. P. CAEIRO,
J. E. MANGINO, D. MUSHATT, R. BEDIMO, A. FREIFELD,
M. H. NGUYEN, C. A. KAUFFMAN, W. E. DISMUKES,
A. O. WESTFALL, J. B. DEERMAN, C. WOOD, J. D. SOBEL,
P. G. PAPPAS // CLINICAL INFECTIOUS DISEASES
2014; 58: 9: 1219—1226.**

Инвазивный кандидоз — третья наиболее общая инфекция кровотока в отделении интенсивной терапии (ОИТ), характеризующаяся распространённостью и смертностью. Предпочтительной стратегией в ОИТ являются профилактика и упреждающая терапия. Было выполнено многоцентровое рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое испытание каспофунгина в качестве профилактического противогрибкового средства на протяжении не менее 3 дней у 222 взрослых больных ОИТ, находящихся на искусственной вентиляции, получающих антибиотикотерапию, присоединённых к Центральной линии, и имеющих один дополнительный фактор риска (парентеральное питание, диализ, хирургическое вмешательство, панкреатит, системную терапию стероидами или другими иммунодепрессантами). У больных дважды в неделю контролировали уровень (1,3)- β -D-глюкана. Первичным показанием к назначению была доказанная или предполагаемая заболеваемость инвазивным кандидозом, согласно критериям EORTC/MSG, у больных, не имеющих заболевания при поступлении. Больным с инвазивным кандидозом можно было получать гласную превентивную терапию каспофунгином. В группу упреждающей терапии включали больных, получавших испытываемое лекарство, показавших положительную пробу при поступлении. Случаи подтверждённого/предполагаемого инвазивного кандидоза в группах плацебо и получавших каспофунгин составили 16,7% (14/84) и 9,8% (10/102) при профилактике ($p=0,14$), и 30,4% (31/102) и 18,8% (22/117) при упреждающей терапии ($p=0,04$) соответственно. Однако при анализе были включены больные с заболеванием при поступлении. Существенных различий в показателях смертности, потребления антимикотиков и продолжительности пребывания в стационаре не было, так же как и в показателях безопасности. Таким образом, каспофунгин был безопасен, снижал число случаев инвазивного кандидоза при использовании в качестве профилактического средства, но без существенных статистических различий. Упреждающая терапия заслуживает дальнейшего изучения.

* MD, FACP, FIDSA, University of Texas Medical School at Houston and Memorial Hermann Texas Medical Center, 6431 Fannin, MSB 2.112, Houston, TX 77030.

Материал подготовлен Н. С. Бондаревой

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 (м) и прописные (М) 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, О — 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.

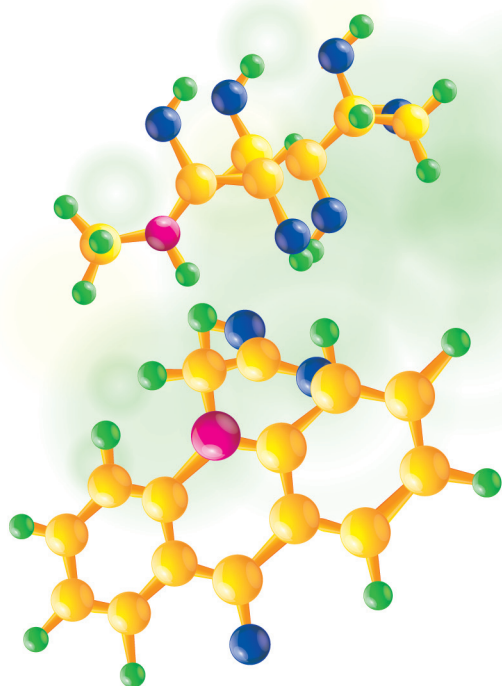
16. Статьи, принятые в журнал, проходят рецензирование. Редакция и издательство не несут ответственности за мнения, изложенные в публикациях, а также за содержание рекламы.

17. Рукописи отклонённых работ редакция не возвращает.

ЦИКЛОФЕРОН®

умное лекарство для лечения и профилактики гриппа и ОРВИ

БЕЗ РЕЦЕПТА



- ✓ Самый быстрый индуктор интерферона*
- ✓ Обладает прямым противовирусным действием
- ✓ Разрешен детям с 4-х лет и взрослым
- ✓ Сохраняет высокую эффективность даже при частом применении
- ✓ Снижает риск развития осложнений при гриппе и ОРВИ в 9 раз**

таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой 150 мг, N 10, 20, 50

ООО «НАУЧНО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ
ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ
ФИРМА «ПОЛИСАН»
INFO@POLYSAN.RU WWW.POLYSAN.RU

РОССИЯ, 192102, Г. САНКТ-ПЕТЕРБУРГ,
УЛ. САЛОВА, Д. 72, КОР. 2, ЛИТ. А,
ТЕЛ.: +7 (812) 710-82-25
ФАКС: +7 (812) 764-62-84



* Ершов Ф.И., Киселев О.И. Интерфероны и их индукторы (от молекулы до их лекарств). - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2005.

** Доказано клинически (Исаков В.А., Романцов М.Г. и соавт. Эффективность Циклоферона в терапии и профилактике гриппа и ОРЗ. РМЖ 11, 2011).