

ISSN 0235-2990

АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

Том 63



3-4'2018

Научно-практический журнал

Учредители:

Министерство здравоохранения
Российской Федерации

Государственный научный
центр по антибиотикам

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

«Antibiotics and Chemotherapy»
Issued 12 times a year
Since 1956

АДРЕС РЕДАКЦИИ:

117105 Москва, Нагатинская ул., д. 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
Сайт: www.jantchem.ru

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»



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 2018

Типография:
ООО «Литера»

Дата выхода: 2018

Свободная цена

АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

ANTIBIOTICS AND CHEMOTHERAPY

Том 63

3—4'2018

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

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. Хрянин А. А.
Проф., д. м. н. Яковлев С. В.
Проф. Яроцкий С. В.

Научные редакторы

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

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

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

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

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

Оригинальные статьи

Original Papers

Луценко С. В., Громовых Т. И., Каширин В. В.,
Курьяков В. Н., Баранова А. А.,
Садыкова В. С., Фельдман Н. Б.
Исследование *in vitro* противоопухолевой
и антимикробной активности препарата
пэгиллированных липосом с Сангвинарином

3 Lutsenko S. V., Gromovykh T. I., Kashirin V. V.,
Kuryakov V. N., Baranova A. A.,
Sadykova V. S., Feldman N. B.
In Vitro Study of Antitumor and Antimicrobial Activity
of a Preparation of Pegylated Liposomes
with Sanguinarine

Рогожин Е. А., Смирнов А. Н.
Антибиотический потенциал защитных пептидов семян
сорного злака — ежовника обыкновенного
(*Echinochloa crusgalli* L.)

8 Rogozhin E. A., Smirnov A. N.
Antibiotic Potential of Defense Peptides Derived
from the Seeds of a Wild Grass — Barnyard Grass
(*Echinochloa crusgalli* L.)

Сагиев З. А., Утепова И. Б., Мусагалиева Р. С.,
Алыбаев С. Д., Кульбаева М. М.,
Исмаилова А. О., Алдибекова А. А.
Устойчивость к антибактериальным препаратам штаммов
холерного вибриона, выделенных в Казахстане

12 Sagiyeu Z. A., Utepova I. B., Mussagaliyeva R. S.,
Alybayev S. D., Kulbayeva M. M.,
Ismailova A. O., Aldibekova A. A.
Antibiotic Resistance of *Vibrio cholera*
Strains Isolated in Kazakhstan

В помощь практикующему врачу

Guidelines for Practitioners

Родоман Г. В., Сумеди И. Р., Зырянов С. К., Ивжиц М. А.,
Курмашев А. Ф., Иониди П. В., Пуцман Г. А., Кучук А. О.
Современные маски инфекционного эндокардита

18 Rodoman G. V., Sumedi I. R., Zyryanov S. K., Ivzhits M. A.,
Kurmashiev A. F., Ionidi P. V., Putsman G. A., Kuchuk A. O.
Modern Masks of Infectious Endocarditis

Шульдьяков А. А., Ляпина Е. П., Соболева Л. А.,
Романцов М. Г., Перминова Т. А.,
Кузнецов В. И., Наркайтис Л. С.
Использование индукторов интерферона
в клинике инфекционных болезней

28 Shuldyakov A. A., Lyapina E. P., Soboleva L. A.,
Romantsov M. G., Perminova T. A.,
Kuznetsov V. I., Narkaitis L. S.
The Use of Interferon Inducers
in an Infectious Disease Clinic

Блатун Л. А., Складан Г. Е., Терехова Р. П., Прудникова С. А.,
Крутиков М. Г., Андрейцева О. И., Ян М. Н., Никитин А. А.,
Ушаков А. А., Аскеров Н. Г., Митиш В. А., Пасхалова Ю. С.,
Муньос Сэпэда П. А., Магомедова С. Д., Соков С. Л.
Грибковая инфекция в хирургическом стационаре.
Системная и местная противогрибковая терапия

37 Blatun L. A., Skladan G. E., Terekhova R. P., Prudnikova S. A.,
Krutikov M. G., Andreytseva O. I., Yan M. N., Nikitin A. A.,
Ushakov A. A., Askerov N. G., Mitish V. A., Paskhalova Yu. S.,
Munios Sepeda P. A., Magomedova S. D., Sokov S. L.
Fungi Infection in Surgical Department.
Systemic and Local Antifungal Therapy

Белов Б. С.
Болезнь Уиппла

44 Belov B. S.
Whipple's Disease

Обзоры

Reviews

Андрюков Б. Г., Беседнова Н. Н.,
Запорожец Т. С., Бынина Н. П.
Бактериальные токсин-антитоксигенные системы и новые
стратегии создания антибактериальных препаратов

50 Andryukov B. G., Besednova N. N.,
Zaporozhets T. S., M. P. Bynina
Bacterial Toxin-Antitoxin Systems and New Strategies
for Creating Antibacterial Preparations

* 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.

Исследование *in vitro* противоопухолевой и антимикробной активности препарата пэгилированных липосом с Сангвинарином

С. В. ЛУЦЕНКО¹, Т. И. ГРОМОВЫХ¹, В. В. КАШИРИН¹, В. Н. КУРЬЯКОВ²,
А. А. БАРАНОВА³, В. С. САДЫКОВА³, Н. Б. ФЕЛЬДМАН¹

¹ Первый московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова Минздрава России, Москва

² Институт проблем нефти и газа РАН, Москва

³ НИИ по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе, Москва

In Vitro Study of Antitumor and Antimicrobial Activity of a Preparation of Pegylated Liposomes with Sanguinarine

S. V. LUTSENKO¹, T. I. GROMOVYKH¹, V. V. KASHIRIN¹, V. N. KURYAKOV²,
A. A. BARANOVA³, V. S. SADYKOVA³, N. B. FELDMAN¹

¹ I. M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow

² Oil and Gas Research Institute RAS, Moscow

³ Gause Institute of New Antibiotics, Moscow

Сангвинарин представляет собой растительный алкалоид, обладающий широким спектром биологической активности. Эффективность действия сангвинарина может быть увеличена путём его интегрирования в липосомные наночастицы. Целью настоящего исследования являлось получение и очистка пэгилированного липосомного сангвинарина, изучение его свойств, а также противоопухолевой и антимикробной активности *in vitro*. Были получены пэгилированные липосомные наночастицы, содержащие сангвинарин. Размер липосом составлял $61,8 \pm 5,7$ нм; эффективность включения сангвинарина в липосомы составляла $82,3 \pm 4,9\%$. Изучено высвобождение сангвинарина из липосомных частиц; продемонстрирован его пролонгированный характер. Исследование *in vitro* показало, что липосомный сангвинарин проявлял дозозависимую цитотоксическую активность в отношении опухолевых клеток линий MCF-7 (12,8 мкМ), L1210 (17,4 мкМ), A431 (18,67 мкМ) и HepG2 (20,7 мкМ). Антимикробное действие липосомной формы препарата было установлено в отношении грамположительных (*B. subtilis* ATCC 6633 и *B. coagulans* 429) и грамотрицательных (*E. coli* ATCC 8739) бактерий, а также условно-патогенных грибов *Aspergillus ustus* 6K. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности дальнейшего исследования пэгилированного липосомного сангвинарина в качестве противоопухолевого и антимикробного агента.

Ключевые слова: сангвинарин, пэгилированные липосомы, противоопухолевая активность, антимикробная активность.

Sanguinarin is a plant alkaloid with a wide spectrum of biological activity. The effectiveness of sanguinarin can be increased by its integration into liposomal nanoparticles. The aim of this study was to obtain and purify the pegylated liposome sanguinarine, to study its properties, as well as antitumor and antimicrobial activity *in vitro*. Pegylated liposome nanoparticles containing sanguinarine were obtained. The size of the liposomes was 61.8 ± 5.7 nm; the effectiveness of the inclusion of sanguinarine in liposomes was $82.3 \pm 4.9\%$. The article studies the release of sanguinarin from liposome particles and demonstrates its prolonged nature. An *in vitro* study showed that liposomal sanguinarine exhibited dose-dependent cytotoxic activity against tumor cells of MCF-7 (12.8 μ M), L1210 (17.4 μ M), A431 (18.67 μ M) and HepG2 (20.7 μ M). The antimicrobial effect of the liposome form of the drug was established for Gram-positive (*B. subtilis* ATC 6633 and *B. coagulans* 429) and Gram-negative (*E. coli* ATCC 8739) bacteria, as well as opportunistic fungi *Aspergillus ustus* 6K. The results indicate the prospects of further study of pegylated liposomal sanguinarine as an antitumor and antimicrobial agent.

Keywords: Sanguinarin, pegylated liposomes, antitumor activity, antimicrobial activity.

Введение

Сангвинарин — бензофенантридиновый алкалоид, содержащийся в ряде лекарственных растений — *Macleaya cordata*, *Sanguinaria canadensis*, *Glaucium flavum*, *Poppy fumaria*, *Bocconia frutescens*, *Chelidonium majus* и др. В ряде исследований проде-

монстрировано действие сангвинарина на различные клеточные мишени. Сангвинарин обладает антимикробным [1], антибактериальным [2], противогрибковым [3] и антипролиферативным действием в отношении эукариотических клеток [4]. Сангвинарин влияет на проницаемость мембран [5], сборку тубулиновых микротрубочек [6], подавляет ангиогенез [7], а также ингибирует активность целого ряда ферментов [5, 8—10]. В последние годы появляется всё больше сообщений о про-

© Коллектив авторов, 2018

Адрес для корреспонденции: 119021 Москва, ул. Б. Пироговская, д. 11, стр. 1. НИИНА им. Г.Ф. Гаузе

тивоопухоловом действии сангвинарина [11–13]. Несмотря на высокий противоопухолевый потенциал, в некоторых работах продемонстрированы гепатотоксические [14–17] и кардиотоксические эффекты сангвинарина [18, 19], которые могут обуславливать его побочные эффекты при проведении противоопухолевой химиотерапии. Токсическое действие сангвинарина может быть значительно снижено при его применении в составе липосомных наночастиц, которые обеспечивают преимущественное накопление действующего вещества в опухолевой ткани [20].

Однако к недостаткам липосомных наночастиц следует отнести их быстрый захват из кровотока макрофагами ретикуло-эндотелиальной системы [21]. Увеличения времени циркуляции в кровотоке и противодействия захвату липосомных частиц макрофагами можно добиться путём модификации поверхности липосом с помощью липидных производных полиэтиленгликоля (ПЭГ) [22]. В связи с этим задачей настоящей работы было получение и характеристика липосом с поверхностью, модифицированной с помощью пэгиллированного фосфолипида (ПЭГ-2000-фосфатидилхолин), включающих сангвинарин. Также представляло интерес исследование в экспериментах *in vitro* противоопухолевой активности полученных липосом и их антимикробной активности.

Материал и методы

Материалы. В работе использовали сангвинарин, L- α -фосфатидилхолин, холестерин, 1,2-дистеарил-*sn*-глицеро-3-фосфоэтаноламин-N-[метокси(полиэтиленгликоль)-2000] (DSPE-PEG-2000), 4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновую кислоту (HEPES), фосфатно-солевой буфер (PBS), сахарозу, Сефадекс G-50 (Sigma Chemicals Co., США), хлороформ, метанол, ацетонитрил, фосфорную кислоту, ЭДТА (Pan Reac Appli Chem, Германия).

Получение липосомной формы сангвинарина. Липосомы получали с помощью модифицированного метода [23] гидратации тонкослойной плёнки буферным раствором (HEPES) с последующим многократным замораживанием—оттаиванием дисперсии. Первоначально готовили исходные растворы фосфатидилхолина, холестерина, DSPE-PEG-2000 и сангвинарина в хлороформе. К смеси фосфатидилхолина и холестерина в хлороформе (молярное соотношение 2:1) добавляли DSPE-PEG-2000 и сангвинарин. Органический растворитель удаляли на ротационном испарителе до формирования тонкой липидной плёнки, которую гидратировали при 65°C добавлением буфера (20 mM HEPES, pH 7,4). Дисперсию инкубировали на водяной бане при 50°C в течение 1 ч при встряхивании для получения мультивезикулярных липосом. Суспензию подвергали 10-кратному замораживанию в жидком азоте и оттаиванию на водяной бане при 50°C. Наноразмерные липосомы получали с помощью экструдера путём девятикратного продавливания полученной дисперсии через поликарбонатный ядерный фильтр с размером пор 100 нм.

Определение формы, размера частиц. Изучение формы и размеров полученных липосомных частиц осуществляли на сканирующем электронном микроскопе JEOL JSM-6490LV (Япония). Исследуемые пробы покрывались 20 нм (40 с при 40 мА) слоем платины в автоматическом коутере JEOL JFC-1600. Измерение размеров частиц проводили методом динамического рассеяния света или фотонной корреляционной спект-

роскопии на оборудовании Photocor Compact (Россия), угол рассеяния 90°, лазер 654 нм, 30 мВт [24]. Измерения проводились при температуре 25°C, время накопления корреляционных функций 60 с.

Очистка липосом. Для очистки липосомной дисперсии от не включившегося в везикулы препарата использовали колоночную гель-фильтрацию. На колонку с носителем Сефадекс G-50, уравновешенным буферным раствором (20 mM HEPES, pH 7,4), содержащим 5% сахарозы, наносили 1 мл липосомной дисперсии сангвинарина. Элюирование препарата липосом проводили тем же буферным раствором при скорости потока 0,5 мл/мин. Процесс очистки контролировали с помощью детектора при λ 310 нм. На выходе из колонки получали две фракции: очищенный липосомный и не включившийся в липосомы сангвинарин. Фракции, содержащие липосомный препарат, объединяли и лиофильно высушивали с помощью лиофилизационной сушилки «Alpha 1-2LD plus» (Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH, Germany) при –45°C в течение 48 ч. Препарат хранили в лиофилизированном виде; для исследований лиофилизированный препарат ресуспендировали в соответствующем буферном растворе.

Определение степени включения сангвинарина в липосомы. Для определения эффективности инкапсулирования сангвинарина в липосомы использовали метод HPLC. Суспензию липосом диализировали против PBS. К 100 мкл препарата липосом после диализа добавляли 200 мкл метанола, перемешивали и подвергали обработке ультразвуком в течение 5 мин. Затем образец центрифугировали и отбирали 60 мкл супернатанта для HPLC-анализа. Анализ проводили с помощью хроматографа Agilent Technologies 1260 Infinity (США) на обращенно-фазовой колонке C18. Подвижная фаза состояла из смеси ацетонитрила и фосфорной кислоты 0,1% (51:49 v/v) при скорости потока 1 мл/мин. Элюат с колонки мониторируют при длине волны 310 нм. Концентрацию сангвинарина определяли по калибровочному графику, построенному с помощью стандартного образца сангвинарина. Эффективность включения сангвинарина в липосомы (Е) рассчитывали по формуле:

$$E = \frac{(\text{Количество сангвинарина в липосомах, мг})}{(\text{Общее количество сангвинарина, мг})} \times 100\%,$$

Исследование динамики высвобождения сангвинарина из липосом. Изучение динамики высвобождения сангвинарина проводили с помощью метода диализа [25]. Перед использованием диализные мешки кипятили в воде в течение 10 мин с добавлением ЭДТА, промывали и оставляли в деионизированной воде в течение 12 ч. Липосомную дисперсию (50 мл) в диализном мешке помещали в термостатируемый шейкер и диализировали при 37°C в течение 3 сут при перемешивании (50 об/мин) против буферного раствора (40 mM фосфатно-солевой буфер, pH 7,4), содержащего 1% метанол. В качестве контроля использовали свободный сангвинарин, который диализировали в аналогичных условиях. Образцы отбирали для анализа через определённые промежутки времени, добавляя к исходному диализному раствору тот же объём свежего буфера. Содержание сангвинарина в диализате определяли с помощью HPLC.

Определение цитотоксической активности липосомного сангвинарина *in vitro*. В работе использовали опухолевые клетки линий A431 (эпидермоидная карцинома человека) и MCF-7 (аденокарцинома молочной железы человека), HepG2 (клетки гепатобластомы человека) и L1210 (мышинный лимфобластный лейкоз). Клетки исследуемых линий за 1 сут до эксперимента рассеивали в 96-луночные планшеты для микротитрования (Corning, США) в среде для культивирования в плотности 5–7 тыс клеток в лунку. Инкубировали клетки с растворами исследуемых препаратов в различных концентрациях в стандартных условиях 72 ч, после чего определяли выживаемость клеток с помощью МТТ-теста согласно методике [26]. ЦТА препарата выражали в единицах IC₅₀ (молярная концентрация препарата, вызывающая гибель 50% клеток).

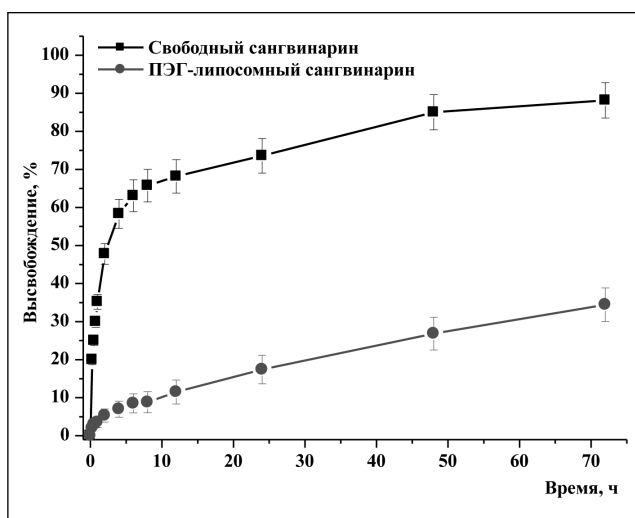


Рис. 1. Динамика высвобождения свободного и ПЭГ-липосомного сангвинарина из буферного раствора (40 мМ фосфатно-солевой буфер, pH 7,4).

Определение антимикробной активности липосомного сангвинарина. Антимикробную активность липосомного сангвинарина оценивали методом диффузии в агар на тест-культурах условно-патогенных грибов и бактерий из коллекции культур НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе. Условно-патогенные грибы принадлежали к микромицетам рода *Aspergillus*: *A. ustus* 6K, *A. fumigatus* КБП F24, *A. niger* INA 00760; дрожжевые условно-патогенные грибы — *Candida albicans* ATCC 2091. Антибактериальное действие определяли с использованием тест-культур штаммов грамположительных (*Bacillus subtilis* ATCC 6633, *B. coagulans* 429) и грамотрицательных (*E. coli* ATCC 8739) бактерий. Использовали стерильные бумажные диски (бумага фильтровальная Ф ГОСТ 12026-76), для чего на диск наносили 100 мкл препарата с концентрацией 0,18 мг/мл (18 мкг/диск) и высушивали в стерильных условиях [27]. Контролем чувствительности тест-организма служили стандартные диски с амфотерицином В («НИИ Пастера», 40 мкг/мл) и амоксиклавом («НИИ Пастера», 10 мкг/мл).

Результаты исследования

Пэгилированные липосомы получали методом гидратации тонкослойной плёнки фосфатным буфером с последующей обработкой дисперсии ультразвуком и последующим калиброванием липосом по размеру с помощью мембраны экструдера с размером пор 100 нм. По данным электронной микроскопии, липосомы, содержащие сангвинарин, представляют собой наноразмерные частицы сферической формы. Средний размер пэгилированных липосом с сангвинарином, определённый методом динамического светорассеяния, составлял $61,8 \pm 5,7$ нм. Эффективность включения сангвинарина в пэгилированные липосомы составляла $82,3 \pm 4,9\%$.

Мы также исследовали динамику высвобождения сангвинарина из пэгилированных липосом при pH 7,4. В данном эксперименте моделируется ситуация высвобождения сангвинарина из липосом, которая может происходить в крови после внутривенного введения препарата. Как видно на

рис. 1, высвобождение липосомного сангвинарина носит значительно более пролонгированный характер по сравнению со свободным веществом. Хотя в течение первого часа эксперимента в обоих случаях высвобождение препарата происходит с наиболее высокой скоростью, свободного препарата высвобождается значительно больше. Так, через 1 ч свободного препарата высвобождается $35,21 \pm 1,92\%$, а из состава липосом лишь $3,55 \pm 1,32\%$ (почти в 10 раз меньше). Через 24 ч свободного препарата высвобождается $73,58 \pm 4,54\%$, а из состава липосом примерно в 4 раза меньше — $17,41 \pm 3,77\%$. После 72 ч эксперимента высвобождается большая часть свободного препарата ($88,15 \pm 4,64\%$), тогда как из состава липосом высвобождается лишь $34,45 \pm 4,41\%$. Таким образом, после быстрой фазы высвобождения сангвинарина из пэгилированных липосом, происходящего в течение первого часа эксперимента, в дальнейшем динамика высвобождения носит пролонгированный характер, который определяется диффузией вещества через фосфолипидную оболочку и слой гидратированного полиэтиленгликоля. Очевидно, что наряду с низкой иммуногенностью и способностью к длительной циркуляции в кровотоке пэгилированных липосом [21], пролонгированное высвобождение сангвинарина является дополнительным преимуществом, которое позволит пэгилированным липосомам накопиться в опухолевой ткани без существенной потери действующего вещества и оказать максимальный терапевтический эффект.

Результаты исследования цитотоксической активности липосомной формы сангвинарина в отношении линий опухолевых клеток человека (A431, MCF-7, HepG2) и мыши (L1210) представлены на рис. 2. Липосомная форма сангвинарина

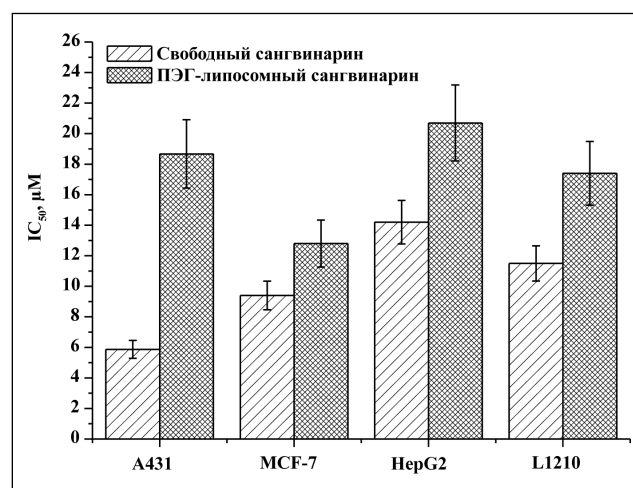


Рис. 2. Цитотоксическая активность свободного и ПЭГ-липосомного сангвинарина в отношении линий опухолевых клеток человека (A431, MCF-7, HepG2) и мыши (L1210).

Антимикробная активность препаратов сангвинарина в отношении условно-патогенных грибов и бактерий (зона угнетения роста, мм)

Тест-организм	Исходный сангвинарин	Липосомный сангвинарин	Нистатин	Амоксилав
<i>Aspergillus fumigatus</i> КБП F24	0	0	25	—
<i>A.ustus</i> 6K	0	12	21	—
<i>A.niger</i> INA 00760	0	0	15	—
<i>Candida albicans</i> ATCC 2091	0	0	25	—
<i>Penicillium brevicompactum</i> VKM F-4481	0	0	22	—
<i>P.chrysogenum</i> VKM F-4499	0	0	24	—
<i>B.subtilis</i> ATCC 6633	9	14	—	30
<i>B.coagulans</i> 429	0	10	—	25
<i>E.coli</i> ATCC 8739	0	10	—	21

проявляла дозозависимую цитотоксическую активность в отношении опухолевых клеток всех исследуемых линий, однако как видно на рис. 2, во всех экспериментах её цитотоксическая активность была несколько ниже активности свободного вещества, что может быть обусловлено характером поступления липосомного сангвинарина в клетку и спецификой его высвобождения во внутриклеточных компартментах. Наиболее высокая ЦТА липосомной формы сангвинарина проявлялась в отношении клеток линии MCF-7 (IC₅₀12,8 мкМ). В отношении клеток линий L1210 и A431 цитотоксическая активность липосомного сангвинарина была несколько ниже и составляла 17,4 мкМ и 18,67 мкМ, соответственно. Наиболее устойчивыми к действию липосомного сангвинарина оказались клетки гепатобластомы человека линии HepG2 (IC₅₀ 20,7 мкМ). Таким образом, сангвинарин проявляет выраженную дозозависимую противоопухолевую активность как в липосомной, так и в свободной форме. Поскольку пэгиллированные липосомные препараты обеспечивают защиту заключённых в них биологически активных веществ от окружающей среды, низкую иммуногенность и длительную циркуляцию в крови, а также обладают способностью к преимущественному накоплению в опухолевой ткани, применение пэгиллированной липосомной формы сангвинарина в противоопухолевой терапии может оказаться весьма эффективным.

Также исследовали антимикробную активность липосомного сангвинарина на тест-культурах условно-патогенных грибов и бактерий. Исследования показали, что липосомный сангвинарин проявил антибактериальную активность в отношении грамположительных бактерий рода *Bacillus* и штамма *E.coli* в концентрации 18 мкг препарата/диск, что сопоставимо с активностью препарата амоксиклава (таблица). Фунгистатиче-

ская активность в отношении тест-штамма микромицета *A.ustus* 6K также установлена только для липосомной формы сангвинарина. При этом свободная форма сангвинарина в исследуемой концентрации оказалась неактивной в отношении всех тест-организмов прокариот, дрожжевых и мицелиальных грибов.

Липосомный сангвинарин, в отличие от свободной формы, оказывает антибактериальное действие в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий и некоторых микромицетов, что может свидетельствовать о его эффективности как антимикробного средства.

Заключение

Таким образом, были получены пэгиллированные липосомы с сангвинарином, для которых характерна длительная циркуляция в кровотоке, обусловленная способностью таких частиц избегать поглощения макрофагами ретикулоэндотелиальной системы. Полученные липосомы характеризуются пролонгированным высвобождением сангвинарина при физиологических значениях pH и температуры, что позволяет рассматривать их в качестве перспективного средства доставки сангвинарина к клеткам-мишеням. Проявляемая препаратом липосомного сангвинарина дозозависимая цитотоксическая активность в отношении ряда линий опухолевых клеток позволяет рассматривать возможность применения данного препарата в области практической онкологии после дополнительных исследований. Липосомный сангвинарин также проявляет активность в достаточно низкой дозе в отношении как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий, а также фунгистатическую активность, что свидетельствует о плюрипотентности его действия и широких возможностях применения в качестве антимикробного препарата.

ЛИТЕРАТУРА

1. Mitscher L.A., Park Y.H., Clark D., Clark G.W. 3rd, Hammesfahr P.D. et al. Antimicrobial agents from higher plants. An investigation of *Hunnemannia fumaria* efolia pseudoalcoholates of sanguinarine and chelerythrine. Lloydia 1978; 41 (2): 145—150.
2. Mahady G.B., Pendland S.L., Stola A., Chadwick L.R. In vitro susceptibility of *Helicobacter pylori* to isoquinoline alkaloids from *Sanguinaria canadensis* and *Hydrastis canadensis*. Phytother Res 2003; 17 (3): 217—221.

3. Giuliana G., Pizzo G., Milici M.E., Musotto G.C., Giangreco R. In vitro antifungal properties of mouthrinses containing antimicrobial agents. J Periodontol 1997; 68 (8): 729—733.
4. Ahmad N., Gupta S., Husain M.M., Heiskanen K.M., Mukhtar H. Differential antiproliferative and apoptotic response of sanguinarine for cancer cells versus normal cells. Clin Cancer Res 2000; 6 (4): 1524—1528.
5. Schmeller T., Latz-Brüning B., Wink M. Biochemical activities of berberine, palmatine and sanguinarine mediating chemical defence against microorganisms and herbivores. Phytochemistry 1997; 44 (2): 257—266.

6. *Lopus M., Panda D.* The benzophenanthridine alkaloid sanguinarine perturbs microtubule assembly dynamics through tubulin binding. A possible mechanism for its antiproliferative activity. *FEBS J* 2006; 273 (10): 2139–2150.
7. *Eun J.P., Koh G.Y.* Suppression of angiogenesis by the plant alkaloid, sanguinarine. *BiochemBiophys Res Commun* 2004; 317 (2): 618–624.
8. *Wang B.H., Lu Z.X., Polya G.M.* Inhibition of eukaryote protein kinases by isoquinoline and oxazine alkaloids. *Planta Med* 1997; 63 (6): 494–498.
9. *Lee S.S., Kai M., Lee M.K.* Inhibitory effects of sanguinarine on monoamine oxidase activity in mouse brain. *Phytother Res* 2001; 15 (2): 167–169.
10. *Jeng J.H., Wu H.L., Lin B.R., Lan W.H., Chang H.H. et al.* Antiplatelet effect of sanguinarine is correlated to calcium mobilization, thromboxane and cAMP production. *Atherosclerosis* 2007; 191 (2): 250–258.
11. *Adhami V.M., Aziz M.H., Mukhtar H., Ahmad N.* Activation of prodeath Bcl-2 family proteins and mitochondrial apoptosis pathway by sanguinarine in immortalized human HaCaT keratinocytes. *Clin Cancer Res* 2003; 9 (8): 3176–3182.
12. *Ding Z., Tang S.C., Weerasinghe P., Yang X., Pater A., Liepins A.* The alkaloid sanguinarine is effective against multidrug resistance in human cervical cells via bimodal cell death. *Biochem Pharmacol* 2002; 63 (8): 1415–1421.
13. *Weerasinghe P., Hallock S., Tang S.C., Trump B., Liepins A.* Sanguinarine overcomes P-glycoprotein-mediated multidrug-resistance via induction of apoptosis and oncosis in CEM-VLB 1000 cells. *Exp Toxicol Pathol* 2006; 58 (1): 21–30.
14. *Dalvi R.R.* Sanguinarine: its potential as a liver toxic alkaloid present in the seeds of *Argemone mexicana*. *Experientia* 1985; 41 (1): 77–78.
15. *Williams M.K., Dalvi S., Dalvi R.R.* Influence of 3-methylcholanthrene pretreatment on sanguinarine toxicity in mice. *Vet Hum Toxicol* 2000; 42 (4): 196–198.
16. *Kosina P., Walterová D., Ulrichová J., Lichnovský V., Stiborová M. et al.* Sanguinarine and chelerythrine: assessment of safety on pigs in ninety days feeding experiment. *Food Chem Toxicol* 2004; 42 (1): 85–91.
17. *Vrba J., Kosina P., Ulrichová J., Modrianský M.* Involvement of cytochrome P450 1A in sanguinarine detoxication. *Toxicol Lett* 2004; 151 (2): 375–387.
18. *Hu C.M., Cheng Y.W., Liao J.W., Cheng H.W., Kang J.J.* Induction of contracture and extracellular Ca^{2+} influx in cardiac muscle by sanguinarine: a study on cardiotoxicity of sanguinarine. *J Biomed Sci* 2005; 12 (2): 399–407.
19. *Singh R., Mackraj I., Naidoo R., Gathiram P.* Sanguinarine downregulates AT1a gene expression in a hypertensive rat model. *J Cardiovasc Pharmacol* 2006; 48 (2): 14–21.
20. *Brown J.M., Giaccia A.J.* The unique physiology of solid tumors: opportunities (and problems) for cancer therapy. *Cancer Res* 1998; 58 (7): 1408–1416.
21. *Gabizon A.A.* *Liposomal Drug Carriers in Cancer Therapy*. In: Torchilin V.P. (ed.). Nanoparticulates as Drug Carriers. London: Imperial College Press 2006: 437–462.
22. *Drabu S., Khanna S., Bajaj R., Khurana B.* Clinical pharmacokinetic aspects of stealth liposomes: A review. *Int J Drug Dev Res* 2010; 2 (4): 871–878.
23. *Elmowafy M., Viitala T., Ibrahim H.M., Abu-Elyazid S.K., Samy A. et al.* Silymarin loaded liposomes for hepatic targeting: *in vitro* evaluation and HepG2 drug uptake. *Eur J Pharm Sci* 2013; 50 (2): 161–171.
24. *Balabanov S.S., Gavrilshchuk E.M., Rostokina E.Y., Plekhovich A.D., Kuryakov V.N. et al.* Colloid chemical properties of binary sols as precursors for YAG optical ceramics. *Ceramics International* 2016; 42 (15): 17571–17580.
25. *Zhang X., Lu S., Han J., Sun S., Wang L., Li Y.* Preparation, characterization and *in vivo* distribution of solid lipid nanoparticles loaded with syringopicroside. *Pharmazie* 2011; 66: 404–407.
26. *Mosmann T.* Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 1983; 65 (1–2): 55–63.
27. *Balouiri M., Sadiki M., Ibnsouda S.K.* Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: a review. *J Pharm Anal* 2016; 6 (2): 71–79.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Луценко Сергей Викторович — д.б.н., профессор, заведующий кафедрой биотехнологии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва

Громовых Татьяна Ильинична — д.б.н., профессор кафедры биотехнологии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва

Каширин Владимир Валентинович — учебный мастер кафедры биотехнологии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва

Курыяков Владимир Николаевич — научный сотрудник Института проблем нефти и газа РАН, Москва

Баранова Анна Александровна — аспирант лаборатории химических исследований биологически активных соединений микробного происхождения ФГБНУ НИИНА им. Г. Ф. Гаузе, Москва

Садыкова Вера Сергеевна — д. б. н., ведущий научный сотрудник лаборатории химических исследований биологически активных соединений микробного происхождения ФГБНУ НИИНА им. Г. Ф. Гаузе, Москва

Фельдман Наталия Борисовна — д. б. н., профессор кафедры биотехнологии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва

Антибиотический потенциал защитных пептидов семян сорного злака — ежовника обыкновенного (*Echinochloa crusgalli* L.)

Е. А. РОГОЖИН^{1,2}, А. Н. СМЕРНОВ³

¹ Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

² Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе, Москва

³ Российский государственный аграрный университет - МСХА им. К.А. Тимирязева, Москва

Antibiotic Potential of Defense Peptides Derived from the Seeds of a Wild Grass — Barnyard Grass (*Echinochloa crusgalli* L.)

E. A. ROGOZHIN^{1,2}, A. N. SMIRNOV³

¹ M. M. Shemyakin and Yu. A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS, Moscow

² G. F. Gause Institute of New Antibiotics, Moscow

³ Russian State Agrarian University — Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Moscow

Проведена работа по оценке ингибирующего действия комплексов пептидов семян ежовника обыкновенного (*Echinochloa crusgalli* L.), принадлежащих к различным семействам PR-белков растений (дефензинов, липид-переносящих белков, ингибиторов протеиназ типа Боуман-Бирка и бифункциональных ингибиторов трипсина/альфа-амилазы злаков) и харпиноподобных пептидов (альфа-харпининов), на ряд условно-патогенных мицелиальных грибов рода *Aspergillus* «луночным» методом, а также бактерицидного эффекта по отношению к грамположительной бактерии *Staphylococcus aureus* с помощью лазерной проточной цитофотометрии. Был показан преимущественный антифунгальный эффект в отношении к коллекционных культур грибов-микромикетов из рода *Aspergillus* (*A.oryzae*, *A.niger*, *A.terreus*, *A.nutans*), что выражалось в количественном подавлении степени прорастания конидий и скорости нарастания гиф. Статистически достоверным бактерицидным действием обладал только представитель семейства липид-переносящих белков. Полученные данные, с одной стороны, позволяют рассматривать данный дикий злак как потенциальный донор высокоактивных полипептидов для защиты культурных Однодольных от болезней, вызываемых специфичными грибными патогенами, а с другой стороны, как источник природных пептидных антибиотиков нового поколения.

Ключевые слова: ежовник обыкновенный, *Echinochloa crusgalli*, дикий злак, антифунгальная активность, бактерицидная активность, пептидные антибиотики.

The article evaluates the inhibitory effect of peptide complexes derived from barnyard grass (*Echinochloa crusgalli* L.) seeds belonging to various families of plant RP proteins (defensins, lipidtransfer proteins, protease inhibitors of Bowman-Birktype, and bifunctional inhibitors of trypsin/alpha-amylase derived from grasses) and harpino-like peptides (alpha-harpinins) on a number of opportunistic mycelial fungi of the *Aspergillus* genus by the «alveolar» method, as well as bactericidal effect towards Gram-Positive bacterium *Staphylococcus aureus* with the use of flow cytometry and photometry. The primary antifungal effect was observed with respect to the culture collection of fungi-micromycetes of *Aspergillus* spp. (*A.oryzae*, *A.niger*, *A.terreus*, *A.nutans*), which was expressed in quantitative suppression of hyphal growth and conidia germination. Only the EcLTP peptide had a statistically significant bactericidal action. The data obtained, on the one hand, allow us to consider this wild grass as a potential donor of highly active polypeptides used for protection of cultivated monocotyledonous plants from diseases caused by specific fungal pathogens, and, on the other hand, as a source of next-generation natural peptide antibiotics.

Keywords: barnyard grass, *Echinochloa crusgalli*, weed grass, antifungal activity, bactericidal activity, peptide antibiotics.

Введение

Проблема поиска новых источников получения антибиотиков в последние годы является актуальной, особенно на фоне получивших достаточно широкое распространение случаев резистентности бактериальных и грибных патогенов — возбудителей инфекционных заболеваний человека и животных. В качестве таких «доноров» но-

вых антибиотических соединений традиционно рассматриваются новые виды и штаммы бактерий (представители родов *Streptomyces*, *Bacillus* и др.) и почвенных грибов (*Trichoderma* spp., *Emericellopsis* spp. и др.) [1—6], обладающих в естественных ареалах своего обитания ярко выраженной антагонистической активностью по отношению к менее конкурентоспособным формам микроорганизмов (грибам, бактериям, актиномицетам), а также те из них (*Cordyceps* spp., *Beauveria* spp., *Paecilomyces* spp. и др.), которые используют в качестве пищевого субстрата разнообраз-

© Е. А. Рогожин, А. Н. Смирнов 2018

Адрес для корреспонденции: 119021 Москва, Б.Пироговская, 11, стр. 1. НИИИНА им. Г.Ф.Гаузе

Антифунгальная активность защитных пептидов семян ежовника против условно-патогенных грибов рода *Aspergillus* «луночным» методом, ИК₅₀, мкМ.

Пептид/гриб	<i>A.oryzae</i>	<i>A.niger</i>	<i>A.terreus</i>	<i>A.nutans</i>
Ec-AMP-D1/2	4,0	4,0	8,0	16,0
EcAMP1/3	16,0	16,0	>32	>32
EcLTP	<4,0	<4,0	8,0	8,0
EcBBTI	16,0	16,0	>32	>32
EcBFTI	32,0	>32	>32	>32

разных беспозвоночных (насекомых, клещей, нематод) [7—10]. Однако в подавляющем большинстве случаев такие антимикробные соединения обладают целым рядом побочных эффектов, наиболее распространённый из которых — цитотоксичность для эукариотических клеток, что накладывает существенные ограничения на дальнейшие перспективы их потенциального применения в медицине, ветеринарии и животноводстве. На этом фоне растения представляют собой более привлекательные источники новых и разнообразных по структуре и функции полипептидов с антимикробными свойствами (АМП). Ранее в серии предыдущих исследований был детально исследован состав защитных пептидов (антимикробных и ингибиторов гидролаз насекомых) в семенах ежовника с целью выявления степени их вклада в повышенную устойчивость дикорастущих злаков к комплексу биотических стрессовых факторов окружающей среды [11—15].

Цель данной работы заключалась в изучении антимикробного потенциала ряда защитных пептидов семян ежовника на комплекс условно-патогенных мицелиальных грибов из рода *Aspergillus*, а также бактерицидного эффекта по отношению к грамположительной бактерии *Staphylococcus aureus*.

Материал и методы

Биологический материал. Семена. Использовались семена ежовника (*E. crusgalli* L.), собранные в Краснодарском крае летом 2004 г. Семена хранились в сухом проветриваемом помещении при температуре 16—18°C.

Микроорганизмы. Культуры мицелиальных грибов — *A.oryzae* штамм VKM F-55, *A.niger* штамм VKM F-33, *A.terreus* штамм VKM F-65, *A.nutans* штамм VKM F-3910 были получены из Всероссийской коллекции микроорганизмов ИБФМ им. Г. К. Скрыбина РАН, в работе по определению бактерицидной активности был использован штамм *Staphylococcus aureus* Cowan I, полученный из ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России (Государственный НИИ стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов имени Л. А. Тарасевича) и меченый флуоресцеин-5-изотиоцианатом (ФИТЦ) (Molecular Probes, США).

Выделение защитных пептидов из семян ежовника проводили в точном соответствии с методиками, описанными в работах [11, 13, 14].

Оценку антифунгального действия защитных пептидов осуществляли «луночным» микрометодом, представляющим собой модификацию диско-диффузионного способа испытаний антибиотических соединений *in vitro*, согласно [16]. Были использованы четыре действующих концентрации полипептидов в диапазоне 4—32 мкМ. Измерение диаметра колоний грибов проводили по истечении 120 ч инкубирования в трёх повторностях, ИК₅₀ рассчитывали путём соотнесения

среднего диаметра (в мм) как половину или менее от отрицательного контроля (добавление дистиллированной воды). В качестве контрольного варианта использовали коммерческий антимикотический препарат — амфотерицин Б (40 мкг/мл).

Изучение бактерицидного действия АМП ежовника методом лазерной проточной цитометрии и фотометрического метода проводили в точном соответствии с методикой, описанной в работах [17, 18]. Использовали четыре действующих концентрации пептидов, полученных методом двукратного разведения — 9—72 мкМ. В качестве контрольного варианта использовали коммерческий антибиотик — ванкомицин (50 мкг/мл).

Результаты и обсуждение

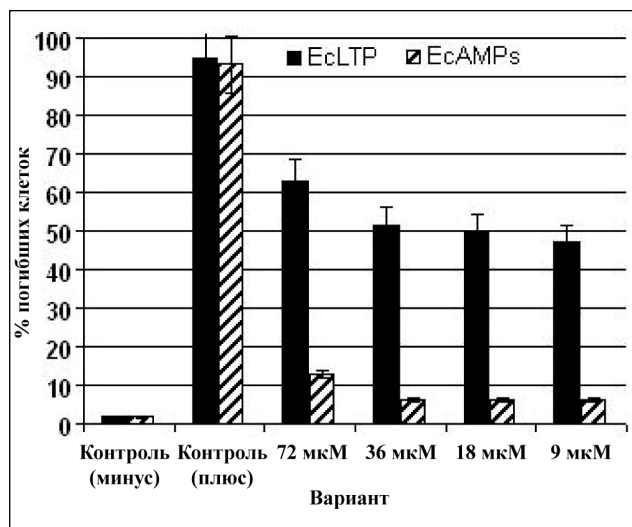
Исследование антифунгальной активности защитных пептидов семян ежовника «луночным» методом. Используемая в настоящей работе адаптация микологической методики позволяет эффективно оценивать антифунгальную (фунгистатическую) активность веществ (в частности, антимикробных белков и пептидов), как правило, доступных в малых количествах. Данное тестирование позволяет выявить различие между действием разных АМП преимущественно на скорость роста колоний грибов из разных таксономических групп, вызывающих опасные болезни с.-х. культур, а также условно-патогенных форм, представляющих опасность для человека и теплокровных животных. Для оценки антибиотической активности был использован ряд защитных пептидов, ранее выделенных из семян ежовника с антимикробными свойствами против фитопатогенных микроорганизмов — смесь высокомолекулярных дефензинов Ec-AMP-D1/2 [11], смесь харпино-подобных пептидов группы EcAMP (формы «1» и «3») [13, 14], липид-переносящий белок EcLTP [15], а также два представителя ингибиторов гидролитических ферментов (EcBBTI и EcBFTI) [13]. Были использованы четыре действующих концентрации полипептидов в диапазоне 4—32 мкМ. Результаты (ИК₅₀, мкМ) приведены в таблице.

По данным тестирования антифунгальной активности, можно заключить, что все тестируемые молекулы обладали биологическим действием на выбранный спектр грибных патогенов, однако специфичность была отличной, что выразилось по разнице в количественном аспекте степени ингибирования: так, наиболее устойчив к действию данных молекул оказался вид *A.nutans*, в том время как для *A.oryzae* и *A.niger* отмечена наибольшая степень восприимчивости. Что касается спектра действия, то липид-переносящий белок EcLTP и

смесь высокоомологичных дефензинов Ес-АМР-D1/2 показали максимальный эффект и отсутствие явно выраженной внутривидовой специфичности действия, что подтверждается полученными ранее данными по их активности на фитопатогенные грибы и оомицеты, в том числе при совместном действии [11, 13, 15, 19], а также, согласно литературным данным, для некоторых их гомологов [20, 21]. Для двух представителей ингибиторов гидролаз был отмечен достаточно низкий уровень активности на выбранные виды, несмотря на полученные данные по их влиянию на супрессию развития возбудителя фитофтороза — оомицет *Phytophthora infestans* — на растительной ткани (искусственно инокулированные патогеном клубни картофеля) [13], как и ряда сообщений об участии ингибиторов протеиназ злаков в реализации иммунитета растений к болезням [22–24].

Изучение бактерицидного действия АМП семян ежовника с помощью проточной цитофотометрии. Результаты оценки уровня бактерицидного действия исследуемого комплекса пептидов семян ежовника, для которых в рамках проведённых ранее исследований было отмечено наличие антифунгальной активности [12, 15], позволили установить, что только инкубация бактериальных клеток с ЕсLTP в диапазоне действующих концентраций более 18 мкМ приводили к более чем 50% цитолитическому эффекту (ИК₅₀ определена на уровне 18 мкМ) (рисунок).

При этом стоит упомянуть, что дальнейшее снижение содержания данного пептида путём двукратного разведения до уровня 4,5 мкМ не приводило к значимому уменьшению количества бактерий *S.aureus* с повреждённой оболочкой (42% от их общего числа). Полученные данные, с одной стороны, согласуются с эффектом количественного действия данного АМП на оомицет *P.infestans in vitro*, а с другой стороны, позволяют рассматривать эту молекулу в качестве единственного цитолитика в исследуемом комплексе эффекторных молекул семян этого вида злаков. В качестве сравнения можно упомянуть, что смесь харпино-подобных пептидов ЕсАМР1/3 продемонстрировала слабый уровень активности по отношению к *S.aureus* в данном тесте вплоть до концентрации 72 мкМ, несмотря на то, что в проведённых ранее тестах диско-диффузионного метода был отмечен их супрессивный эффект по отношению к ряду как грамположительных, так и грамотрицательных фитопатогенных бактерий (*Pseudomonas syringe*, *Clavibacter michiganensis*, *Pectobacterium carotovorum*) на уровне 12–24 мкМ [13, 14], что, однако, может являться следствием проявления данной молекулой бактериостатического действия наряду с фунгистатическим [12, 25]. Интересно, что для ближайшего структурного гомолога (по аминокислот-



Бактерицидная активность АМП семян ежовника против *S.aureus* методом проточной цитофотометрии: контроль (минус) — без добавления пептида, контроль (плюс) — инкубирование в присутствии ванкомицина (50 мкг/мл).

ной последовательности) ЕсАМР1 — АМП из семян кукурузы (*Zea mays* L.) МВР-1 было продемонстрировано как бактерицидное (на примере *Escherichia coli*), так и бактериостатическое действие (на примере *Clavibacter michiganensis* subsp. *nebraskensis*) [26], при этом активность по отношению к *E.coli* прямым образом зависела от фолдинга данной молекулы [27].

Заключение

Таким образом, были получены новые данные касательно степени ингибирующего действия комплексов пептидов семян ежовника обыкновенного (*Echinochloa crusgalli* L.), принадлежащих к различным семействам РR-белков растений и харпино-подобных пептидов (альфа-харпининов) на ряд условно-патогенных мицелиальных грибов рода *Aspergillus*, а также бактерицидного эффекта по отношению к грамположительной бактерии *Staphylococcus aureus*. Был показан антифунгальный эффект по отношению к коллекционным культурам грибов-микромикетов из рода *Aspergillus* (*A.oryzae*, *A.niger*, *A.terreus*, *A.nutans*), что выражалось в количественном подавлении степени прорастания конидий и скорости нарастания гиф. Бактерицидным действием обладал только представитель семейства липидпереносящих белков. Полученные в результате проведённой работы результаты позволяют рассматривать данный дикий злак как потенциальный донор высокоактивных полипептидов для защиты культурных Однодольных от болезней, вызываемых специфичными грибными патогенами, а также как источник природных пептидных антибиотиков нового поколения.

Благодарности

Настоящая работа выполнена при поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований (грант № 16-34-60217-мол_а_дк) (раздел «Исследование антифунгальной активности защитных пептидов семян ежовника «луночным» методом), Красноярского краевого фонда поддержки научной и научно-технической деятельности» в рамках научного проекта РФФИ № 16-44-240509-р_а (раздел «Изучение бактерицидного действия АМП семян ежовника с помощью проточной цитофотометрии»).

ЛИТЕРАТУРА

1. Садыкова В.С., Кураков А.В., Куварина А.Е., Тюрин А.П., Рогожин Е.А., Коришун В.А. Образование штаммом *Trichoderma citrinoviride* TYV1 4/11 антибиотиков – пептабиолов. Проблемы медицинской микологии. – 2015. – № 17(1). – С. 41–46. / Sadykova V.S., Kurakov A.V., Kuvarina A.E., Tyurin A.P., Rogozhin E.A., Korshun V.A. Obrazovanie shtammom *Trichoderma citrinoviride* TYV1 4/11 antibiotikov – peptabiolov. Problemy medicinskoj mikologii 2015; 17(1): 41–46. [in Russian]
2. Садыкова В.С., Кураков А.В., Коришун В.А., Рогожин Е.А., Громовых Т.И., Куварина А.Е., Баранова А.А. Антимикробная активность веществ, продуцируемых штаммом *Trichoderma citrinoviride* ВКПМ-1228: оптимизация лабораторного культивирования и спектр действия индивидуальных пептабиолов. Антибиотики и химиотер. – 2015. – Т. 60. – № 11–12. – С. 3–8. / Sadykova V.S., Kurakov A.V., Korshun V.A., Rogozhin E.A., Gromovykh T.I., Kuvarina A.E., Baranova A.A. Antimikrobnaya aktivnost' veshchestv, producirovemykh shtammom *Trichoderma citrinoviride* VKPM-1228: optimizatsiya laboratornogo kul'tivirovaniya i spektr dejstviya individual'nykh peptabiolov. Antibiotiki i khimioter 2015; 60(11–12): 3–8. [in Russian]
3. Bloudoff K., Schmeing T.M. Structural and functional aspects of the non-ribosomal peptide synthetase condensation domain superfamily: discovery, dissection and diversity. Biochim Biophys Acta 2017; 1865(11 Pt B): 1587–1604.
4. Inostroza A., Lara L., Paz C., Perez A., Galleguillos F., Hernandez V., Becerra J., González-Rocha G., Silva M. Antibiotic activity of Emerimicin IV isolated from *Emericellopsis minima* from Talcahuano Bay, Chile. Nat Prod Res 2017; 3: 1–4.
5. Daniel J.F., Filho E.R. Peptaibols of trichoderma. Nat Prod Rep 2007; 24 (5): 1128–41.
6. Szekeres A., Leitgeb B., Kredics L., Antal Z., Hatvani L., Manczinger L., Vögélygi C. Peptaibols and related peptaibiotics of *Trichoderma*. A review. Acta Microbiol Immunol Hung 2005; 52 (2): 137–68.
7. Chiriv J., Danies G., Sierra R., Schauer N., Trenkamp S., Restrepo S., Sanjuan T. Metabolomic profile and nucleoside composition of *Cordyceps nidus* sp. nov. (Cordycipitaceae): A new source of active compounds. PLoS One 2017; 12(6): e0179428.
8. Sharma S.K., Gautam N., Atri N.S. Optimized extraction, composition, antioxidant and antimicrobial activities of exo and intracellular polysaccharides from submerged culture of *Cordyceps cicadae*. BMC Complement Altern Med 2015; 15: 446.
9. Liu J., Li F., Kim E.L., Li J.L., Hong J., Bae K.S., Chung H.Y., Kim H.S., Jung J.H. Antibacterial polyketides from the jellyfish-derived fungus *Paecilomyces variotii*. J Nat Prod 2011; 74(8): 1826–9.
10. Lira S.P., Vita-Marques A.M., Selegim M.H., Bugni T.S., LaBarbera D.V., Sette L.D., Sponchiado S.R., Ireland C.M., Berlinck R.G. New destruxins from the marine-derived fungus *Beauveria felina*. J Antibiot (Tokyo) 2006; 59 (9): 553–63.
11. Odintsova T.I., Rogozhin E.A., Baranov Yu.V., Musolyamov A.Kh., Yalpani N., Egorov Ts.A., Grishin E.V. Seed defensins of barnyard grass *Echinochloa crusgalli* (L.) Beauv. Biochimie 2008; 90: 1667–1673.
12. Nolde S.B., Vassilevski A.A., Rogozhin E.A., Barinov N.A., Balashova T.A., Samsonova O.V., Baranov Y.V., Feofanov A.V., Egorov T.A., Arseniev A.S., Grishin E.V. Disulfide-stabilized helical hairpin structure of a novel antifungal peptide EcAMP1 from seeds of barnyard grass (*Echinochloa crus-galli*). J Biol Chem 2011; 286 (28): 25145–25153.
13. Rogozhin E.A., Ryazantsev D.Y., Grishin E.V., Egorov T.A., Zavriev S.K. Defense peptides from barnyard grass (*Echinochloa crusgalli* L.) seeds // Peptides, 2012, V. 38 (1), P. 33–40.
14. Ryazantsev D.Yu., Rogozhin E.A., Dimitrieva T.V., Drobayazina P.E., Khadeeva N.V., Egorov T.A., Grishin E.V., Zavriev S.K. A novel hairpin-

Авторы выражают благодарность заведующей лабораторией №92 клинической иммунологии ФГБУ ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА России, д.м.н., профессору Пинегину Б.В. за помощь в проведении испытаний бактерицидной активности АМП, а также научному сотруднику лаборатории биотехнологии отдела иммунологии ЦНИИ Туберкулеза к.б.н. Николаеву А.А. за помощь в интерпретации результатов оценки бактерицидной активности АМП.

- like antimicrobial peptide from barnyard grass (*Echinochloa crusgalli* L.) seeds: Structure-functional and molecular-genetics characterization. Biochimie 2014; 99: 63–70.
15. Рогожин Е.А., Одинцова Т.И., Мусолямов А.Х., Смирнов А.Н., Бабаков А.В., Егоров Ц.А., Гришин Е.В. Выделение и характеристика нового липид-переносимого белка из зерновок ежовника обыкновенного (*Echinochloa crusgalli*). Прикладная биохимия и микробиология. – 2009. – Т. 45. – № 4. – С. 403–409. / Rogozhin E.A., Odincova T.I., Musolyamov A.Kh., Smirnov A.N., Babakov A.V., Egorov C.A., Grishin E.V. Vydelenie i kharakteristika novogo lipid-perenosyashchego belka iz zernovok ezhovnika obyknovennogo (*Echinochloa crusgalli*). Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya 2009; 45 (4): 403–409. [in Russian]
 16. Рогожин Е.А., Зайцев Д.В., Смирнов А.Н. Микрометод определения фунгистатической активности белков растительного происхождения. Известия Тимирязевской с-х академии. – 2011. – № 5. – С. 79–84. / Rogozhin E.A., Zajcev D.V., Smirnov A.N. Mikrometod opredeleniya fungistaticheskoy aktivnosti belkov rastitel'nogo proiskhozhdeniya. Izvestiya Timiryazevskoj s.-kh. Akademii 2011; 5: 79–84. [in Russian]
 17. Будихина А.С., Михайлова Н.А., Биткова Е.Е., Хватов В.Б., Пинегин Б.В. Изучение бактерицидной и ингибирующей активности сыворотки крови с помощью проточной цитометрии и фотометрического метода. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии – 2007. – № 2. – С. 53–57. / Budikhina A.S., Mikhajlova N.A., Bitkova E.E., Khvatov V.B., Pinegin B.V. Izuchenie baktericidnoj i ingibiruyushchej aktivnosti syvorotki krovi s pomoshch'yu protochnoj citometrii i fotometricheskogo metoda. Zhurnal mikrobiologii, epi-demiologii i immunobiologii. 2007; 2: 53–57. [in Russian]
 18. Будихина А.С., Олиферук Н.С., Пинегин Б.В. Оценка бактерицидной активности сыворотки крови с помощью лазерной проточной цитофлуорометрии. Клиническая лабораторная диагностика. – 2006. – № 10. – С. 48–49. / Budikhina A.S., Olfieruk N.S., Pinegin B.V. Ocenka baktericidnoj aktivnosti syvorotki krovi s pomoshch'yu lazernoj protochnoj citofluorometrii. Klinicheskaya laboratornaya diagnostika 2006; 10: 48–49. [in Russian]
 19. Rogozhin E., Zaytsev D. A synergistic effect of two plant antimicrobial peptides from defensin and lipid-transfer protein families towards *Phytophthora infestans*. Phytopathology 2016; 106 (S4): 156.
 20. Malaguti M., Dinelli G., Leoncini E., Bregola V., Bosi S., Cicero A.F., Hrelia S. Bioactive peptides in cereals and legumes: agronomical, biochemical and clinical aspects. Int J Mol Sci 2014; 15 (11): 21120–35.
 21. Kitts D.D., Weiler K. Bioactive proteins and peptides from food sources. Applications of bioprocesses used in isolation and recovery. Curr Pharm Des 2003; 9 (16): 1309–23.
 22. Schuppan D., Zevallos V. Wheat amylase trypsin inhibitors as nutritional activators of innate immunity. Dig Dis 2015; 33 (2): 260–3.
 23. Srikanth S., Chen Z. Plant Protease Inhibitors in Therapeutics-Focus on Cancer Therapy. Front Pharmacol 2016; 8 (7): 470.
 24. Bateman K.S., James M.N. Plant protein proteinase inhibitors: structure and mechanism of inhibition. Curr Protein Pept Sci 2011; 12 (5): 340–7.
 25. Vasilchenko A.S., Yuryev M., Ryazantsev D.Yu., Zavriev S.K., Feofanov A.V., Grishin E.V., Rogozhin E.A. Studying of cellular interaction of hairpin-like peptide EcAMP1 from barnyard grass (*Echinochloa crusgalli* L.) seeds with plant pathogenic fungus *Fusarium solani* using microscopy techniques. Scanning 2016; 38 (6): 591–598.
 26. Duvick J.P., Rood T., Rao A.G., Marshak D.R. Purification and characterization of a novel antimicrobial peptide from maize (*Zea mays* L.) kernels. J Biol Chem 1992; 267 (26): 18814–20.
 27. Sousa D.A., Porto W.F., Silva M.Z., da Silva T.R., Franco O.L. Influence of Cysteine and Tryptophan Substitution on DNA-Binding Activity on Maize α -Hairpin Antimicrobial Peptide. Molecules 2016; 21(8): E1062.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Рогожин Евгений Александрович — к.х.н, н.с. лаборатории нейрорецепторов и нейрорегуляторов ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, Москва

Смирнов Алексей Николаевич — д.б.н., профессор кафедры защиты растений ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет — МСХА им. К. А. Тимирязева», Москва

Устойчивость к антибактериальным препаратам штаммов холерного вибриона, выделенных в Казахстане

*З. А. САГИЕВ, И. Б. УТЕПОВА, Р. С. МУСАГАЛИЕВА, С. Д. АЛЫБАЕВ,
М. М. КУЛЬБАЕВА, А. О. ИСМАИЛОВА, А. А. АЛДИБЕКОВА

Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций им. Масгута Айкимбаева, Алматы, Республика Казахстан

Antibiotic Resistance of *Vibrio cholera* Strains Isolated in Kazakhstan

Z. A. SAGIYEV, I. B. UTEPOVA, R. S. MUSSAGALIYEVA, S. D. ALYBAYEV,
M. M. KULBAYEVA, A. O. ISMAILOVA, A. A. ALDIBEKOVA

M. Aikimbayev's Kazakh Scientific Center for Quarantine and Zoonotic Diseases, Almaty, Republic of Kazakhstan

Представлены данные о чувствительности и устойчивости к антибактериальным препаратам 52 коллекционных штаммов разных серологических групп (O1, O139 и non O1), выделенных в г. Алматы, Алматинской, Жамбылской и Кызылординской областях Республики Казахстан от людей и из проб воды открытых водоёмов в период с 1993 по 2014 гг. к 11 антибактериальным препаратам. Чувствительность к антибактериальным препаратам изучали диско-диффузионным методом. Все штаммы по культурально-морфологическим, биохимическим и серологическим свойствам были типичными представителями семейства *Vibrionaceae*, рода *Vibrio*, вида *cholerae*, O1, O139 и non O1 серогрупп. Фенотипические маркеры резистентности имели 38,4% изученных изолятов, при этом преобладали штаммы с монорезистентностью (23,1%); 9,6% — имели по два и более маркеров резистентности. Чаше проявлялась фенотипическая устойчивость к канамицину (17,3 %). Среди изолятов *V.cholerae* O1 серогруппы доля резистентных составила 38,5%, среди *V.cholerae* non O1 серогруппы — 40%. Доля резистентных штаммов выделенных в Кызылординской области была значительной и составила 45,8%. Резистентные штаммы, выделенные из воды в Алматы, Алматинской и Жамбылской областях, были одного фенотипа, резистентные к эритромицину. Частота выделения полирезистентных штаммов по годам статистически не изменяется. Различий в отношении к антибиотикам по серогруппам не отмечается.

Ключевые слова: штаммы холерного вибриона, холера, антибиотики, резистентность, чувствительность, статистика.

In this research work 52 collection strains of *Vibrio cholerae* of different serological groups (O1, O139 and non O1) isolated in Almaty city, Almaty, Zhambyl and Kyzylorda regions of the Republic of Kazakhstan from people and from water samples taken from open reservoirs in different years (1993—2014) were used. The sensitivity of *V.cholerae* strains to 11 antibacterial drugs was studied. In order to assess the sensitivity to antibacterial drugs we used a disc-diffusion method according to the International Standard of the Institute of Clinical and Laboratory Standards. The studied isolates (38.4%) had phenotypic resistance markers, and the strains with mono-resistant features prevailed (23.1%); 9.6% of the studied strains had two or more resistant markers. Phenotypic resistance to kanamycin was more frequent (17.3%). Among the isolates of *V.cholerae* O1 serogroup, the proportion of resistant to antibiotics was 38.5%, among *V.cholerae* non O1 serogroup — 40%. The share of resistant strains isolated in the isolates Kyzylorda region was significant and amounted to 45.8%. Resistant strains, isolated from water in Almaty city, Almaty and Zhambyl oblasts, had one phenotype resistant to erythromycin. Modeling the incidence of multi-resistance strains of *V.cholerae* did not show their statistical significance. There are no differences in relation to antibiotics for serogroups.

Keywords: cholera strains, antibiotics, resistance, sensitivity, statistics.

Введение

Эпидемиологическая обстановка по холере представляет серьёзную проблему для мирового здравоохранения. Это обусловлено эпидемическими осложнениями на эндемичных территориях, многочисленными заносами инфекции практически на все континенты, тенденцией роста заболеваемости в мире [1]. Холерой ежегодно заболевает 3—5 млн человек, из которых около 100—120 тыс

умирают. В 2015 г. было зарегистрировано 172 454 случаев холеры. При этом 41% случаев были зарегистрированы в Африке и 37% — в Азии [2].

Холерный вибрион *Vibrio cholerae* O1 является этиологическим фактором холеры. [3]. *V.cholerae* O139 является первым представителем non O1 серогруппы, который вызвал эпидемию холеры в 1992 г. [4]. Штаммы, не принадлежащие к O1 и O139 серогруппам, представлены микроорганизмами *V.cholerae* non O1, которые схожи по биохимическим тестам с *V.cholerae* O1 серогруппы, но они не агглютинируются «О»-холерной сывороткой. *V.cholerae* non O1 вызывают спорадические

© Коллектив авторов, 2018

*Адрес для корреспонденции:
E-mail: zaurbeksagiyev@gmail.com

случаи кишечных заболеваний. У детей *V.cholerae* non O1 вибрионы могут вызывать тяжёлые осложнения [5].

Как и многие бактерии, холерные вибрионы вырабатывают устойчивость к антибактериальным препаратам, что вынуждает назначение новых дорогих антибиотиков для лечения холеры [3]. Исследования по изучению клинических штаммов *V.cholerae* non O1 и *V.cholerae* O139 и штаммов, выделенных из окружающей среды, показали, что полирезистентность к антибактериальным препаратам среди клинических штаммов встречалась чаще [6].

Полирезистентность к антибиотикам штаммов *V.cholerae* non O1 и *V.cholerae* O139 была выявлена у детей в Бангкоке (Тайланд) [7]. Описаны случаи устойчивости штаммов *V.cholerae* O139 к стрептомицину, сульфаметоксазол–триметоприму и фуразолидону [8–10]. Большинство штаммов *V.cholerae* O1 в Бангладеш были резистентны к тетрациклину [8]. В другом исследовании в Танзании был изучен 181 штамм *V.cholerae* O1 во время двух эпидемических периодов, когда тетрацилин или эритромицин были использованы для лечения пациентов, заболевших холерой. Среди 94 штаммов *V.cholerae* O1, выделенных в 1997 г., в 98,6%, 93,6%, 83%, 81,9%, 36,2%, 35,5%, 3,2% штаммы были чувствительны к ципрофлоксацину, тетрациклину, ампициллину, эритромицину, налидиксовой кислоте, хлорфениколу и триметоприму, соответственно.

Среди 87 штаммов *V.cholerae* O1, выделенных в 1999 г., 100%; 58,6%; 46,0%; 46%; 47,1%; 19,5%; 3,4% были чувствительны к ципрофлоксацину, тетрациклину, ампициллину, эритромицину, хлорамфениколу, налидиксовой кислоте и триметоприму, соответственно. Между 1997 и 1999 гг. было отмечено увеличение доли штаммов *V.cholerae* O1, резистентных к тетрациклину, ампициллину, налидиксовой кислоте и эритромицину, но в то же время не было изменений чувствительности к ципрофлоксацину и триметоприму [3].

Изучение 173 штаммов *V.cholerae* O13 и 221 штамма *V.cholerae* O1 показало, что они были высокочувствительны к азитромицину, цефему, миноциклину, пенему [16]. Штаммы *V.cholerae* O139 (94,8%), *V.cholerae* O1, штаммы Indian Eltor (97%) и штаммы Bangladesh Eltor Эльтор (50%) были высокорезистентны к стрептомицину, сульфаметоксазолу, триметоприму, и умеренно устойчивы к хлорамфениколу и фуразолидону. Некоторые Эльтор штаммы (43,3%) в Бангладеш были устойчивы к тетрациклину [12].

В настоящее время регистрируется мультирезистентность к антибиотикам штаммов *V.cholerae*, выделенных как от людей, так и из объектов окружающей среды. Штаммы холерного вибриона, выделенные в период эпидемиологических ос-

ложнений по холере на Кавказе с 1970 по 1994 гг. были чувствительными к препаратам хинолонового ряда.

Выделены штаммы с резистентностью к эритромицину, канамицину, ампициллину, фуразолидону, полимиксину. При этом были определены фенотипы холерных вибрионов по резистентности и чувствительности к антибиотикам [13]. Во время эпидемии холеры в 1993 г. в Республике Казахстан медицинская служба испытывала серьёзные трудности в лечении больных. Выделенные штаммы холерных вибрионов проявляли стабильную устойчивость к тетрациклину и левомицетину, традиционно используемых при этой инфекции [1].

Данная проблема является актуальной, так как необходимо определить какие антибиотики нужно использовать для лечения и профилактики холеры, какие антибиотики нужно ограничить для вышеуказанных целей [14].

Полагают, что микробные клетки, содержащие генетические элементы полиантибиотикорезистентности, получают селективное преимущество в кишечнике теплокровного макроорганизма и количественно доминируют здесь над чувствительными клетками. На искусственных питательных средах (без антибиотиков), наоборот, преобладают клетки, не содержащие гены резистентности. Таково одно из современных объяснений нестабильности признака антибиотикоустойчивости холерного вибриона [13].

Цель работы — получение базовой информации о чувствительности и резистентности штаммов холерного вибриона, изолированных от людей и из объектов окружающей среды в 1993–2014 гг. для совершенствования эпидемиологического мониторинга за холерой в Республике Казахстан.

Материал и методы

В работе использованы 52 коллекционных штамма *V.cholerae* разных серогрупп (O1, O139 и non O1), выделенные в г. Алматы, Алматинской, Жамбылской и Кызылординской областях Республики Казахстан от людей и из проб воды открытых водоёмов. Изученные штаммы были изолированы с 1993 по 2014 гг., из них 26 штаммов отнесены к серогруппе O1 биовара Eltor *V.cholerae*, 1 штамм — *V.cholerae* O139 серогруппы и 25 штаммов — *V.cholerae* non O1. Исследованы 17 штаммов из г. Алматы, 8 — из Алматинской области, 24 — из Кызылординской и 2 — из Жамбылской областей (табл. 1).

Все штаммы по культурально-морфологическим, биохимическим и серологическим свойствам были типичными представителями семейства *Vibrionaceae*, рода *Vibrio*, вида *cholerae*, O1, non O1 серогрупп.

Штаммы хранились в 0,3% агаре Хоттингера, при температуре 20–25°C. Чувствительность/устойчивость штаммов холерных вибрионов к антибактериальным препаратам (ципрофлоксацин (cipr), карбенициллин (carb), ампициллин (amp), стрептомицин (str), эритромицин (eritr), тетрацилин (tetr), канамицин (kan), доксицилин (dox), гентамицин (gent), левомицетин (lev), амоксициллин (amox) производства ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера (Россия) определяли диско-диффузионным методом [15].

Таблица 1. Распределение изученных штаммов *V.cholerae* по серогруппам, объектам выделения и областям Казахстана

Территория выделения, годы выделения	01 серогруппа		0139 серогруппа	01 серогруппа	Всего
	люди	вода	люди	люди	
г. Алматы (1993, 1995, 1997, 2000, 2001, 2003, 2004, 2009, 2014 гг.)	9	2	1	5	17
Алматинская область (1993, 1997, 2000, 2001, 2003, 2005, 2008, 2010, 2014 гг.)	—	4	—	5	9
Кызылординская область (1997, 1998, 2000, 2001, 2003, 2005, 2008, 2009, 2010, 2012, 2014 гг.)	8	1	—	15	24
Жамбылская область (2005, 2008 гг.)	—	2	—	—	2
Итого	17	9	1	25	52

Таблица 2. Критерии интерпретации результатов определения чувствительности, пограничные значения диаметров зон подавления роста (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 и *Escherichia coli* ATCC 24922)

Антибиотик	Содержимое диска	Диаметр зоны подавления роста (мм)		
		S*	I**	R***
Ампициллин	10 мкг	≥17	14—18	≤13
Карбенициллин	100 мкг	≥23	20—22	≤19
Гентамицин	10 мкг	≥15	13—14	≤12
Канамицин	30 мкг	≥18	14—17	≤13
Стрептомицин	10 мкг	≥15	12—14	≤11
Тетрациклин	30 мкг	≥15	12—14	≤11
Ципрофлоксацин	5 мкг	≥21	16—20	≤15
Доксициклин	30 мкг	≥14	11—13	≤10
Хлорамфеникол	30 мкг	≥18	13—17	≤12
Амоксициллин	20/10 мкг	≥18	14—17	≤13
Эритромицин	15 мкг	≥23	14—22	≤13

Примечание. S* — высокочувствительные; I** — умеренно чувствительные; R*** — резистентные.

Взвеси штаммов готовились из суточной культуры холерного вибриона по стандарту мутности МакФарланда (0,5 единицы), соответствующей $1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл. Посевы на чашки Петри проводили стерильными тампонами для получения равномерного газона культуры. После подсушивания на агар накладывались диски с антибактериальными препаратами. Посевы штаммов инкубировали при 37°C. Результаты учитывались по истечении 24 ч. Измерялся диаметр зоны задержки роста. Результаты учитывали согласно данным, представленным в табл. 2 [15,16].

В качестве питательной среды использовалась среда Мюллера—Хинтона (HI MEDIA). Контроль качества питательной среды и антибактериальных препаратов осуществлялся с использованием референтных тест-штаммов *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 и *Escherichia coli* ATCC 24922.

Была проведена статистическая обработка данных по динамике частоты выделения полирезистентных штаммов в разные годы с помощью программы R. В качестве модели использовали линейное моделирование [17].

Результаты исследования

По отношению к антибактериальным препаратам штаммы холерного вибриона подразделяются на фенотипы — антибиотикоустойчивые, антибиотикочувствительные. Анализ фенотипических профилей показал, что 32 (61,5%) штамма холерного вибриона были чувствительны ко всем 11 антибактериальным препаратам, взятым в эксперимент, и имели фенотип (cipr⁺carb⁺amp⁺str⁺eritr⁺tetr⁺kan⁺dox⁺gent⁺lev⁺amox⁺).

Остальные 20 штаммов холерного вибриона (38,5% от общего количества изученных) имели

разный спектр резистентности к антибиотикам: монорезистентность определялась у 15 штаммов, полирезистентность (к двум и более антибиотикам) — у пяти штаммов. Монорезистентность у штаммов выявлена к стрептомицину, канамицину, эритромицину и амоксициклину. Полирезистентность отмечалась преимущественно у штаммов, выделенных в Кызылординской области (4 штамма).

К ципрофлоксацину, гентамицину и тетрациклину были чувствительны все штаммы (табл. 3). К доксициклину был резистентен один штамм (Алматы, 2005 г.), к левомицетину — один (Кызылординская обл., 1997 г.) к карбенициллину (Кызылординская обл. 2010, 2014 гг.) и стрептомицину (Алматы, 2005 и 2009 гг.) — по два штамма. К ампициллину, эритромицину и амоксициллину были устойчивы по 4 штамма. Самый высокий уровень резистентности выявлен к канамицину — 12 штаммов (Алматы, Алматинская и Кызылординская обл., 1995, 1997, 2000, 2003, 2005, 2008, 2014 гг.).

При анализе результатов мы основывались на выделении фенотипов чувствительности и резистентности холерных вибрионов, использованных авторами [13].

В результате проведенной работы было определено 9 фенотипов резистентности к 8 маркерам антибактериальных препаратов (carb⁺; amp⁺; str⁺; eritr⁺; kan⁺; dox⁺; lev⁺; amox⁺) в различных сочетаниях (табл. 4).

Таблица 3. Чувствительность штаммов холерного вибриона к антибиотикам

Антибиотик	Степень чувствительности			Объект выделения резистентных штаммов	Территория выделения резистентных штаммов	Годы выделения резистентных штаммов
	высоко чувствительные	умеренно чувствительные	резистентные			
Ципрофлоксацин	49	3	—	—	—	—
Карбенициллин	48	2	2	Люди	Кызылорд. обл.	2010, 2014
Ампициллин	47	1	4	Люди	Алматы, Кызылорд обл.	2000, 2005, 2010, 2014
Стрептомицин	46	4	2	Люди	Алматы,	2005, 2009
Эритромицин	12	36	4	Люди	Алматы, Кызылорд обл.	2003, 2005, 2012
Тетрацилин	51	1	—	—	—	—
Канамицин	19	21	12	Люди, вода	Алматы, Алматинская, Кызылорд. обл.	1995, 1997, 2000, 2003, 2005, 2008, 2014
Доксициклин	51	—	1	Люди	Алматы	2005
Гентамицин	52	—	—	—	—	—
Левомецетин	47	4	1	Люди	Кызылорд. обл.	1997
Амоксициклин	47	1	4	Люди	Кызылорд. обл.	2000, 2009, 2010, 2014

Таблица 4. Фенотипы резистентности холерного вибриона к антибиотикам

Номер фенотипа	Содержание фенотипа	Частота фенотипа	Территория распространения фенотипа, годы выделения
1	str	2	г. Алматы (2005, 2009)
2	kan	9	г. Алматы (1995, 1997, 2003), Алматинская (1997), Кызылординская (2000, 2001, 2005, 2008) и Жамбылская (2008) области
3	eritr	3	Алматинская (2001) и Кызылординская (2003, 2012) области
4	amox	1	Кызылординская область (2009)
5	kan-lev	1	Кызылординская область (1997)
6	carb-amp-amox	1	Кызылординская область (2010)
7	amp-eritr-dox	1	г. Алматы (2005)
8	amp-kan-amox	1	Кызылординская область (2000)
9	carb-amp-kan-amox	1	Кызылординская область (2014)
20			

Таблица 5. Резистентные штаммы *V.cholerae* по серогруппам, объектам выделения и территориям

Территория выделения, годы выделения	01 серогруппа		non O1 серогруппы	Всего
	люди	вода	люди	
г. Алматы	4	1	1	6
Алматинская область	—	1	1	2
Кызылординская область	3	—	8	11
Жамбылская область	—	1	—	1
Итого	7	3	10	20

Четыре фенотипа были монорезистентными (str⁻; kan⁻; eritr⁻; amox⁻); один фенотип представлял сочетание резистентности по двум антибиотикам (kan⁻ lev⁻); три фенотипа — к трём антибиотикам (carb-amp-amox⁻; amp-eritr-dox⁻; amp-kan-amox⁻), и один — к четырём антибиотикам (carb-amp-kan-amox⁻).

При этом у четырёх фенотипов (12 штаммов) отмечается наличие резистентности к канамицину (2, 5, 8, 9 фенотипы), у трёх фенотипов (3 штамма) — к ампициллину (7, 8, 9 фенотипы), к амоксициклину (4 штамма) (4, 6, 8, 9 фенотипы), к эритромицину — у двух фенотипов (4 штамма) (3, 7 фенотипы).

К карбенициллину, левомецетину, доксициклину устойчивость проявлялась по одному разу, но в составе полирезистентности (фенотипы 6, 7, 9).

Таблица 6. Частота фенотипов *V.cholerae* по серогруппам и годам выделения

Годы	Серогруппы <i>V.cholerae</i>	
	01	non O1
1993	—	—
1995	1 (2)	—
1997	2 (2; 5)	1 (2)
1998	—	—
2000	—	2 (8; 2)
2001	—	2 (3; 2)
2003	2 (2; 3)	—
2004	—	—
2005	2 (1; 7)	1 (2)
2008	2 (2; 2)	—
2009	1 (1)	1 (4)
2010	—	1 (6)
2012	—	1 (3)
2014	—	1 (9)
	10	10

Примечание. В скобках указан номер фенотипа.

Таблица 7. Статистическая значимость частоты выделения полирезистентных штаммов *V.cholerae*

Коэффициент	Estimate	Стандартная ошибка	t-value	Pr(> t)
Intercept	2003.533	1.433	1398.024	<2e-16
Antibiotics	1.667	2.866	0.581	0.568

Таким образом, чаще проявлялась устойчивость штаммов холерного вибриона к канамицину (23,1%) и эритромицину (5,8%).

Нами проведён анализ по выявлению резистентных штаммов холерного вибриона в зависимости от их серогрупп, объектов выделения, территории (табл. 5).

При анализе распределения фенотипов резистентности по серогруппам и годам определено, что фенотип 2 равномерно встречается в обеих серогруппах. Полирезистентные штаммы преимущественно отмечены среди *V.cholerae* non O1 (табл. 6).

При анализе по годам выделения штаммы были разделены условно на два периода: с 1993 по 2003 и с 2004 по 2014 годы. При этом из 29 штаммов первого периода устойчивость отмечалась у 11 (37,9%), а среди 22 штаммов второго периода — у 14 (63,6%). Как видно из вышесказанного наблюдается динамика роста полирезистентных штаммов и для подтверждения этого была проведена статистическая обработка данных с использованием программы R [17].

Линейное моделирование (lm) частоты выделения полирезистентных штаммов за исследуемые периоды (1993—2003 гг. и 2004—2014 гг.) показало, что частота их выделения не имеет статистической значимости (табл. 7). Таким образом, частота выделения полирезистентных штаммов по годам не изменяется.

Но, тем не менее, выделение полирезистентных штаммов указывает о циркуляции штаммов *V.cholerae*, обладающих устойчивостью к нескольким антибиотикам.

Информирование о выделении полирезистентных штаммов является одной из основных задач общественного здравоохранения.

Выводы

1. Коллекционные штаммы холерного вибриона, выделенные на территории Казахстана в период с 1993 по 2014 годы в 38,4% случаев имеют фенотипические маркеры резистентности к различным антибиотикам.

2. В коллекции КНЦКЗИ имеется девять фенотипов холерного вибриона, различающихся по чувствительности к антибиотикам (1—9).

3. Среди изолятов O1 серогруппы доля резистентных составила 38,5%, среди non O1 серогруппы — 40%.

4. Преобладающее большинство резистентных к антибиотикам фенотипов (фенотипы 2, 4, 5, 6, 8, 9) отмечается в Кызылординской области (45,8%). В Алматы и Алматинской области резистентные штаммы (фенотипы 1, 2, 3, 7) составили 30,8%.

5. Чаще проявлялась устойчивость к канамицину (17,3%).

6. Частота выделения полирезистентных штаммов по годам не изменяется.

Заключение

Всего исследовано 52 штамма *V.cholerae*. Фенотипические маркеры резистентности имели 38,4% изученных изолятов, при этом преобладали штаммы с монорезистентностью (1, 2, 3, 4) (23,1%); 9,6% — имели по 2 и более маркеров резистентности (5, 6, 7, 8, 9). Чаще проявлялась фенотипическая устойчивость к канамицину (17,3%).

Среди изолятов *V.cholerae* O1 серогруппы доля резистентных составила 38,5%, среди *V.cholerae* non O1 серогруппы — 40%.

Доля резистентных штаммов, выделенных в Кызылординской области, была значительной и составила 45,8%. Резистентные штаммы, выделенные из воды в Алматы, Алматинской и Жамбылской областях, были одного фенотипа, резистентные к эритромицину.

Учитывая чувствительность всех штаммов к ципрофлоксацину, тетрациклину, гентамицину можно рекомендовать эти антибиотики для лечения и профилактики холеры в указанных областях. Принимая во внимание наличие полирезистентных штаммов *V.cholerae*, считаем необходимым определять чувствительность к антибиотикам.

Источник финансирования — Грант МОН РК «Генотипирование и филогенетический анализ штаммов холерного вибриона, выделенных из окружающей среды и от людей, в Республике Казахстан».

ЛИТЕРАТУРА

1. Айкимбаев А.М., Аракелян И.С., Машкеев А.К., Поублан Ф., Семиотрочев В.Л., Темиралиева Г.А. Действие интетрикса на холерные вибрионы с комплексной антибиотикоустойчивостью. Здравоохранение Казахстана. — 1994. — № 8. — С. 68. / Ajkimbaev A.M., Arakelyan I.S., Mashkeev A.K., Poublan F., Semiotrochev V.L., Temiralieva G.A. Dejstvie inetriksa na kholernye vibriony s kompleksnoj antibiotikoustojchivost'yu. Zdravookhranenie Kazakhstana. 1994; 8: 68. [in Russian]
2. WHO Number of reported cholera cases (<http://www.who.int>).
3. Urassa W.K., Mhando Y.B., Mhalu F.S., Mgonja S.J. Antimicrobial susceptibility patterns of *Vibrio cholerae* O1 strains during two cholera outbreaks in Dar es Salaam, Tanzania. East African Med J 2000; 77: 350—353.
4. Waldor M.K., Tschape H., Mekalanos J.J. A new type of conjugative transposon encodes resistance to sulfamethoxazole, trimethoprim, and streptomycin in *Vibrio cholera* O139. J Bacteriol 1996; 178: 14: 4157—4165.
5. Safrin S., Morris J.G., Adams M., Pons V., Jacobs R., Contle J.E. Non - O:1 *Vibrio cholerae* Bacteremia: Case Report and Review. Rev Infect Dis 1988; 10 (5): 1012—1017.

6. Thungapathra A.M., Sinha K.K., Chaudhuri S.R., Garg P., Ramamurthy T., Nair B.G., Ghosh A. (2002). Occurrence of Antibiotic Resistance Gene Cassettes aac (6)-Ib, dfrA5, dfrA12, and ereA2 in Class 1 Integrons in Non O1, Non O139 *Vibrio cholerae* strains in India. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 9: 2948–2955.
7. Dalsgaard A., Forslund A., Bodhidatta D., Serichantalergs O., Pitarangsi C., Pang L., Shimadas T., Echeverria P. A. high proportion of *V. cholerae* isolated from children with diarrhoea in Bangkok, Thailand are multiple antibiotic resistant and belong to heterogeneous non-O1, non-O139 O-serotypes. *Epidemiol Infect* 1999; 122, 217–226.
8. Albert M.J., Siddique A.K., Islam M.S., Farugue A.S., Ansaruzzaman M., Farugue S.M., Sack R.B. Large outbreak of clinical cholera due to *Vibrio cholerae* non O1 in Bangladesh. *Lancet* 1993; 341 (8846): 704.
9. Ramamurthy T., Garg S., Sharma R., Bhattacharya S.K., Nair G.B., Shimada T. Emergence of novel strain of *Vibrio cholerae* with epidemic potential in southern and eastern India. *Lancet* 1993; 341 (8846): 703–704.
10. Washington J.A., Wilson W.R. Erythromycin: a microbial and clinical perspective after 30 years of clinical use. *Mayo Clin Proc* 1985; 60: 271–278.
11. *Lancet*, 341, 703–704.
12. Yamamoto T., Nair G.B., Albert J.M., Parodi C.C., Takeda Y. Survey of in vitro susceptibility of *Vibrio cholerae* O1 and O139 to Antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39: 1: 241–244.
13. Савельев В. Н., Бабенюшев Б. В., Савельева И. В., Васильева О. В., Гусева Л. В., Грижебовский Г. М., Курбанов Ш. Х., Асваров Б. М., Батырова Б. А., Дорошенко И. Г., Антоненко А. Д. Чувствительность/устойчивость к антибактериальным препаратам клинических штаммов холерного вибриона Эльтор, выделенных на Кавказе в период седьмой пандемии холеры. *Антибиотики и химиотер.* — 2010. — № 5. — С. 8–13. / Savel'ev V. N., Babenyshv B. V., Savel'eva I. V., Vasil'eva O. V., Guseva L. V., Grizhebovskij G. M., Kurbanov SH. KH., Asvarov B. M., Batoryova B. A., Doroshenko I. G., Antonenko A. D. CHuvstvitel'nost'/ustojchivost' k antibakterial'nym preparatam klinicheskikh shtammov kholernogo vibriona EHl'tor, vydelennykh na Kavkaze v period sed'moj pandemii kholery. *Antibiotiki i khimioter* 2010; 5: 8–13. [in Russian]
14. Kitoaka M., Miyata S.T., Unterweger D., Pukatzki S. Antibiotic resistance mechanisms of *Vibrio cholerae*. *J Med Microbiol* 2011; 60: 397–407.
15. Clinical and Laboratory Standards Institute. M100-S24 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fourth Informational Supplement (2014), 230.
16. Coyle M.B., Cavalieri S.J., Harbeck R.J., McCarter Y.S., Ortiz J.H., Rankin I.D., Sautter R.I., Sharp S.E., Spiegel S.E. Manual of antimicrobial susceptibility testing [American Society for Microbiology], 2005; 232.
17. Venables W.N., Smith D. M., Core R. (2017). Team An Introduction to R Notes on R: A Programming Environment for Data Analysis and Graphics Version 3.4.1, 99.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Сагиев Заурбек Акимханович — к.м.н., заведующий лабораторией холеры, Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций им. Масгута Айкимбаева, Алматы, Республика Казахстан

Утепова И.Б. — к.м.н., начальник центра подготовки специальных кадров, региональный тренинг-центр по биобезопасности и биозащите, Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций им. Масгута Айкимбаева, Алматы, Республика Казахстан

Мусагалиева Р.С. — к.м.н., с.н.с лаборатории эпидемиологии, микробиологии чумы, Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций им. Масгута Айкимбаева, Алматы, Республика Казахстан

Алыбаев С.Д. — младший научный сотрудник, лаборатория холеры, Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций им. Масгута Айкимбаева, Алматы, Республика Казахстан

Кульбаева М.М. — младший научный сотрудник, лаборатория холеры, Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций им. Масгута Айкимбаева, Алматы, Республика Казахстан

Исмаилова А.О. — младший научный сотрудник, лаборатория холеры, Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций им. Масгута Айкимбаева, Алматы, Республика Казахстан

Алдибекова А. А. — лаборант, лаборатория холеры, Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций им. Масгута Айкимбаева, Алматы, Республика Казахстан

Современные маски инфекционного эндокардита

Г. В. РОДОМАН¹, И. Р. СУМЕДИ¹, С. К. ЗЫРЯНОВ^{1,2}, М. А. ИВЖИЦ^{1,2},
А. Ф. КУРМАСHEV¹, П. В. ИОНИДИ^{1,2}, Г. А. ПУЦМАН^{1,2}, А. О. КУЧУК³

¹ Городская клиническая больница № 24, Москва

² Российский университет дружбы народов, Москва

³ Московский государственный медико-стоматологический университет им. А. И. Евдокимова, Москва

Modern Masks of Infectious Endocarditis

G. V. RODOMAN¹, I. R. SUMEDI¹, S. K. ZYRYANOV^{1,2}, M. A. IVZHITS^{1,2},
A. F. KURMASHEV¹, P. V. IONIDI^{1,2}, G. A. PUTSMAN^{1,2}, A. O. KUCHUK³

¹ Municipal Clinical Hospital No. 24, Department of Health, Moscow

² RUDN University, Moscow

³ A. I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow

В статье даётся определение инфекционного эндокардита, поднимаются вопросы эпидемиологии, этиологии, классификации и диагностических критериев этого заболевания. Представлены результаты анализа схем лечения случаев инфекционного эндокардита за 2014—2017 гг. на базе ГБУЗ ГКБ № 24 ДЗМ, рассматриваются перспективы применения препаратов новых групп, а также разбирается клинический случай успешного лечения инфекционного эндокардита, характеризовавшийся многообразием клинических проявлений, и, вследствие этого, расширенным диагностическим поиском. Научный интерес представляет случай диагностики туберкулёзного поражения эндокарда, что нетипично для инфекционного эндокардита, однако, следует учитывать, что в настоящее время, в связи с ростом заболеваемости туберкулёзом, такая этиология может иметь место.

Ключевые слова: инфекционный эндокардит, схемы лечения, туберкулёзное поражение эндокарда, даптомицин, телаванцин.

The article gives the definition of infectious endocarditis, raises the issues of epidemiology, etiology, classification, and diagnostic criteria of this disease. It also presents the results of the treatment regimens analysis of infectious endocarditis cases for 2014—2017 year in MCH No. 24, Department of Health, addresses the perspective implementation of new drugs. Clinical case of successful treatment of infectious endocarditis, characterized by a variety of clinical manifestations, and, consequently, extended diagnostic search is discussed. In addition, the case of diagnosing endocardial tuberculosis is of scientific interest, because tuberculous nature is atypical for infectious endocarditis, however, it should be borne in mind that nowadays, due to the increase in the incidence of tuberculosis, such etiology may occur.

Keywords: infectious endocarditis, treatment regimens, tuberculous endocarditis, daptomycin, telavancin.

Введение

Инфекционный эндокардит (ИЭ) — инфекционное заболевание с первичной локализацией возбудителя на клапанах сердца, пристеночном эндокарде, реже — на эндотелии аорты и крупных артерий, протекающее с возможной генерализацией септического процесса и развитием иммунопатологических проявлений [1—3]. Заболеваемость инфекционным эндокардитом регистрируется во всех странах мира и в Российской Федерации составляет более 10000 человек в год, из которых около четверти нуждаются в хирургическом вмешательстве [8]. Несмотря на то что в настоящее время в практику вводятся новые группы

антибактериальных препаратов и способы хирургического лечения, ИЭ остаётся заболеванием, сложным в диагностике и подборе схемы лечения, а также характеризующимся высокой летальностью [4—7].

Среди возбудителей ИЭ выделяют группу стрептококков. Преобладает *Streptococcus viridans*, относящийся к α -гемолитическим стрептококкам. Также среди возбудителей ИЭ встречаются коагулазопозитивные (*Staphylococcus aureus*) и коагулазонегативные (*Staphylococcus epidermidis* и др.) стафилококки. Специфическая для ИЭ бактериемия может быть обусловлена грамотрицательными палочками, объединяемыми аббревиатурой НАСЕК (*Haemophilus aphrophilus*, *H. paraphrophilus*, *H. parainfluenzae*, *Actinobacillus actino-mycetemcomitans*, *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella corrodens* и *Kindellakingae*) [17].

© Коллектив авторов, 2018

Адрес для корреспонденции: 127015 Москва, ул. Писцовая, д. 10. Городская клиническая больница № 24

Различают ИЭ:

По течению:

- острый, длительностью до 2 мес;
- подострый, при длительности свыше этого срока.

Особые формы инфекционных эндокардитов ИЭ протезированного клапана:

- ранний, развившийся в первые 12 мес после перенесённой операции;
- поздний, возникший через 1 год и более после хирургического лечения.
- ИЭ у лиц с имплантированным электрокардиостимулятором:
 - ИЭ электротрокардиостимулятора, когда вегетации находятся на проводнике-электроде изолированно или в сочетании с поражением клапана (как правых, так и левых отделов сердца);
 - ИЭ у лиц с имплантированным электрокардиостимулятором, при котором поражается только клапан, а проводник-электрод не вовлечен в инфекционный процесс;
 - ИЭ у лиц с трансплантированным органом;
 - ИЭ у лиц, получающих заместительную почечную терапию гемодиализом;
 - ИЭ у инъекционных наркоманов.

Выздоровевшим следует считать пациента через 1 год после завершения лечения [9, 16]

Сложность диагностики связана со стертой клиникой и высокой вариабельностью первичных проявлений ИЭ. В клинической картине ИЭ существенную роль играет коморбидные состояния — сопутствующее поражение других органов и систем. В 40% случаев поражается опорно-двигательный аппарат. Это проявляется миалгиями и артралгиями. Миозиты, тендиниты и энтезопатии отмечаются в 10% случаев. Почки чаще всего поражаются по типу очагового или диффузного гломерулонефрита, что мы и наблюдали в клиническом случае, который рассмотрим ниже. Поражение почек в нашем случае было подтверждено биопсийным материалом. У некоторых больных возникают тромбоэмболические инфаркты. Нередко отмечается гепатомегалия, более чем у половины больных наблюдается спленомегалия, степень которой зависит от длительности заболевания [10].

Для своевременной диагностики должны быть использованы валидные методики, такие как большие и малые критерии по Duke (табл. 1). Диагноз считается достоверным, если присутствуют: 2 больших критерия или 1 большой и 3 малых критерия, или 5 малых критериев [4].

Цель работы — изучить проблему сложности диагностики инфекционного эндокардита (ИЭ), обобщив современные знания об этиологии, особенностях течения ИЭ, провести анализ случаев заболевания ИЭ в ГБУЗ ГКБ 24 за период 2014—2017 гг.

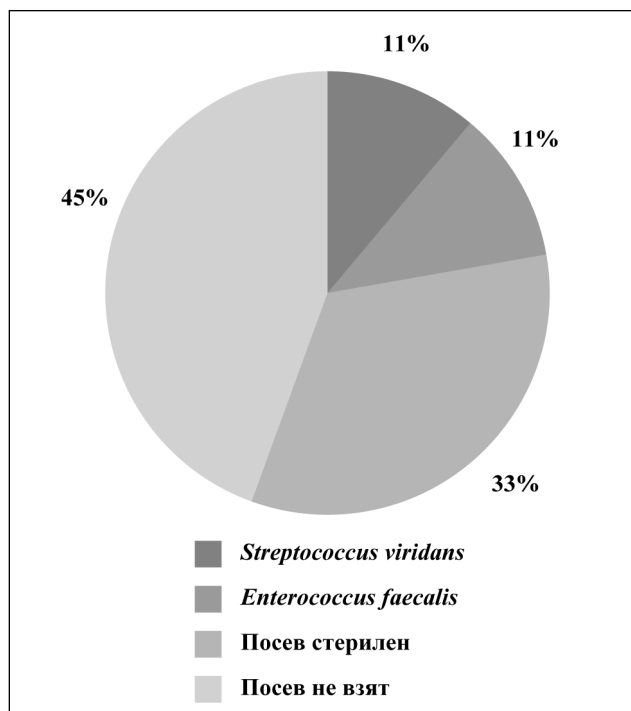


Рис. 1. Анализы микробиологического исследования крови

Материал и методы

Проведённое исследование было основано на ретроспективном и фармакоэпидемиологическом анализе. Были использованы деперсонализированные данные пациентов ГКБ №24 ДЗМ. Проведён систематический поиск информации в базах данных — PubMed/ Medline, EMBASE and the Cochrane-Library, eLIBRARY.RU.

Результаты исследования

Рассмотрено 9 случаев заболеваемости ИЭ с 2014 по 2018 гг. — 2 случая заболеваемости в молодом возрасте, 7 случаев заболеваемости в пожилом возрасте, из них 8 мужчин, 1 женщина.

При микробиологическом анализе выявлены возбудители, представленные на рис. 1.

Согласно клиническим рекомендациям европейского сообщества 2015 г., используется следующая терапия [4, 10] (табл. 2, 3):

1. Эмпирическая терапия внебольничного ИЭ нативного клапана и позднего ИЭ искусственного (до получения результатов посева крови).

2. Эмпирическая терапия ИЭ нативного и искусственного клапана при непереносимости бета-лактамов антибиотиков.

3. Эмпирическая терапия нозокомиального или ненозокомиального ИЭ, связанного с медицинскими манипуляциями, или раннего ИЭ искусственного клапана (ESC 2015.)

Анализ фармакотерапии показал, что во всех случаях применялась разная стратегия антибактериальной терапии. Основными группами антибиотиков являлись:

Таблица 1. Критерии Duke

Большие критерии		Малые критерии
I. Положительные результаты посева крови	II. Эхокардиографические признаки поражения эндокарда	1. Наличие заболевания сердца, предрасполагающего к развитию инфекционного эндокардита, или внутривенное введение наркотиков.
1. Наличие в двух отдельных пробах крови одного из типичных возбудителей инфекционного эндокардита:	1. ЭхоКГ-изменения, характерные для инфекционного эндокардита:	2. Лихорадка выше 38°C.
• <i>S.viridans</i> ;	• подвижные вегетации;	3. Сосудистые осложнения (эмболии крупных артерий, септический инфаркт лёгкого, микотические аневризмы, внутричерепное кровоизлияние, кровоизлияния в конъюнктиву).
• <i>S.bovis</i> .	• абсцесс фиброзного кольца;	4. Иммунные проявления (гломерулонефрит, узелки Ослера, пятна Рота, ревматоидный фактор).
Группы НАСЕК	• новое повреждение искусственного клапана.	5. Микробиологические данные (положительные результаты посева крови, не соответствующие основному критерию, или серологические признаки активной инфекции микроорганизмом, способным вызвать инфекционный эндокардит).
• <i>S.aureus</i> ;	2. Развитие недостаточности клапана (по данным ЭхоКГ)	6. Эхокардиографические данные (соответствующие диагнозу инфекционного эндокардита, но не отвечающие основному критерию).
• энтерококки.		
2. Стойкая бактериемия (независимо от выявленного возбудителя), определяемая:		
• или в двух и более пробах крови, взятых с интервалом 12 ч;		
• или в трёх и более пробах крови, взятых с интервалом не менее 1 ч между первой и последней пробами.		

Таблица 2. Эмпирическая терапия внебольничного ИЭ (до получения результатов посева крови)

Антибиотик	Доза и путь введения	Длительность терапии (недели)
Ампициллин	12 г/сутки, в/в, в 4 введения	4–6
+ (Флу)клоксациллин или Оксацillin	12 г/сутки, в/в, в 4 введения	4–6
+ Гентамицин	3 мг/кг/сутки в/в или в/м в 1 введение	4–6

Таблица 3. Эмпирическая терапия ИЭ при непереносимости бета-лактамов антибиотиков

Антибиотик	Доза и путь введения	Длительность терапии (недели)
Ванкомицин	30–60 мг/кг/сутки в/в в 2–3 введения	4–6
+ Гентамицин	3 мг/кг/сутки в/в или в/м в 1 введение	4–6

• Полусинтетические пенициллины, в частности ампициллин, особенно активный в отношении стафилококков (MSSA).

• Защищённые пенициллины, в частности амоксиклав, особенно активный в отношении кокковой флоры, употребляется в схемах лечения с гентамицином, поскольку обладает синергизмом с ним.

• Аминогликозиды, в частности гентамицин, который входит в первые схемы протоколов лечения ИЭ, вызванного *Enterococcus faecalis*, *E.faecium*. Также обладает активностью в отношении стрептококков (*S.bovis*, *S.pneumonie*, *S.pyogenes* и др.), стафилококков (*S.aureus*, *S.epidermidis*), грамотрицательных бактерий (*Escherichia coli*, *Proteus* spp., *Pseudomonas* spp., *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp.).

• Цефалоспорины III поколения, в частности цефтриаксон, который наиболее эффективен в отношении флоры НАСЕК

• В одном случае был применен новый препарат Кубицин (даптомицин), который обладает активностью только в отношении грамположительных бактерий, создаёт высокие концентрации в крови. Однако следует помнить, что его применение при сопутствующей пневмонии неэффективно, поскольку он связывается с сурфактантом и инактивируется в альвеолах, что приводит к ухудшению дыхательной недостаточности.

• Фторхинолоны, такие как левофлоксацин и гатифлоксацин, они не являются препаратами 1-го ряда схем лечения ИЭ, и применялись для лечения сопутствующих патологий, таких как пневмония

• Карбапенемы, в частности меропенем, которые применяются, согласно рекомендациям, при лечении инфекций, вызванных грамотрицательной флорой (*E.coli*, *Proteus* spp., *Pseudomonas* spp., *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp.).

Из девяти исследуемых пациентов пять пациентов выписаны с улучшением, четыре с летальным исходом (рис. 2), во всех случаях имел место отягощённый анамнез (рис. 3).

Для демонстрации разнообразия клинических проявлений, маскирующих начало и течение ИЭ, сложностей, связанных со своевременной постановкой правильного диагноза, мы приводим два клинических примера.

Пример 1

Больной Р., находился в отделение ОРИТ с последующим переводом в нефрологическое отделение с 19 сентября 2016 г. по 21 октября 2016 г. Поступил пациент 19 сентября 2016 в 22:50 с жалобами на общую слабость, чёрный стул, тошноту и рвоту кровью. Из анамнеза стало известно, что больным себя считал с 19 сентября 2016 г., когда появились вышеуказанные жалобы, состояние не улучшалось, вызвал СМП, доставлен в ГКБ № 24.

Из перенесённых заболеваний — рак левой почки T1aNxM0, по поводу которого 27 июля 2016 г. произведена её

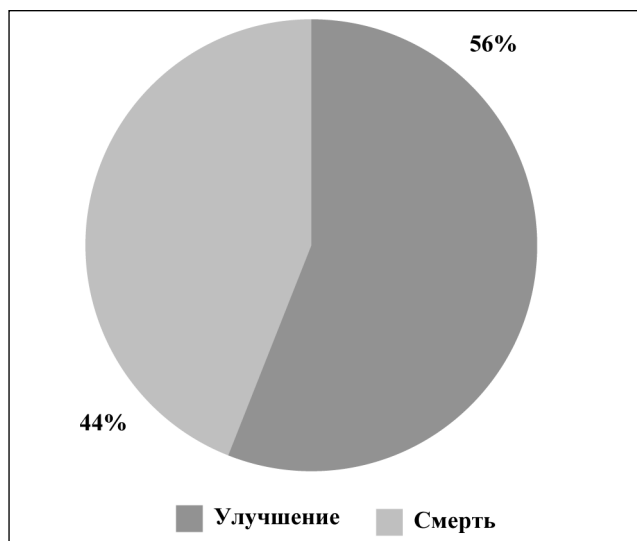


Рис. 2. Исходы терапии

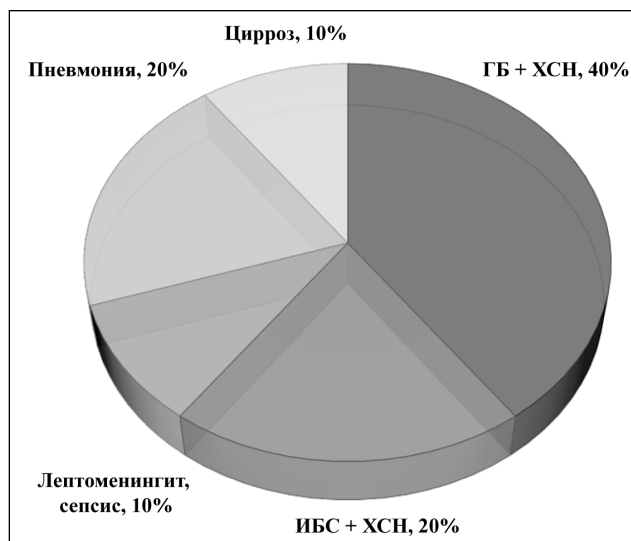


Рис. 3. Соматический статус

Таблица 4. Эмпирическая терапия нозокомиального или ненозокомиального ИЭ, связанного с медицинскими манипуляциями, или раннего ИЭ искусственного клапана (ESC 2015)

Антибиотик	Доза и путь введения	Длительность терапии (недели)
Ванкомицин	30 мг/кг/сут в/в за 2 раза	6 недель и более
+ Гентамицин	3 г/кг/день в/в или в/м за 1 введение	2 недели
+ Рифампицин*	900—1200 мг /д в/в или п/о за 2—3 раза	2 недели

Примечание. * — Рифампицин назначают только при раннем ИЭ искусственного клапана сердца и начинают через 3—5 дней после начала введения ванкомицина и гентамицина. Необходимо контролировать функцию почек. Назначить консультацию кардиохирурга.

радикальная лапароскопическая резекция в ГКБ № 40, ИБС, ГБ. С апреля 2016 г. отмечает у себя немотивированные подъёмы температуры до 40°C. С 01 сентября по 09 сентября находился на лечении в ГКБ № 40, где выставлен диагноз неуточнённого коллагеноза, рекомендован к приёму преднизолон 30 мг внутрь. С момента выписки 09 сентября отмечал одышку при незначительной физической нагрузке, продолжающиеся подъёмы температуры до 39°C, отёки ног; в последние 5 дней перед поступлением 19 сентября одышка усилилась, появилась одышка в покое, нарастали отёки ног, отекло лицо, появился кашель с мокротой слизистого характера.

Общее состояние при поступлении тяжёлое, в данных объективного обследования обращала на себя внимание бледность кожных покровов, частота дыхательных движений 24—26 в минуту, в лёгких — единичные сухие жужжащие хрипы с обеих сторон, язык обложен жёлто-коричневым налётом, отёки нижних конечностей, региструм: на перчатке кал чёрного цвета.

В анализах крови при поступлении отмечается лейкоцитоз $17,9 \times 10^9/\text{л}$, эритроцитопения $1,61 \times 10^{12}/\text{л}$, снижение гемоглобина до 47 г/л, гематокрита до 13,5%, тромбоцитопения $171 \times 10^9/\text{л}$, абсолютный гранулоцитоз $9,9 \times 10^9/\text{л}$. В биохимическом анализе крови обращают на себя внимание высокие креатинин — 633 мкмоль/л и мочевины — 42,7 ммоль/л, снижение общего белка — 41 г/л.

Проведена ЭГДС, в нижней трети желудка на передней стенке обнаружены 3 «острые» язвы до 0,4—0,5 см в диаметре с наложениями солянокислого гематина в дне дефектов, на задней стенке обнаружено две «острые» язвы до 1,0 см в диаметре с фиксированными тёмными сгустками на периферии дефектов. Произведён превентивный эндоскопический гемостаз методом аргонно-плазменной коагуляции двух наибольших дефектов на задней стенке желудка.

Был поставлен предварительный диагноз в нашем стационаре: Желудочно-кишечное кровотечение от 19.09.16.

Фон: Рак левой почки T1aNxM0.

Осложнения: Ренальная ОПН (СКФ — 8 мл/мин).

В ОРИТ пациенту переливались СЗП и ЭРМ, на фоне которых повысились показатели гемоглобина и гематокрита. В связи с высоким уровнем креатинина (343 мкмоль/л) и мочевины (24,9 ммоль/л), нарастанием калия были проведены сеансы гемодиализа, состояние пациента оставалось тяжёлым. 26.09 появились петехиальные высыпания в области голени, сохранялся лейкоцитоз — $9,6 \times 10^9/\text{л}$, выявлен повышенный СРБ — 75 г/л. (табл. 4—6).

29 сентября повысилась температура до 38°C, появились боли в икроножных мышцах, усиливающиеся при движении и пальпации, по данным ЭхоКГ — выраженные изменения створок аортального клапана, могли соответствовать бактериальному эндокардиту с поражением створок и формированием аортальной недостаточности 2—3-й степени. Данные изменения трактовались как атеросклеротическое поражение аортального клапана (рис. 4).

В последующие дни состояние пациента оставалось стабильно тяжёлым, сохранялись лихорадка и геморрагические высыпания на коже голени.

Взят посев крови на стерильность 03 октября — роста микрофлоры нет, в связи с ухудшением состояния и с учётом высоких цифр креатинина, эмпирически назначен тигецилин 50 мг 2 раза в сутки внутривенно, препарат из группы глицилциклинов, не требующий корректировки дозы при ХПН.

По биохимическим анализам крови оставались высокими показатели креатинина — ОПН не разрешалась, сохранялся высокий СРБ (89 мг/л). В связи с сохранением интоксикационного синдрома и неэффективностью антибиотикотерапии 07 октября тигецилин заменён на меропенем 0,5 г 1 раз в сутки, на фоне которого выявлено улучшение состояния: уменьшились геморрагические высыпания на бёдрах, нормализовалась температура тела, в биохимическом анализе крови — снижение креатинина — 366 мкмоль/л, снижение СРБ — 57 г/л.



Рис. 4. Эхокардиографическая картина аортального клапана больного Р.

Несмотря на проводимую терапию, 25 октября 2016 у пациента снова рецидив лихорадки ($38,4^{\circ}\text{C}$), повторное появление и увеличение количества геморрагических высыпаний на коже голени и бедер, отёки конечностей (рис. 5). В общей анализе крови выявлен лейкоцитоз — $9,7 \times 10^9/\text{л}$, гранулоцитоз $7,6 \times 10^9/\text{л}$, повышенная СОЭ — 49 мм/ч. В биохимическом анализе крови выявлены снижение общего белка — 59,5 г/л, несмотря на сеансы гемодиализа остаются высокими мочевина — 22,3 ммоль/л и креатинин — 482 мкмоль/л (табл. 7, 8).

27 октября произведена игольная биопсия правой почки, которая выявила экстракапиллярный иммунокомплексный гломерулонефрит с 80% фиброзно-клеточных и фиброзных полулуний, данная картина наиболее характерна для поражения почек при инфекционном эндокардите. Пациенту продолжали проводиться сеансы гемодиализа, проведена рентгенография органов грудной полости — подозрение на очаго-

вую пневмонию в базальных отделах правого лёгкого. Однако, учитывая отсутствие убедительных клинических данных за пневмонию, и принимая во внимание предшествующую массивную антибиотикотерапию (цефтриаксон, ципрофлоксацин, амоксициллин/клавулановая кислота, левофлоксацин, тигециклин, меропенем), от проведения антибиотикотерапии на данный момент было решено воздержаться.

07 ноября, учитывая рецидив геморрагической сыпи, СКФ 11 мл/мин начата инфузия ванкомицином 1 г 1 раз в сутки в/в, после сеанса гемодиализа. После назначения препарата состояние пациента улучшилось, уменьшилась одышка, в анализе крови от 10.11 лейкоциты в пределах нормы — $8,6 \times 10^9/\text{л}$, уменьшилась СОЭ — 25 мм/ч, снизился СРБ — 30 мг/л (рис. 6). Решено продолжить терапию ванкомицином, с коррекцией дозы препарата по уровню СКФ и проводимого гемодиализа, установлен режим введения — 100% один раз в 7 дней (табл. 9, 10).

На фоне проводимой терапии ванкомицином состояние пациента постепенно улучшалось, 16 ноября он выписывается под наблюдение нефролога, креатинин — 143 мкмоль/л. Пациент снят с программного гемодиализа, полностью нормализовалась картина крови. Отслежен катамнез пациента через месяц — полностью разрешились явления почечной недостаточности.

Таким образом, история данного пациента демонстрирует важность своевременной и правильной постановки диагноза. Вероятнее всего, пациент до оперативного лечения рака почки перенёс стрептококковую инфекцию, которой не было придано должного значения. Пациент был прооперирован, и тогда же он начал лихорадить, вероятнее всего это и была манифестация ИЭ, который не был диагностирован вовремя. Пациент испытывал упорную лихорадку, генез который не был выяснен, заподозрено системное соединительное заболевание. Без должного

Таблица 5. Динамика показателей общего анализа крови больного Р. за период с 19.09.16 по 26.09.16

Показатель	19.09.16	20.09.16	21.09.16	22.09.16	26.09.16	Ед. изм.	Нормы
Лейкоциты	17,9	15	7,2	13,2	9,6	$10^9/\text{л}$	4—9
Эритроциты	1,61	1,63	1,79	2,48	2,23	$10^{12}/\text{л}$	4—5
Гемоглобин	47	49	51	77	68	г/л	130—160
Гематокрит	13,5	13,9	14,8	21,1	19,1	%	40—48
Ср. объём эритроцита	83,7	85	82,7	85,1	85,7	Фл	80—100
Сред. Сод. Нб	29,2	30,1	28,5	31	30,5	Пг	27—31
Тромбоциты	171	137	120	148	119	$10^9/\text{л}$	180—320
Лимфоциты	2,3	1,9	0,7	2,3	1,1	$10^9/\text{л}$	0,6—4,8
% лимфоцитов	12,7	12,7	9,3	17,6	11	%	
Моноциты	5,7	1,2	0,6	0,5	0,2	$10^9/\text{л}$	0,14—1
% моноцитов	31,8	8,2	8,3	3,8	1,6	%	
Гранулоциты	9,9	11,9	5,9	10,4	8,3	$10^9/\text{л}$	1,2—6,8
% гранулоцитов	55,5	79,1	82,4	78,6	87,4	%	
Лейкоцитарная формула							
п/я				4	7	%	1—6
с/я				69	76	%	47—72
Эоз				0	1	%	0—5
Моноциты				1	3	%	3—11
Лимфоциты				26	13	%	19—37
Базофилы				0	0	%	0—1
СОЭ				25		мм/ч	0—15

Таблица 6. Динамика показателей биохимического анализа крови больного Р. за период с 19.09.16 по 26.09.16

Показатель	19.09.16	20.09.16	22.09.16	26.09.16	Ед. изм.	Нормы
Креатинин	633	610	343	256	мкмоль/л	80—130
Мочевина	42,7	42,8	24,9	8,4	ммоль/л	2,5—8,3
Общий белок	41	40	46,7	51,1	г/л	64—83
СРБ				75	мг/л	0—5

Таблица 7. Динамика показателей общего анализа крови пациента за период с 26.09.16 по 25.10.16

Показатель	26.09.16	07.10.16	17.10.16	25.10.16	Ед. изм.	Нормы
Лейкоциты	9,6	9,5	10,5	9,7	10 ⁹ /л	4—9
Эритроциты	2,23	2,13	2,8	2,62	10 ¹² /л	4—5
Гемоглобин	68	65	85	84	г/л	130—160
Гематокрит	19,1	18,3	24,2	23,1	%	40—48
Ср. объём эритроцита	85,7	85,9	86,4	88,2	Фл	80—100
Сред. Сод. Нб	30,5	30,5	30,4	32,1	Пг	27—31
Тромбоциты	119	257	269	364	10 ⁹ /л	180—320
Лимфоциты	1,1	1,5	2	2	10 ⁹ /л	0,6—4,8
% лимфоцитов	11	15,9	18,7	20,9	%	
Моноциты	0,2	0,2	0,2	0,1	10 ⁹ /л	0,14—1
% моноцитов	1,6	1,8	1,8	1,2	%	
Гранулоциты	8,3	7,8	8,3	7,6	10 ⁹ /л	1,2—6,8
% гранулоцитов	87,4	82,3	79,5	77,9	%	
Лейкоцитарная формула						
п/я	7	11	3	2	%	1—6
с/я	76	61	65	64	%	47—72
Эозинофилы	1	1	1	0	%	0—5
Моноциты	3	5	4	5	%	3—11
Лимфоциты	13	21	27	29	%	19—37
Базофилы	0	1	0	0	%	0—1
СОЭ		88	84	49	мм/ч	0—15

Таблица 8. Динамика показателей биохимического анализа крови пациента за период с 26.09.16 по 25.10.16

Показатель	26.09.16	07.10.16	11.10.16	17.10.16	25.10.16	Ед. изм.	Нормы
Креатинин	256	409	322	366	482	мкмоль/л	80—130
Мочевина	8,4	16,4	11	9,2	22,3	ммоль/л	2,5—8,3
Общий белок	51,1	52,5	49,7	55,7	59,5	г/л	64—83
СРБ	75	71,3	49	57		мг/л	0—5

Таблица 9. Динамика показателей общего анализа крови пациента за период с 25.10.16 по 16.11.16 г.

Показатель	25.10.16	10.11.2016	16.11.2016	Ед. изм.	Нормы
Лейкоциты	9,7	8,2	7,2	10 ⁹ /л	4—9
Эритроциты	2,62	2,82	2,75	10 ¹² /л	4—5
Гемоглобин	84	89	92	г/л	130—160
Гематокрит	23,1	26,6	25,5	%	40—48
Ср. объём эритроцита	88,2	94,3	92,7	Фл	80—100
Сред. сод. Нб	32,1	31,6	33,5	Пг	27—31
Тромбоциты	364	335	214	10 ⁹ /л	180—320
Лимфоциты	2	1,3	1,5	10 ⁹ /л	0,6—4,8
% лимфоцитов	20,9	15,8	20,8	%	
Моноциты	0,1	0,2	0,1	10 ⁹ /л	0,14—1
% Моноцитов	1,2	2,9	1,3	%	
Гранулоциты	7,6	6,7	5,6	10 ⁹ /л	1,2—6,8
% гранулоцитов	77,9	81,3	77,9	%	
Лейкоцитарная формула					
п/я	2	3	5	%	1—6
с/я	64	74	67	%	47—72
Эозинофилы	0	1	0	%	0—5
Моноциты	5	2	5	%	3—11
Лимфоциты	29	20	23	%	19—37
Базофилы	0	0	0	%	0—1
СОЭ	49	25	13	мм/ч	0—15

Таблица 10. Динамика показателей биохимического анализа крови пациента за период с 25.10.16 по 16.11.16 г.

Показатель	25.10.16	10.11.16	16.11.16	Ед. изм.	Нормы
Креатинин	482	183	143	мкмоль/л	80—130
Мочевина	22,3	6,5	6,2	ммоль/л	2,5—8,3
Общий белок	59,5	65,1	67	г/л	64—83
СРБ		30	15	мг/л	0—5

обследования на коллагенозы был назначен преднизолон, который и привел к тяжёлому жизнеугрожающему желудочному кровотечению, с падением Нб до 47 г/л. Пребывание в ОРИТ выявило следующую проблему — высокие показатели креатинина, требовавшие прове-

дения программного гемодиализа. Сохранение гектической лихорадки, воспалительной картины крови, появление геморрагических высыпаний наводило на мысль о септическом состоянии. Начался диагностический поиск очага инфекции на фоне эмпирической антибактериаль-

ной терапии. Успех в терапии стал отмечаться на фоне применения бета-лактамов: амоксициллин/клавулановая кислота 1,2—3 раза в сутки; меропенем, однако он был не полным, также не был найден источник лихорадки. Только после проведения биопсии почки и получения характерной картины поражения при инфекционном процессе (экстракапиллярный иммунокомплексный гломерулонефрит), был заподозрен инфекционный эндокардит. Для верификации диагноза была проведена чреспищеводная эхокардиография, на которой был подтверждён диагноз инфекционного эндокардита с поражением аортального клапана с аортальной регургитацией 2—3 ст.

В результате правильной постановки диагноза была начата адекватная антибактериальная терапия препаратом из класса гликопептидов (ванкомицин). Режим его дозирования был скорректирован с учётом ХПН и сеансов гемодиализа, поскольку молекула ванкомицина крупная и не выводится при гемодиализе. Выбран режим 1 раз в 7 дней, что позволило избежать нефротоксичности, но достичь терапевтической эффективности. Следует помнить, что ванкомицин — препарат, применение которого требует проведения терапевтического лекарственного мониторинга (ТЛМ). ТЛМ помогает достичь mic : 0,5—2 по критериям EUCAST, что гарантирует успех терапии. Также следует помнить, что в настоящее время стали появляться VRSA, VRE, поэтому ТЛМ при выборе этого препарата так важен.

Пример 2

Больная В., поступила 09.03.17 в ОРИТ № 3 ГБУЗ ГКБ № 24 минувя ПДО с входным диагнозом: Пневмония. Инфекционно-токсический шок. В анамнезе у пациентки ИБС: ПИКС, ГБ 3 ст, 3 ст, риск 4, ХСН IIa NYHA, нефрэктомия справа от 2009 г. по поводу МКБ.

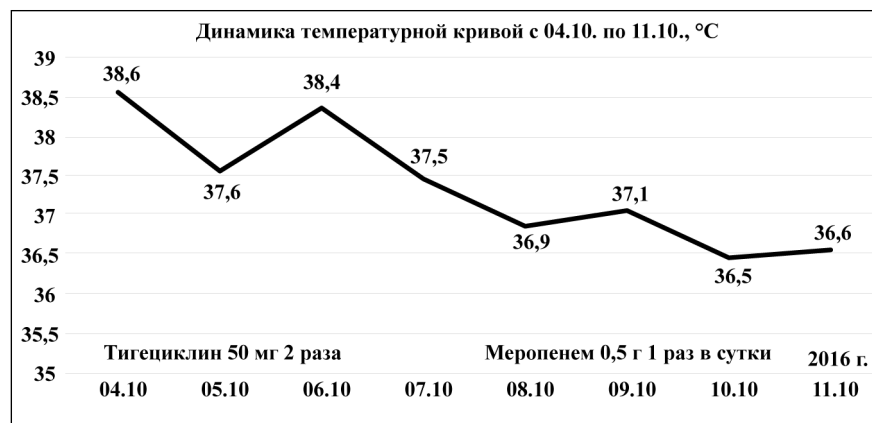


Рис. 5. Температурная кривая больного Р. за период 04.10.16—11.10.16 на фоне лечения Тигециклином 50 мг и Меропенемом 0,5 г.

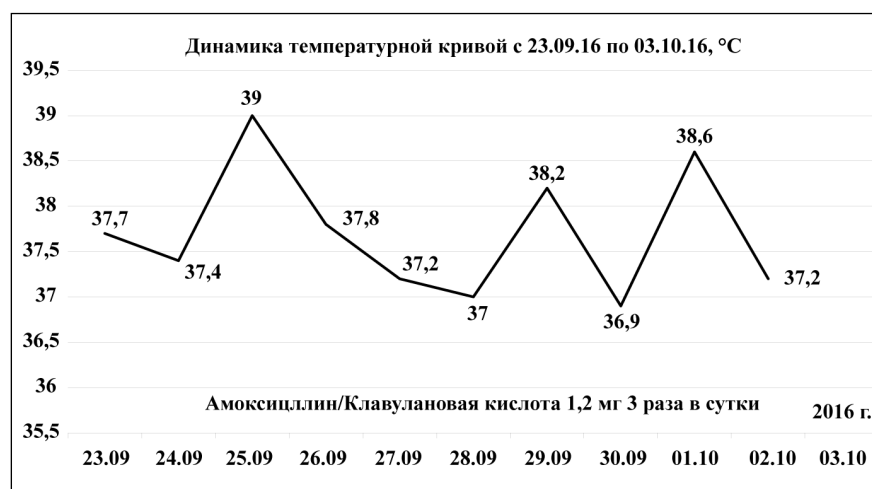


Рис. 6. Температурная кривая больного Р. за период 23.09.16—03.10.16 на фоне лечения амоксициллином/клавулановой кислотой 1,2 мг 3 раза в сутки.



Рис. 7. Динамика показателя СРБ больного Р. за весь период лечения.

С февраля 2017 г. отметила нарастание отёков, одышки при незначительной физической нагрузке в покое. С 17.02.2017 по 01.03.2017 находилась в ГКБ им. С.П. Боткина по поводу декомпенсации ХСН, выписана с улучшением состояния. Настоящее ухудшение состояния 08.03.2017 г, когда родственники отметили повышение температуры до 38,5°C, появление одышки смешанного характера в покое, по БСМП доставлена в ГКБ № 24.

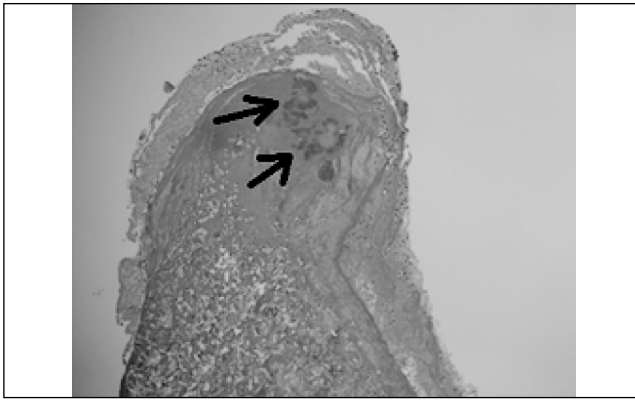


Рис. 8. Скопления кокков в тромботических вегетациях на клапане Пирогова-Лангханса.

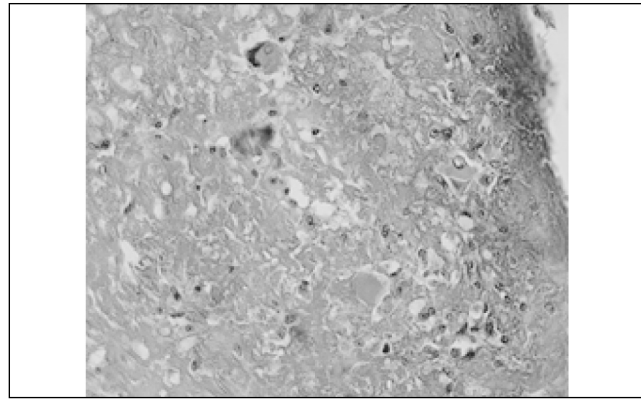


Рис. 9. В тромботических массах есть включения эпителиодных клеток и клеток.

При физикальном осмотре обращали на себя внимание отёки нижних конечностей, дыхание аускультативно ослабленно в нижних отделах лёгких, мелкопузырчатые хрипы в нижних отделах лёгких. Сухие хрипы в средних и нижних отделах лёгких с двух сторон. ЧДД — 30 уд. в минуту.

Гемодинамика со склонностью к артериальной гипотензии. АД — 80/40 мм рт. ст. Тоны — сердца глухие, выслушивался систолический шум во всех точках аускультации.

В лабораторных показателях обращали на себя внимание анемия — HGB=74 г/л, НСТ=23,0 %; тромбоцитопения — PLT=151×10⁹/л, повышенный уровень креатинина — 507,0 мкмоль/л и ЛДГ — 328,0 Ед/л.

В связи с тяжестью состояния проводилась инфузионная терапия, вазопрессорная поддержка, антибиотикотерапия моксифлоксацином 400 мг в/в капельно (учитывая вероятную внутрибольничную флору, ХПН)

Однако, несмотря на проводимую терапию, больная скончалась 10.03.17, отправлена на вскрытие. На вскрытии обнаружено, что в основании задней створки митрального клапана (со стороны предсердной поверхности) имеется розовый участок её эрозирования (размерами 0,7×0,7 см с пристеночными тромботическими массами толщиной 0,1—0,2 см), к которому на тонкой ножке длиной 0,4 см и диаметром 0,2 см фиксирован серый эластичной консистенции тромб с гладкой поверхностью размерами 1,7×0,8×0,4 см.

Также в нижней трети почки рассеяны сливающиеся между собой очаги казеозного некроза, окруженные специфической грануляционной тканью, состоящей из эпителиодных клеток, лимфоцитов и гигантских многоядерных клеток Пирогова-Лангханса. Специфическая грануляционная ткань окружена участками плотной волокнистой соединительной ткани с рассеянными в ней очаговыми лимфоцитарными инфильтратами. В прилежащей паранефральной жировой клетчатке участки фиброза с рассеянными в них очаговыми лимфоцитарными инфильтратами и с единичными рассеянными туберкулёзными гранулемами.

Патолого-анатомический диагноз:

Основное заболевание. Вторичный туберкулёз: туберкулёма (размерами 3,5×3,5×2,0 см) нижней трети единственной левой почки.

Осложнения основного заболевания: гематогенная диссеминация туберкулёзного процесса с присоединением сепсиса, вызванного неспецифической бактериальной флорой: туберкулёзный панкардит (сливающиеся между собой на участке протяженностью до 4 см и шириной 0,5—2,0 см очаги трансмурального казеозного некроза диаметром 0,1—0,4 см в верхней трети миокарда левого желудочка, циркулярно, в участках прилежащих к фиброзному кольцу митрального клапана с эрозированием задней створки митрального клапана на участке размерами 0,7×0,7 см; диффузные фиброзные спайки

между листками перикарда с рассеянными в них туберкулёзными гранулемами); инфекционный эндокардит задней створки митрального клапана (скопления кокков в тромботических вегетациях на клапане) (рис. 8, 9).

По данным РФ, 26,8 % внелёгочного туберкулёза приходится на мочепооловой. В нашем случае эта была туберкулёма единственной почки с развитием инфекционного туберкулёзного эндокардита. Поэтому не стоит забывать, что на фоне внелёгочного туберкулёза может возникнуть поражение эндокарда и клапанного аппарата сердца.

К сожалению, тяжесть состояния пациентки и краткость пребывания её в стационаре не позволили своевременно верифицировать диагноз ИЭ, он был установлен посмертно.

Заключение

Актуальность проблемы инфекционного эндокардита резко возросла за последние годы в первую очередь в связи с увеличением кардиохирургической активности (ЧКВ, протезирование клапанов, имплантация ИВР и т.д.) [11—15]; изменением этиологии и клинической картины; значительными трудностями ранней диагностики, когда заболевание манифестирует под различными клиническими состояниями, тяжёлыми осложнениями и высокой летальностью при данной патологии, что подтверждается данными нашего исследования. Необходим комплексный подход к лечению и обследованию всех пациентов с подозрением на ИЭ, поскольку больных с данной нозологией могут встретить врачи многих специальностей, таких как кардиология, терапия, кардиохирургия, нефрология, фтизиатрия и многие другие.

Важно учитывать классификацию ИЭ, поскольку подбор схем лечения напрямую зависит от формы выявленного заболевания, факторов риска полирезистентной флоры — например ранний послеоперационный период после протезирования клапана, наркомания, предшествующие госпитализации за последние 90 дней, приём антианти-

ков в связи с любой другой патологией. Диагностика ИЭ, несмотря на общедоступность, простоту и очевидность контроля анализов крови на стерильность, остаётся низкой, по данным нашего исследования, в 45% не были взяты посевы крови на стерильность. Однако положительная гемокультура была получена лишь в 22% случаев, в 33% посев был стерильным, что указывает на низкую высеваемость возбудителей. Это может быть связано с забором крови на фоне предшествующей антибиотикотерапии препаратами широкого спектра, что несомненно снижает высеивание возбудителей.

При выборе схем лечения пациентов актуальными остаются антибиотики пенициллинового ряда, в частности при лечении ИЭ нативного клапана — схемы амоксициллин/клавулановая кислота + гентамицин или ампициллин + гентамицин остаются препаратами первого ряда.

Всё чаще начинают использоваться препараты новых групп, например, даптомицин из группы циклических липопептидов, серьёзным ограничением к применению которого являются септические пневмонии у пациентов [18]; телаванцин, первый представитель нового поколения гликопептидов — полусинтетических липогликопептидов, перспективной сферой применения которого являются грамположительные инфекции кровотока — бактериемия и ИЭ. В спектр его действия входят штаммы *S.aureus* со сниженной чувствительностью к ванкомицину и даптомицину, при сравнении активности в отношении ванкомици-

ночувствительных *E.faecalis* телаванцин (МПК₅₀ — 0,12 мг/л) в 8–16 раз активнее ванкомицина (МПК₅₀ — 1 мг/л), однако клинические исследования применения его при ИЭ всё ещё ведутся, поэтому его место в структуре схем лечения пока не определено [19]. Также следует отметить о препаратах резерва с MRSA, VRSA активностью — линезолиде и препарате следующего поколения тедизолиде, их особенность в том, что они имеют большой объём распределения, при однократном внутривенном введении 200 мг тедизолида фосфата он варьировал от 67 до 80 л, что приблизительно вдвое больше общего количества воды в организме. Но для лечения ИЭ это свойство неоптимально, так как большая часть препарата распределяется из кровеносного русла в мягкие ткани, создавая там высокие концентрации. Однако об этих препаратах следует помнить у пациентов с ИЭ и тяжёлыми сопутствующими заболеваниями, такими как септические пневмонии, гнойные бурситы, когда нам необходимо санировать первичные гнойные очаги инфекции. Группа оксазолидинонов являются бактериостатиками, но *in vivo* ведут себя как бактерицидные препараты [20].

Таким образом, в лечении сложных коморбидных пациентов с ИЭ остаётся много нерешённых задач: своевременность диагностики, вариабельность клинических проявлений, манифестация осложнений, подбор схем лечения с учётом сложности высеваемости возбудителей и резистентности выделенных микроорганизмов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гуревич М. А., Тазина С. Я., Савицкая К. И. Современный инфекционный эндокардит. — М.: Издатель Разумова Е. Б., 2001. — С. 229. / Gurevich M. A., Tazina S. Ya., Savitskaya K. I. Sovremennyy infektsionnyy ehndokardit. M.: Izdatel' Razumova E. B., 2001; 229. [in Russian]
2. Иванов В. А., Домнин В. В., Ярыгин И. В. Результаты хирургического лечения инфекционного клапанного эндокардита. Кардиология. — 2015. — Т. 55. — № 4. — С. 41–48. / Ivanov V. A., Domnin V. V., Yarygin I. V. Rezul'taty khirurgicheskogo lecheniya infektsionnogo klappannogo ehndokardita. Kardiologiya 2015; 55: 4: 41–48. [in Russian]
3. Федоров В. В. Современный инфекционный эндокардит. Мир Медицины. — 1999. — № 5. / Fedorov V. V. Sovremennyy infektsionnyy ehndokardit. Mir Meditsiny. 1999; 5. [in Russian]
4. Амирагов Р. И., Бабенко С. И., Муратов Р. М., Титов Д. А. Клинические рекомендации Инфекционный эндокардит (ИЭ). Год утверждения (частота пересмотра): 2016 год (пересмотр каждые 3 года). / Amiragov R. I., Babenko S. I., Muratov R. M., Titov D. A. Klinicheskie rekomendatsii Infektsionnyy ehndokardit (IEH). God utverzhdeniya (chastota peresmotra): 2016 god (peresmotr kazhdy 3 goda). [in Russian]
5. Гендлин Г. Е., Емелина Е. И. Инфекционный эндокардит. Современный подход к диагностике и лечению. Сердце: журнал для практикующих врачей. — 2016. — № 15 (5). — С. 390–450. / Gendlin G. E., Emelina E. I. Infektsionnyy ehndokardit. Sovremennyy podkhod k diagnostike i lecheniyu. Serdce: zhurnal dlya praktikuyushchikh vrachej 2016; 15 (5): 390–450. [in Russian]
6. Вардугина Н. Г., Пьянкова М. А., Кузин А. И., Зарипова Г. Р., Пономарева С. Ю. Современные клиники-морфологические и этиологические аспекты инфекционного эндокардита. Современные проблемы науки и образования. — 2016. — № 4. — С. 2070–7428. / Vardugina N. G., Pyankova M. A., Kuzin A. I., Zaripova G. R., Ponomareva S. YU. Sovremennyye kliniki-morfologicheskie i ehtiologicheskie aspekty infektsionnogo ehndokardita. Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya 2016; 4: 2070–7428. [in Russian]
7. Белов Б. С., Тарасова Г. М. Инфекционный эндокардит: лечение и профилактика. (Часть III). Современная ревматология. — 2008. — № 2 (4). С. 15–21. / Belov B. S., Tarasova G. M. Infektsionnyy ehndokardit: lechenie i profilaktika. (CHast' III). Sovremennaya revmatologiya 2008; 2(4): 15–21. [in Russian]
8. Беганская Л. А., Ройтман А. П., Бугров А. В., Долгов В. В., Морозов А. Г., Федорова Т. А. Современная лабораторная диагностика инфекционного эндокардита с позиций доказательной медицины. Медицинский алфавит. — 2017. — Т. 1. — № 6. / Beganskaya L. A., Rojman A. P., Bugrov A. V., Dolgov V. V., Morozov A. G., Fedorova T. A. Sovremennaya laboratornaya diagnostika infektsionnogo ehndokardita s pozitsij dokazatel'noy mediciny. Medicinskij alfavit 2017; 1: 6. [in Russian]
9. Miro J. M., Anguera I., Cabell C. H. et al. Staphylococcus aureus native valve infective endocarditis: report of 566 episodes from the International Collaboration on Endocarditis Merged Database. Clin Infect Dis 2005; 41: 507–14.
10. Семеновский М. Л., Саитгареев Р. Ш., Пец И. Д. Современная диагностика и хирургическое лечение инфекционного эндокардита. Сердце: журнал для практикующих врачей. — 2003. — № 2 (5). — С. 248–249. / Semenovskij M. L., Saigareev R. SH., Pec I. D. Sovremennaya diagnostika i khirurgicheskoe lechenie infektsionnogo ehndokardita. Serdce: zhurnal dlya praktikuyushchikh vrachej 2003; 2 (5): 248–249. [in Russian]
11. Chu V. H., Sexton D. J., Cabell C. H., Reller L. B., Pappas P. A., Singh R. K., Fowler V. G. Jr., Corey G. R., Aksoy O., Woods C. W. Repeat infective endocarditis: differentiating relapse from reinfection. Clin Infect Dis 2005; 41: 406–409.
12. Habib G., Lancellotti P., Antunes M. J., Bongiorni M. G., Casalta J. P., Del Zotti F. et al. 2015 ESC Guidelines for the management of infective endocarditis: the Task Force for the management of infective endocarditis of the European Society of Cardiology (ESC). Eur Heart J. 2015 Nov 21; 36 (44): 3075–128.
13. Nishimura R. A., Otto C. M., Bonow R. O., Carabello B. A., Erwin J. P. 3rd, Guyton R. A. et al. 2014 AHA / ACC guideline for the management of patients with valvular heart disease: a report of the American College of Cardiology / American Heart Association Task Force on Practice guidelines. J Am Coll Cardiol. 2014 Jun 10; 63 (22): e57–185.
14. Head S. J., Mokhles M. M., Osnabrugge R. L. et al. Surgery in current therapy for infective endocarditis. Vasc Health Risk Manag 2011; 7: 255–63.
15. Nagpal A., Sohail M., Steckelberg J. M. Prosthetic valve endocarditis: state of the heart. Clin Invest 2012; 2: 803–17.

16. Kang D.H., Kim Y.J., Kim S.H. et al. Early surgery versus conventional treatment for infective endocarditis. N Engl J Med 2012; 366: 2466—73.
17. Tischler M.D., Vaitkus P.T. The ability of vegetation size on echocardiography to predict clinical complications: a meta-analysis. J Am Soc Echocardiogr 1997; 10: 562—568.
18. Raybak M.I. The efficacy and safety of daptomycin: first in a new class of antibiotics for Gram-positive bacteria. ClinMicrobiol Infect 2006; 12 (S1): 24—32.
19. Дехнич А.В., Зубарева Н.А., Козлов Р.С., Попов Д.А., Романов А.В., Руднов В.А. Телаванцин — новый препарат, активный против полирезистентных грамположительных возбудителей. Клинические и микробиологические аспекты в вопросах и ответах. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. — 2015. — Т. 17. — № 2. / Dekhnic A.V., Zubareva N.A., Kozlov R.S., Popov D.A., Romanov A.V., Rudnov V.A. Telavancin — novyj preparat, aktivnyj protiv polirezistentnykh grampolozhiteľnykh vozбудiteľej. Klinicheskie i mikrobiologicheskie aspekty v voprosakh i otvetakh. Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya 2015; 17: 2. [in Russian]
20. Ушкалова Е.А. Тедизолид—препарат нового поколения оксазолидинонов для лечения инфекций кожи и мягких тканей. Фарматека: рецензируемый журнал для практикующих врачей. — 2014. — № 15. — С. 9—12. / Ushkalova E.A. Tedizolid—preparat novogo pokoleniya oksazolidinonov dlya lecheniya infekcij kozhi i myagkikh tkanej. Farmateka: recenziruemy zhurnal dlya praktikuyushchikh vrachej 2014; 15: 9—12. [in Russian]

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Родоман Григорий Владимирович — д.м.н., профессор, главный врач ГБУЗ «ГКБ № 24 ДЗМ г. Москвы», Москва

Сумеди Илья Романович — к.м.н., заместитель главного врача по медчасти, ГБУЗ «ГКБ № 24 ДЗМ г. Москвы», Москва

Зырянов Сергей Кенсаринович — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой общей и клинической фармакологии РУДН, заместитель главного врача по терапии, ГБУЗ «ГКБ № 24 ДЗМ г. Москвы», Москва

Ивжиц Марина Александровна — заведующая отделом клинической фармакологии, врач-клинический фармаколог ГБУЗ «ГКБ № 24 ДЗМ г. Москвы», ассистент кафедры клинической и общей фармакологии РУДН, Москва

Курмашев Александр Федорович — к.м.н., заведующий патологоанатомическим отделением ГБУЗ «ГКБ № 24 ДЗМ г. Москвы», Москва

Иониди Полина Валерьевна — врач-клинический ординатор кафедры общей и клинической фармакологии РУДН, Москва

Пуцман Глеб Александрович — врач-клинический ординатор кафедры общей и клинической фармакологии РУДН, Москва

Кучук Александра Олеговна — студентка 6 курса МГМСУ им. А. И. Евдокимова

Использование индукторов интерферона в клинике инфекционных болезней

А. А. ШУЛЬДЯКОВ, Е. П. ЛЯПИНА, Л. А. СОБОЛЕВА, М. Г. РОМАНЦОВ,
Т. А. ПЕРМИНОВА, В. И. КУЗНЕЦОВ, Л. С. НАРКАЙТИС

Саратовский государственный медицинский университет им. В. И. Разумовского, Саратов

The Use of Interferon Inducers in an Infectious Disease Clinic

A. A. SHULDYAKOV, E. P. LYAPINA, L. A. SOBOLEVA, M. G. ROMANTSOV,
T. A. PERMINOVA, V. I. KUZNETSOV, L. S. NARKAITIS

Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky, Saratov

В статье представлено научное обоснование использования индукторов интерферона в клинике инфекционных болезней, рассмотрены и проанализированы индукторы эндогенного интерферона различных химических групп, обладающие противовирусным действием. Описаны особенности индукции интерферона разными лекарственными средствами. Дана оценка эффективности циклоферона в комплексном лечении больных с гриппом и другими острыми респираторными вирусными болезнями, герпесвирусными, арбовирусными и кишечными инфекциями, туберкулезом, в том числе на фоне ВИЧ-инфекции, хроническим бруцеллёзом и др.

Ключевые слова: индукторы интерферона, противовирусное действие, циклоферон, иммунный ответ.

The article presents the scientific substantiation of the use of interferon inducers in an infectious disease clinic the inducers of endogenous interferon of various chemical groups with antiviral action are examined and analyzed. The authors describe specific features of interferon induction by different drugs. They evaluate the effectiveness of cycloferon in the complex treatment of patients with influenza and other acute respiratory viral diseases, herpesvirus, arbovirus and intestinal infections, tuberculosis, including in the presence of HIV infection, chronic brucellosis, etc.

Keywords: interferon inducers, antiviral action, cycloferon, immune response.

Основу лечения больных с инфекционной патологией составляет этиотропная и патогенетическая терапия. Эффективность препаратов, воздействующих на возбудителя заболевания, во многом зависит от чувствительности микроорганизмов, которая способна меняться вплоть до формирования резистентности. Особенно остро, в настоящее время, стоит вопрос об антибиотикорезистентности, о чём свидетельствует клиническая практика и многочисленные исследования. Данной проблеме был посвящён и отчёт Министерства здравоохранения и социального обеспечения США, Центра по контролю и профилактике заболеваний США [1], в котором отмечено, что ежегодно около 2 млн людей заболевает инфекциями, вызванными бактериями, резистентными к одному и более антибиотикам, из них 23 тыс умирает; ещё больше людей умирает от состояний, сопряжённых с антибиотикорезистентными инфекциями. Схожая ситуация наблюдается и

в отношении других возбудителей: вирусов гриппа [2–4], герпесвирусов [5–7], возбудителей малярии [8, 9] и других патогенов. Учитывая естественную способность всех микроорганизмов избегать воздействия факторов иммунной системы восприимчивого организма и этиотропных препаратов, приспосабливаться к изменениям окружающей среды, проблема резистентности может стать глобальной и заставить искать новые способы борьбы с инфекционными болезнями. Одним из решений является поиск средств воздействия на различные звенья иммунитета. Наиболее перспективно использовать соединения, обладающие многоуровневой неспецифической активацией клеток врождённого иммунитета, что позволяет расширить спектр возбудителей, при которых они могут быть применены уже на ранней стадии инфекционного процесса.

К подобным средствам может быть отнесён отдельный класс высоко- и низкомолекулярных природных и синтетических соединений, получивший название индукторов эндогенного интерферона (ИЭИ) [10]. Интерфероны (ИНФ) — это цитокины, обладающие антивирусной, имму-

© Коллектив авторов, 2018

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

номодулирующей и другими видами активности, которые обеспечивают естественный иммунитет, а также влияют на адаптивный иммунный ответ.

Классификация ИЭИ была разработана Ф. И. Ершовым и др. [11]. Для использования в клинической практике ИЭИ должны обладать специфической активностью и безопасностью [10]. Соответствующие данным требованиям средства находятся в группах синтетических и природных препаратов нуклеиновых кислот (амплиген, полигуацил, полудан, ларифан, ридостин) и среди полифенолов природного происхождения (рагосин, кагоцел, саврац, гозалидон). Наиболее часто активные ИЭИ (флюореноны и акридановы, производные карбоновых кислот) встречаются среди ароматических соединений [12, 13].

Доказано, что течение и исход вирусных инфекций во многом зависит от способности системы интерферона быстро реагировать на внедрение возбудителя [14]. Синтез ИНФ типа I (ИНФ α/β), играющих особую роль в противовирусном иммунитете, является следствием взаимодействия консервативных молекулярных структур экзогенного происхождения — ПАМП (патоген-ассоциированные молекулярные паттерны) с образраспознающими рецепторами (PRR), представленными на плазмалемме, эндосомах и цитоплазме клеток организма, с последующей активацией сигнальных каскадов и синтезом цитокинов [15].

Особенностью ИЭИ является полимодальность действия, что во многом связано со способностью действовать через клеточные рецепторы, имеющие различное расположение в молекулярных сигнальных каскадах. Кроме непосредственно стимуляции синтеза эндогенного ИНФ, ИЭИ могут обладать и прямым противовирусным действием. Так противовирусное действие умифеновира (арбидола) связано с его способностью при взаимодействии с геммаглютинином (НА) вируса гриппа увеличивать стабильность НА к конформационным изменениям, индуцированным низким рН, и, как следствие, ингибировать слияние липидной оболочки вируса с мембранами эндосом, приводящее к высвобождению вирусного нуклеокапсида и началу транскрипции вирусного генома [16, 17]. Как показали сотрудники Исследовательского института Скриппса, мишенью для связывания умифеновира является гидрофобная полость в стволе мономеров геммаглютина [18]. Специфическое действие на вирусы полифенолов (кагоцел, саврац) проявляется в связывании аминокислотных групп пуриновых и пиримидиновых соединений нуклеиновых кислот вирусом, что приводит к подавлению их репликации.

Механизм противовирусной активности циклоферона многогранен. Показано, что на ранних этапах репликации вируса он способствует снижению блокирования синтеза собственных белков клетки, индуцированного вирусом [19]. На

поздней стадии — препятствует выходу вирусного потомства за счёт нарушения «одевания» вирусных капсидов в липопротеидную оболочку. Кроме того, под действием циклоферона увеличивается образование дефектных вирионов (дефект-интерферирующих частиц), не способных вызвать продуктивную инфекцию, но стимулирующих реакции неспецифического иммунитета за счёт сохранения цитокин- и ИНФ-индуцирующих свойств (что обуславливает эффект последствия циклоферона) [19–21].

Циклоферон способен также воздействовать на различные звенья иммунитета. В частности, как и иммуномодулятор полиоксидоний, циклоферон воздействует на клетки макрофагально-фагоцитарной системы, проникая в них посредством эндоцитоза [10, 11, 22]. При этом, помимо непосредственной активации макрофагов, происходит опосредованная через систему ИНФ их стимуляция, в результате чего макрофаги секретируют в окружающую среду медиаторы воспаления — ИФН γ , ФНО и IL-8, которые в соответствии со своими функциями активируют цитотоксический эффект макрофагов и нейтрофилов, окислительный метаболизм макрофагов, что объясняет антибактериальные потенции циклоферона [23, 24].

Последние годы активно изучается роль митохондриального стресса в механизме интерферониндуцирующего действия циклоферона. Показано, что в результате подавления работы дыхательной цепи митохондрий клетки циклофероном и связывания АТФ с митохондриальной АДФ/АТФ-транслоказой [25] происходит уменьшение продукции АТФ и окислительное повреждение мембран и ДНК митохондрий, нарушение их целостности и синтез активных форм кислорода [26]. В результате данных процессов митохондриальная ДНК может обнаруживаться в цитоплазме и связываться с сенсорным рецептором STING [27], активация которого приводит к запуску сигнального каскада и продукции ИФН типа I.

Способность клеток синтезировать ИНФ, в том числе при воздействии ИЭИ, связана с особенностями рецепторного и генетического аппарата [13, 22]. Сродство препарата к рецепторам той или иной популяции иммуноцитов определяет интерферониндуцирующую активность ИНФ. При этом, возможна поликлональная стимуляция иммуноцитов или, что предпочтительней, включение синтеза ИНФ только в определённых популяциях клеток.

Основными продуцентами ИНФ при стимуляции ИЭИ являются лимфоциты, о чём свидетельствует наличие 2 и более пиков ИНФ (гранулоциты периферической крови имеют один пик продукции ИНФ). При этом разные субпопуляции лимфоцитов начинают синтезировать ИНФ в разные сроки от воздействия ИЭИ. Т-лимфо-

циты синтезируют «поздний», а В-лимфоциты — «ранний» ИНФ. В зависимости от того, какая популяция лимфоцитов участвует в синтезе ИНФ в ответ на стимуляцию конкретным ИЭИ, скорость накопления ИНФ в организме будет различаться. Так, высокомолекулярные индукторы растительного происхождения (гозалидон, саврац) и низкомолекулярный ИЭИ тилорон стимулируют Т-лимфоциты вызывают накопление в культурах лимфоцитов «позднего» ИНФ, в то время как циклоферон реализует свои интерферониндуцирующие способности в основном, стимулируя продукцию интерферона в культурах В-лимфоцитов и, в меньшей степени, в Т-лимфоцитах. Двуспиральные ИЭИ (полудан, ларифан, амплиген, ридостин), вызывают синтез ИНФ разными клетками моноклеарно-фагоцитарной системы (Т- и В-лимфоциты, нейтрофилы, макрофаги, гранулоциты) и являются поликлональными стимуляторами. Т-клетки, продуцирующие ИНФ только в присутствии макрофагов, осуществляют наиболее активный синтез интерферона [10, 12, 25].

Различаются ИЭИ и по способности инициировать синтез интерферона в той или иной ткани, определяя распределение ИНФ в организме. Так, после введения ларифана уже через 4–8 ч максимальное количество ИНФ определяется в мышцах, селезёнке и мозге животных, в то время как в лёгких, печени и сыворотке крови максимум накопления отмечается только к 48 часам. При этом, уровень ИНФ в лёгких, печени, селезёнке и мозге в 4–8 раз выше, чем в сыворотке крови [12, 13, 25].

Наиболее активную продукцию ИНФ вызывает циклоферон, который в организме животных индуцирует образование до 1000000 ЕД/мл и в культурах клеток лимфоцитов человека до 1280–2560 ЕД/мл ИНФ. Активными индукторами ИНФ являются растительный полифенол (рагосин) и ларифан, вызывающие продукцию интерферона в концентрации 1280 ЕД/мл и 8000 ЕД/мл соответственно [28].

Диапазон доз, ИЭИ, стимулирующих образование интерферона также будет различаться. Показано, что максимальная интерферониндуцирующая активность циклоферона реализуется уже в дозе 4–14 мг/кг [22], полинуклеотиды (амплиген, полигуацил) достигают её при концентрации препаратов 25–50 мкг/мл, производные госсипола (кагоцел, саврац) для максимальной индукции синтеза ИНФ должны иметь дозу 125–150 мкг/мл.

Таким образом, выбор ИЭИ для лечения инфекционных больных основывается на знании его особенностей — способность стимулировать выработку ИНФ различными иммунными и скорость образования ИНФ, дозу ИЭИ, необходимую для синтеза достаточного количества ИНФ, спектр его биологических эффектов и т.д.

Способность индуцировать интерфероны I типа, оказывающие антивирусное действие, обладающие антибактериальными, противовоспалительными и иммуномодулирующими потенциальными, быстрое достижение необходимых концентраций ИНФ при небольших дозах индуктора обуславливает востребованность циклоферона в клинике инфекционных болезней. Его эффективность в лечении больных с вирусными и бактериальными инфекциями доказана в многочисленных исследованиях.

Основанием для использования циклоферона при лечении острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ) является развитие на их фоне состояния интерферонового дефицита [29–31] и широкий спектр биологической активности данного препарата (иммуномодулирующей, противовоспалительной, противовирусной). Циклоферон способствует быстрой индукции (через 2 ч после приёма) интерферона, который уже через 4–6 ч обнаруживается в тканях лёгких. Кроме того, препарат обладает сродством к рецепторам альвеолярных макрофагов, что сопровождается интенсивной продукцией интерферона в лёгких, с последующей активацией естественного, а также коррекцией адаптивного иммунитета и обуславливает его эффективность против респираторных заболеваний и гриппа [28, 32, 33].

В доклинических исследованиях показано, что циклоферон обладает противовирусной активностью в отношении многих возбудителей ОРВИ: ортомиксовирусов (вирусов гриппа А и В, в том числе штаммов, устойчивых к препаратам адамантанового ряда и ингибиторам нейраминидазы, а также вирусов птичьего гриппа), аденовирусов, парамиксовирусов, коронавирусов и др. [34–36]. Уже на ранних сроках инфицирования (1–5-е сутки) наблюдается подавление репродукции вирусов гриппа и других респираторных вирусов под действием препарата.

Фармакотерапевтическая эффективность и безопасность циклоферона при лечении взрослых и детей с гриппом и ОРВИ, в том числе особых групп пациентов — часто болеющих, с соматическими заболеваниями, хроническими и рецидивирующими вирусными и бактериальными инфекциями, больных с вторичными иммунодефицитными состояниями, доказана в клинических многоцентровых рандомизированных плацебо-контролируемых исследованиях [34, 37–41].

Использование циклоферона у больных разного возраста, в том числе с отягощённым преморбидным фоном, позволяет значительно уменьшить выраженность интоксикационного синдрома, катаральных явлений, а также продолжительность заболевания в среднем на 30–50% [34, 36–40]. Улучшение состояния пациентов сопровождается положительной динамикой в отношении им-

мунологических показателей: усилением фагоцитарной активности нейтрофилов, моноцитов и макрофагальных клеток, увеличением продукции ИНФ- α и снижением уровня ФНО [34, 36, 37].

Назначение препарата для лечения ОРВИ и гриппа снижает риск развития осложнений. Так, осложнения в виде пневмонии были отмечены только в 2,2% случаев у больных получавших циклоферон, в то время как у пациентов, получавших симптоматическую терапию, осложнения в виде пневмонии, бронхита, ангины, гайморита были зарегистрированы в 21,4% наблюдений. У пациентов с хроническими соматическими заболеваниями (ишемическая болезнь сердца, бронхиальная астма, лейкоз) риск развития постгриппозных осложнений (синусит, бронхит, пневмония) на фоне приёма циклоферона снижался в 3,5—9,7 раза [36, 37].

Трудной проблемой является лечение часто болеющих детей. Назначение циклоферона данной категории пациентов приводило к снижению частоты ОРВИ в 2,5 раза и сокращению в среднем на 2,3 дня длительности заболевания, при этом значимо уменьшались проявления интоксикации, лимфаденопатии и астении [34, 41]. У часто болеющих школьников применение препарата сокращало частоту возникновения бронхитов в 1,4 раза, а у детей дошкольного возраста полностью предотвращало развитие осложнений [41]. Циклоферон не подавляет нормальную микрофлору носа и ротовой полости, а в ряде случаев способствует её восстановлению, о чём свидетельствуют результаты бактериологического исследования материала со слизистой оболочки зева и носа детей, проводимого в течении года после использования препарата [41, 42]. Иммуномодулирующая активность циклоферона проявлялась в нормализации показателей относительного и абсолютного содержания CD3+, CD4+, CD8+, интерлейкина 1 β в сыворотке крови, увеличении содержания CD22+, повышении концентрации иммуноглобулинов классов М и G и уменьшении содержания иммуноглобулинов класса А [34, 41, 42].

Анализ проведённых исследований и клинических наблюдений показал, что независимо от штамма вируса гриппа эффективность применения циклоферона у пациентов разных возрастных групп составляет от 60 до 85% [34, 36, 38, 39]. Случаев развития привыкания и резистентности к препарату не отмечено. Циклоферон хорошо сочетается с симптоматическими средствами и потенцирует их действие [39].

Циклоферон может с успехом использоваться для экстренной профилактики ОРВИ и гриппа у детей и взрослых, что подтверждено результатами многоцентровых рандомизированных контролируемых постмаркетинговых, в том числе клини-

ко-эпидемиологических, исследований с участием 22 510 человек [37—39, 43—45].

Как ИЭИ, обладающий иммуномодулирующими и противовоспалительными потенциями циклоферон нашёл широкое применение при лечении заболеваний, в которых повреждении клеток организма имеет преимущественно иммуноопосредованный характер. Так, в литературе представлен положительный опыт использования циклоферона для лечения больных с хроническими поражениями печени, вызванными вирусами гепатитов В и С [46—49], особенно востребованный до появления на рынке эффективных и безопасных препаратов прямого противовирусного действия.

Рост заболеваемости и распространённости инфекций, вызванных вирусами герпетической группы позволил ВОЗ в 1999 г. объявить о пандемии герпесвирусных инфекций в мире [50]. На территории России и СНГ разные формы этих заболеваний ежегодно отмечаются приблизительно у 20 млн человек. Медицинское и социальное значение проблемы связано с широкой распространённостью герпесвирусов в человеческой популяции, способностью поражать разные органы и системы организма человека, обуславливая латентную, острую и хроническую формы инфекции, низкой эффективностью проводимой терапии. С целью её оптимизации многие исследователи предлагают включать в схемы лечения больных препараты, обладающие иммуностропным действием.

Изучение влияния циклоферона на репродукцию вируса простого герпеса I типа (ВПГ-I) в культуре клеток Vero показало, что данный препарат задерживает репликативный цикл вируса герпеса на стадии формирования ДНК-содержащих капсидов в ядрах клеток [51], что и явилось основанием всестороннего изучения его клинической эффективности. Проведённые исследования у больных детей и взрослых с различной формой герпетической болезни (Эпштейна-Барр- и цитомегаловирусные инфекции, рецидивирующий генитальный герпес и герпетические поражения кожи и слизистых, инфекция, вызванная ВПГ-I и/или ВПГ-2 в сочетании с ВИЧ-инфекцией, генитальной папилломавирусной инфекцией и т.д.) продемонстрировали преимущества схем с включением циклоферона в плане купирования проявлений острого процесса, скорости наступления ремиссии и частоты рецидивов, продолжительности межрецидивного периода. Показана хорошая переносимость различных форм циклоферона и его сочетаемость с противогерпетическими препаратами прямого действия [51—56].

Относительно «новой» угрозой для России является рост случаев арбовирусных инфекций, характеризующихся лихорадкой, поражением

центральной нервной системы и другой органной патологией. Отсутствие зачастую специфической терапии актуализирует использование иммунотропных препаратов и, в первую очередь, ИЭИ, обладающих не только антивирусным действием, но и стимулирующих иммунореактивность организма, повышая фагоцитоз нейтрофилов и макрофагов, а также выработку антител. Сравнительные экспериментальные исследования ИЭИ циклоферона, амиксина, ридостина при венесуэльском энцефалите, лихорадке долины Рифт и оспе хищных продемонстрировали наличие наибольшей эффективности циклоферона, его более выраженные, по сравнению с амиксином и ридостином, протективные свойства, что позволяет считать данный препарат в качестве приоритетного средства профилактики и терапии особо опасных вирусных инфекций, причём вне зависимости от состояния иммунной системы [57].

Немаловажное значение при лечении арбовирусных инфекций имеет и способность циклоферона проникать через гематоэнцефалический барьер и стимулировать клетки нейроглии, являющиеся продуцентами ИНФ. Эффективной при лечении больных с крымской геморрагической и астраханской риккетсиозной лихорадками оказалась комбинация циклоферона с рибавирином. Её своевременное (первые 1—4 дня) использование приводит к уменьшению числа случаев тяжёлых форм заболевания, минимизации синдрома интоксикации, раннему разрешению геморрагического синдрома, сокращению частоты осложнений и сокращению сроков пребывания больных в стационаре (на 2,2—3,1 дня), за счёт повышения метаболической активности фагоцитов [57—59].

Наиболее часто из всех арбовирусов на территориях юга европейской части России, Западной Сибири, Беларуси, Украины, Казахстана выделяется вирус Западного Нила. Актуальность поиска средств терапии обусловлена быстрым расширением ареала возбудителя и отсутствием препаратов прямого противовирусного действия.

С 1999 г. накоплен определённый положительный опыт применения циклоферона для лечения Лихорадки Западного Нила (ЛЗН) [60]. Исследования, проведённые на территории Волгоградской области, где выявлено наибольшее в России количество случаев заболевания, показали наличие клинической эффективности и безопасности схемы терапии ЛЗН с использованием циклоферона. Так, его назначение сопровождалось сокращением средней длительности лихорадочного, астеновегетативного, диспепсического и менингеального синдромов на 1—1,9 дня, уменьшением развития осложнений (на 6%) и продолжительности стационарного лечения на 1,8 дня [61].

Последние годы активно изучается возможность оптимизации лечения клещевого энцефа-

лита (КЭ) путём включения в схемы терапии циклоферона. Экспериментально доказано, что препарат достоверно подавляет размножение высоковирулентного штамма вируса КЭ в чувствительной культуре клеток почки эмбриона свиньи на 75%. На модели острого летального КЭ у мышей оценивали терапевтическую эффективность этиотропных препаратов. Применение циклоферона и иммуноглобулина против КЭ предотвращало смертность 35—45% инфицированных животных. Более эффективной, чем применение отдельных препаратов, оказалась комбинация иммуноактивного пептида тинростима с официальными препаратами (рибавирином, циклофероном), что свидетельствует о перспективности использования такой терапии при КЭ [62]. Так, положительная динамика клинико-иммунологических показателей отмечена у детей, больных среднетяжёлыми микстформами иксодового клещевого боррелиоза с клещевым энцефалитом, при включении в стандартную терапию ИЭИ циклоферона [63].

Перспективным представляется использование циклоферона и при бактериальных инфекциях. Основанием для этого является его доказанное влияние на клетки макрофагально-фагоцитарной системы [23, 24], способность подавлять факторы персистенции (антилизосомная и антикомплементарная активность) грамотрицательных бактерий (шигелл, сальмонелл, бруцелл, франциселл) [64] и таким образом затруднять паразитирование их внутри клеток, способствуя элиминации при острых и хронических инфекционных процессах. Востребованными при лечении бактериальных инфекций оказываются и имеющиеся у циклоферона иммуномодулирующие и противовоспалительные потенции. Подтверждением этого является положительный опыт использования циклоферона при лечении кишечных инфекций не только вирусной, но и бактериальной природы (иерсиниозов, шигеллезов, сальмонеллёзов), заключающийся в сокращении продолжительности основных симптомов заболевания, уменьшении формирования бактерионосительства и восстановлении нормальной микрофлоры кишечника после перенесённого заболевания [65—67].

До настоящего времени остаётся проблемой эффективное лечение туберкулёза, эпидемическая ситуация по которому в России неблагоприятна [68]. Включение в стандартные схемы терапии ИЭИ циклоферона, разрешённое с 2006 г., за счёт повышения уровня цитокинов Th1-ответа и снижения уровня цитокинов Th2-ответа сделало возможным ускорить ликвидацию клинических симптомов заболевания, снизить массивность или прекратить бактериовыделение, уменьшить экссудативные проявления, добиться инволюции оча-

говоинфильтративных проявлений и закрытия полостей распада [69, 70]. Кроме того, применение циклоферона оказывало положительное влияние на формирование приверженности больного лечению и этим также способствовало повышению эффективности основного курса терапии [71].

У больных с коморбидной патологией туберкулёз + ВИЧ/СПИД, число которых в настоящее время растёт, при наличии иммунного резерва (уровень CD4+ выше 350 кл/мкл) назначение индуктора интерферона (циклоферон) в составе комплексной терапии способствовало уменьшению респираторных проявлений и относительно быстрой ликвидации симптомов туберкулёзной интоксикации [72, 73]. Существует опыт включения в схему специфической и неспецифической профилактики ВИЧ-инфицированных детей таблетированной формы циклоферона. Катамнез через 6 мес после получения ВААРТ с подключением препарата, направленного на стимуляцию естественной резистентности организма, показал увеличение CD4 Т-лимфоцитов на 43% в группе детей со второй иммунной категорией, увеличение CD4 Т-лимфоцитов на 23% в группе детей с тяжёлой (третьей) иммунной категорией, снижение копий РНК ВИЧ в 1 мл плазмы более чем в 1 млн раз, уменьшение размеров печени и селезёнки у 83,3% детей, нормализацию биохимических показателей в 36,4% случаев и снижение частоты респираторных заболеваний в 2,8 раза ($p < 0,05$). Одновременно выявлено снижение количества В-лимфоцитов у ВИЧ-инфицированных детей, закономерно повышенных за счёт основного заболевания [74].

ЛИТЕРАТУРА

1. Antibiotic resistance threats in the United States, 2013: US Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention.
2. Duan S., Govorkova E.A., Bahl J., Zaraket H., Baranovich T., Seiler P. et al. Epistatic interactions between neuraminidase mutations facilitated the emergence of the oseltamivir-resistant H1N1 influenza viruses. *Nat Commun* 2014; 5: 5029. doi: 10.1038/ncomms6029.
3. Kim J.H., Resende R., Wennekes T., Chen H.M., Bance N., Buchini S. et al. Mechanism-based covalent neuraminidase inhibitors with broad-spectrum influenza antiviral activity. *Science* 2013; 340(6128): 71–5. doi: 10.1126/science.1232552. Epub 2013 Feb 21.
4. Watanabe T., Kawakami E., Shoemaker J.E., Lopes T.J.S., Matsuoka Yu., Tomita Yu. et al. Influenza Virus–Host Interactome Screen as a Platform for Antiviral Drug Development. *Cell Host Microbe* 2014; 16 (6): 795–805.
5. Burrell S., Rouard C., Boutolleau D. Helicase-primase inhibitor pritelivir for HSV-2 infection. *N Engl J Med* 2014; 370(17): 1663–4. doi: 10.1056/NEJMc1402071.
6. Брызжикова Т.С., Исаков В.Д., Юрлова Т.И., Голованова А.К. Варьирующая чувствительность клинических изолятов вируса простого герпеса разных лет выделения к ацикловиру. // Вестник РАМН. — 1995. — №9. С. 12–5. / Brjazzhikova T.S., Isakov V.D., Jurlova T.I., Golovanova A.K. Var'irujushhaja chuvstvitel'nost' klinicheskikh izolatov virusa prostogo herpesa raznykh let vydelenija k acikloviru. *Vestnik RAMN*. 1995; 9: 12–5. [in Russian]
7. Ершов Ф.И., Киселев О.И. Интерфероны и их индукторы (от молекул до лекарств). М.: 2005. / Ershov F.I., Kiselev O.I. Interferony i ikh induktory (ot molekul do lekarstv). M.: 2005. [in Russian]
8. Mbengue A., Bhattacharjee S., Pandharkar T., Liu H., Estiu G., Stahelin R.V. et al. A molecular mechanism of artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum* malaria. *Nature* 2015; 520 (7549): 683–7. doi: 10.1038/nature14412. Epub 2015 Apr 15.

С целью повышения эффективности антибактериальной терапии циклоферон использовался при лечении больных с сепсисом [75] и коксиеллёзом [76].

Включение циклоферона в комплексную терапию больных с активным хроническим бруцеллезом сопровождалось более быстрым купированием интоксикации и воспалительного процесса. Частота и выраженность основных проявлений поражения опорно-двигательного аппарата, периферической нервной системы, органов мошонки уменьшались, что приводило к улучшению показателей качества жизни, быстрее наступала ремиссия, сокращалось количество обострений бруцеллезной инфекции (в 1,9 раза) и интеркуррентных заболеваний (в 2,2 раза) [77, 78].

Заключение

Развитие инфекционного заболевания сопровождается активацией иммунной системы восприимчивого организма, первой линией защиты которого является система интерферона. Она не только препятствует проникновению патогенного агента внутрь клетки, но и запускает другие механизмы, приводящие к элиминации возбудителя — цитотоксический ответ и адаптивный иммунитет. Применение индуктора эндогенного интерферона — циклоферона в профилактических и терапевтических схемах при острой и хронической инфекционной патологии имеет научное обоснование, а его эффективность повышается при раннем использовании, сочетании, при необходимости, с этиотропными препаратами и иммуномодуляторами.

9. Baragaña B., Hallyburton I., Lee M.C., Norcross N.R., Grimaldi R., Otto T.D. et al. A novel multiple-stage antimalarial agent that inhibits protein synthesis. *Nature* 2015; 522 (7556): 315–20. doi: 10.1038/nature14451.
10. Григорян С.С. Индукторы интерферона: итоги и перспективы. Интерферону — 50 лет. Юбилейный сборник, посвященный открытию интерферонов / Под ред Ф.И. Ершова. М.: — 2007. — С.66–71. / Grigorjan S.S. Induktory interferona: itogi i perspektivy. Interferonu — 50 let. Jubilejnyj sbornik, posvjashhennyj otkrytiju interferonov. Pod red F.I. Ershova. M.: 2007; 66–71. [in Russian]
11. Романцов М.Г., Ершов Ф.И. Иммунный ответ при вирусных инфекциях // Часто болеющие дети: современная фармакотерапия. М. — 2009. — С.134–142. / Romancov M.G., Ershov F.I. Immunnyj otvet pri virusnykh infekcijakh. Chasto bolejušie deti: sovremennaja farmakoterapija. M.: 2009; 134–142. [in Russian]
12. Тазулахова Э.Б. Индукция и продукция интерферонов // Система интерферона в норме и патологии / Ф.И. Ершов. М.:1996. — С.71–87. / Tazulakhova Je.B. Indukcija i produkcija interferonov. Sistema interferona v norme i patologii / F.I. Ershov. M.: 1996; 71–87. [in Russian]
13. Соколова Т.М. Иммунное узнавание вирусных нуклеиновых кислот приводят к индукции интерферонов и воспалительных цитокинов. Интерферон-2011. М. — Сборник научных статей. — 2012. — С.52–62. / Sokolova T.M. Immunnoe uznvanie virusnykh nukleinovyx kislot privodjat k indukcii interferonov i vospalitel'nykh citokinov. Interferon-2011. M.: Sbornik nauchnykh statej. 2012; 52–62. [in Russian]
14. Ершов Ф.И., Наровлянский А.Н. Основные итоги изучения системы интерферона к 2011 году. Интерферон-2011. Сборник научных статей. М. — 2012. — С.14–34. / Ershov F.I., Narovljanskij A.N. Osnovnye itogi izuchenija sistemy interferona k 2011 godu. Interferon-2011. Sbornik nauchnykh statej. M.: 2012; 14–34. [in Russian]
15. Kawai T., Akira S. Toll-like receptors and their crosstalk with other innate receptors in infection and immunity. *Immunity* 2011; 34 (5): 637–50. doi: 10.1016/j.immuni.2011.05.006.

16. Nasser Z.H., Swaminathan K., Müller P., Downard K.M. Inhibition of influenza hemagglutinin with the antiviral inhibitor arbidol using a proteomics based approach and mass spectrometry. *Antiviral Res* 2013; 100 (2): 399–406.
17. Brancato V., Peduto A., Wharton S. et al. Design of inhibitors of influenza virus membrane fusion: synthesis, structure-activity relationship and *in vitro* antiviral activity of a novel indole series. *Antiviral Res* 2013; 99 (2): 125–135.
18. Rameshwar U. Kadam and Ian A. Wilson Structural basis of influenza virus fusion inhibition by the antiviral drug Arbidol. *PNAS* 2017 114 (2) 206–214.
19. Зарубаев В.В., Сухинин В.П., Слита А.В. и др. Влияние циклоферона на морфогенез и репродукцию вируса простого герпеса 1 типа в культуре клеток Vero. Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. — 2003. — 4 (4). — 152–6. / Zarubaev V.V., Sukhinin V.P., Slita A.V. i dr. Vlijanie cikloferona na morfogenez i reprodukciju virusa prostogo herpesa 1 tipa v kul'ture kletok Vero. Vestnik Sankt-Peterburgskoj gosudarstvennoj medicinskoj akademii im. I.I. Mechnikova. 2003; 4 (4): 152–6. [in Russian]
20. Еришов Ф.И., Киселев О.И. Интерфероны и их индукторы (от молекул до лекарств). М. — 2005. / Ershov F.I., Kiselev O.I. Interferony i ikh induktory (ot molekul do lekarstv). M.: 2005. [in Russian]
21. Zarubaev V.V., Slita A.V., Krivitskaya V.Z., Sirotkin A.K., Kovalenko A.L., Chatterjee N.K. Direct antiviral effect of cycloferon (10-carboxymethyl-9-acridanone) against adenovirus type 6 *in vitro*. *Antiviral Res* 2003; 58 (2): 131–7.
22. Баженова Е.Д. ЦФ: механизм действия, функции и применение в клинике // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2012. — №7. — С.40–44. / Bazhenova E.D. CF: mekhanizm dejstviya, funktsii i primenenie v klinike // Jeksperimental'naja i klinicheskaja farmakologija. 2012; 7: 40–44. [in Russian]
23. Еришов Ф.И. Индукторы интерферонов // Вопросы общей вирусологии. СПб.: Псковская областная типография. — 2007. — С. 290–300. / Ershov F.I. Induktory interferonov. Voprosy obshhej virusologii. SPb.: Pskovskaja oblastnaja tipografija. 2007; 290–300. [in Russian]
24. Еришов Ф.И., Романцов М.Г. Индукторы интерферона: особенности индукции, регуляция продукции и фармакологическая активность // Основные проблемы в современной медицине. Материалы международной научно-практической конференции. Волгоград. ИЦ-РОН. — 2015. — С.236–238. / Ershov F.I., Romancov M.G. Induktory interferona: osobennosti induktsii, reguljacija produkcii i farmakologicheskaja aktivnost'. Osnovnye problemy v sovremennoj medicine. Materialy mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoj konferencii. Volgograd. ICRON. 2015; 236–238. [in Russian]
25. Коваленко А.Л. Фармакологическая активность оригинальных лекарственных препаратов на основе 1-дезоксид-1-(N- метиламино)-D-глюцитолата: Автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. СПб.: 2005. / Kovalenko A.L. Farmakologicheskaja aktivnost' original'nykh lekarstvennykh preparatov na osnove 1-dezoksi-1(N- metilamino)-D-glucitola: Avtoref. diss. ... d-ra med. nauk. SPb.: 2005. [in Russian]
26. Liu Y., Chen X.J. Adenine nucleotide translocase, mitochondrial stress, and degenerative cell death. *Oxid Med Cell Longev* 2013; 2013: 146860. doi: 10.1155/2013/146860.
27. West A.P., Khoury-Hanold W., Staron M., Tal M.C., Pineda C.M., Lang S.M. et al. Mitochondrial DNA stress primes the antiviral innate immune response. *Nature*. 2015; 520 (7548): 553–7. doi: 10.1038/nature14156.
28. Еришов Ф.И., Тазулахова Э.Б. От чего зависят эффекты индукторов интерферона? // Интерферон 2011: сборник научных статей. М.: 2012. — С.80–106. / Ershov F.I., Tazulakhova E.B. Ot chego zavisjat jeffekty induktorov interferona? Interferon 2011: sbornik nauchnykh statej. M.: 2012; 80–106. [in Russian]
29. Грипп и гриппоподобные инфекции, включая особо опасные формы гриппозной инфекции. Фундаментальные и прикладные аспекты изучения. / Под ред. В.И.Покровский, Д.К.Львов, О.И.Киселев, Ф.И.Еришов. Бюллетень проблемной комиссии. СПб.: Роза мира; 2008. / Gripp i grippopodobnye infekcii, vkluchaja osobo opasnye formy grippoznoj infekcii. Fundamental'nye i prikladnye aspekty izuchenija. Pod red. V.I.Pokrovskij, D.K.L'vov, O.I.Kiselev, F.I.Ershov. Bjulleten' problemnoj komissii. SPb.: Roza mira; 2008. [in Russian]
30. Грипп (сезонный, птичий, пандемический) и другие ОРВИ / Под ред. В.П.Малый, М.А.Андрейчин М.: ГЭОТАР-Медиа; 2013. / Gripp (sezonnij, ptichij, pandemicheskij) i drugie ORVI. Pod red. V.P.Malyj, M.A.Andrejchin M.: GEOTAR-Media; 2013. [in Russian]
31. Львов Д.К., ред. Руководство по вирусологии. Вирусы и вирусные инфекции человека и животных. М.: МИА; 2013. / L'vov D.K., red. Rukovodstvo po virusologii. Virusy i virusnye infekcii cheloveka i zhivotnykh. M.: MIA; 2013. [in Russian]
32. Индукторы интерферона как противовирусные препараты этиотропного действия / Под ред. Ф.И. Еришов, О.И. Киселев. Интерферо-ны и их индукторы (от молекул до лекарств). М.: 2005. — С.211–220. / Induktory interferona kak antivirusnye preparaty jetiotropnogo dejstviya. Pod red. F.I. Ershov, O.I. Kiselev. Interferony i ikh induktory (ot molekul do lekarstv). M.: 2005; 211–220. [in Russian]
33. Степанова Л.А. Иммунный ответ на гриппозную инфекцию. Грипп: эпидемиология, диагностика, лечение, профилактика / Под редакцией О.И. Киселева, Л.М. Цыбаловой, В.И.Покровского. Москва-2012. — С.82–108. / Stepanova L.A. Immunnyj otvet na grippoznuju infekciju. Gripp: jepidemiologija, diagnostika, lechenie, profilaktika. Pod redakciej O.I. Kiseleva, L.M. Cybalovoj, V.I.Pokrovskogo. Moskva-2012; 82–108. [in Russian]
34. Романцов М. Г., Мельникова И.Ю., Смагина А.Н., Шульдяков А.А. Эффективность циклоферона и оценка его безопасности при респираторных вирусных инфекциях у детей. // Фундаментальные исследования. — 2012. — № 2. — С.208–14. / Romancov M. G., Mel'nikova I.Ju., Smagina A.N., Shul'djakov A.A. Jefferktivnost' cikloferona i ocenka ego bezopasnosti pri respiratornykh virusnykh infekcijakh u detej. Fundamental'nye issledovanija. 2012; 2: S.208–14. [in Russian]
35. Сухинин В.П., Зарубаев В.В. Защитное действие Циклоферона при экспериментальной гриппозной инфекции. Вопросы вирусологии. 2000. — №5. — С.26–30. / Sukhinin V.P., Zarubaev V.V. Zashhitnoe dejstvie Cikloferona pri jeksperimental'noj grippoznoj infekcii. Voprosy virusologii. 2000; 5: 26–30. [in Russian]
36. Романцов М.Г., Сологуб Т.В., Петров А.Ю., Коваленко А.Л. // Циклоферон в лечении и экстренной профилактике респираторных вирусных инфекций и гриппа. Реценз. — 2011. — Т. — 6. — №80. — С.59–65. / Romancov M.G., Sologub T.V., Petrov A.Ju., Kovalenko A.L. Cikloferon v lechenii i jekstrennoj profilaktike respiratornykh virusnykh infekcij i grippa. Recenz. 2011; 6(80): 59–65. [in Russian]
37. Исаков В.А., Романцов М.Г., Каболова И.В., Ерофеева М.К., Водейко Л.П., Смагина А.Н. Эффективность Циклоферона® в терапии и профилактике гриппа и ОРЗ. Русский медицинский журнал. 2011; 23: 1–8. / Isakov V.A., Romancov M.G., Kabolova I.V., Erofeeva M.K., Vodejko L.P., Smagina A.N. Jefferktivnost' Cikloferona® v terapii i profilaktike grippa i ORZ. Russkij medicinskij zhurnal. 2011; 23: 1–8. [in Russian]
38. Романцов М.Г., Сологуб Т.В. Тактика терапии и подходы к экстренной профилактике при гриппе и ОРВИ. // Лечащий врач. — 2007. — №8. — С.55–8. / Romancov M.G., Sologub T.V. Taktika terapii i podkhody k jekstrennoj profilaktike pri grippe i ORVI. Lechashhij vrach 2007; 8: 55–8. [in Russian]
39. Еришов Ф.И., Коваленко А.Л., Романцов М.Г., Голубев С.Ю. Циклоферон. Клиническая фармакология и терапия. Руководство для врачей. СПб.: 1998. / Ershov F.I., Kovalenko A.L., Romancov M.G., Golubev S.Ju. Cikloferon. Klinicheskaja farmakologija i terapija. Rukovodstvo dlja vrachej. SPb.: 1998. [in Russian]
40. Баженова Е.Д. Циклоферон: механизм действия, функции и применение. Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2012. — Т.75. — №7. — 40–4. / Bazhanova E.D. Cikloferon: mekhanizm dejstviya, funktsii i primenenie. Jeksperimental'naja i klinicheskaja farmakologija 2012; 75: 7: 40–4. [in Russian]
41. Противовирусная терапия инфекционных болезней детского возраста. / Под ред. Романцов М.Г., Сологуб Т.В. Сборник научных статей. М.: 2006. / Protivovirusnaja terapija infekcionnykh boleznej detskogo vozrasta. / Pod red. Romancov M.G., Sologub T.V. Sbornik nauchnykh statej. M.: 2006. [in Russian]
42. Романцов М.Г., Горячева Л.Г., Бехтерева М.К. и др. Эффективность циклоферона при вирусных и бактериальных заболеваниях у детей (клинический обзор). // Антибиотики и химиотер. — 2010. — Т.55. — №11–12. — С.39–51. / Romancov M.G., Gorjacheva L.G., Bekhtereva M.K. i dr. Jefferktivnost' cikloferona pri virusnykh i bakterial'nykh zabolovanijakh u detej (klinicheskij obzor). Antibiotiki i khimioter 2010; 55: 11–12: 39–51. [in Russian]
43. Позднякова М.Г., Шелехова С.Е., Ерофеева М.К. Эпидемиология ОРВИ и возможность их профилактики. // Русский медицинский журнал. — 2011. — Т. — 19. — №23. — С.1434–5. / Pozdnjakova M.G., Shelekhova S.E., Erofeeva M.K. Jepidemiologija ORVI i vozmozhnost' ikh profilaktiki. Russkij medicinskij zhurnal — 2011; 19: 23: 1434–5. [in Russian]
44. Гаращенко М.В. Новые технологии в медикаментозной профилактике острых респираторных заболеваний у детей школьного возраста в условиях мегаполиса: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М.: 2007. / Garashchenko M.V. Novye tekhnologii v medikamentoznoj profilaktike ostryx respiratornykh zabolovanij u detej shkol'nogo vozrasta v uslovijakh megapolisa: Avtoref. diss. ... kand. med. nauk. M.: 2007. [in Russian]
45. Селькова Е.П., Еришов Ф.И., Романцов М.Г. Эпидемиологическая эффективность циклоферона в период повышенной респираторной заболеваемости. // Врач. — 2003. — №11. — С.56–57. / Sel'kova E.P., Ershov F.I., Romancov M.G. Jepidemiologicheskaja jefferktivnost' cikloferona v period povyshennoj respiratornoj zabolovaeмости. Vrach 2003; 11: 56–57. [in Russian]
46. Вирусные гепатиты. Антивирусные средства в педиатрии / Под ред. Ф.И.Еришов, М.Г.Романцов. М.: 2005. — С.179–194. / Virusnye gepatity. Antivirusnye sredstva v pediatrii / Pod red. F.I.Ershov, M.G.Romancov. M.: 2005. — С.179–194. / Virusnye

- gepatity. Antivirusnye sredstva v pediatrii / Pod red. F.I.Ershov, M.G.Romancov. M.: 2005; 179—194. [in Russian]
47. Сологуб Т.В., Шульдjakов А.А., Горячева Л.Г. Эффективность использования циклоферона в терапии хронического гепатита В // Антибиотики и химиотер. — 2011. — №9. — С.37—41. / *Sologub T.V., Shul'djakov A.A., Gorjacheva L.G. Jeffektivnost' ispol'zovanija cikloferona v terapii khronicheskogo gepatita V. Antibiotiki i khimioter* 2011; 9: 37—41. [in Russian]
 48. Романцов М.Г., Сологуб Т.В., Горячева Л.Г. Патогенетически обоснованная, с оценкой качества жизни, расчетом риска исхода заболевания, терапия больных вирусным гепатитом С // Антибиотики и химиотер. 2010. — №3—4. — С.45—54.
 49. Васильева Д.К., Горячева Л.Г., Монахова Н.Е. Особенности иммунного ответа детей с хроническим гепатитом С, получавших этиотропную и патогенетическую терапию // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2011. — №12. — С.33—35.
 50. World Health Organization (WHO) (2004). Adolescent friendly health services: An agenda for change. Protecting young people from HIV and AIDS: The role of health services. [Электронный ресурс] Geneva: WHO. Доступ: <http://www.who.int/whosis/whostat/2004/en>
 51. Романцов М.Г., Исаков В.А., Рыбалкин С.Б., Краснов В.В., Коваленко А.Л. Современные подходы к лечению герпетической болезни // 2010. — Т.1. — 34. — С.157—168. / *Romancov M.G., Isakov V.A., Rybalkin S.B., Krasnov V.V., Kovalenko A.L. Sovremennye podkhody k lecheniju gerpeticheskoi bolezni*. 2010; 1: 34: 157—168. [in Russian]
 52. Исаков В.А., Исаков Д.В. Иммуномодуляторы в терапии и профилактике герпесвирусных инфекций // Клиническая медицина. — 2015. — №4. — С.16—24. / *Isakov V.A., Isakov D.V. Immunomodulatory v terapii i profilaktike herpesvirusnykh infekcij*. — *Klinicheskaja medicina* 2015; 4: 16—24. [in Russian]
 53. Романцов М.Г., Шульдjakова О.Г., Коваленко А.Л. Иммуномодуляторы с противовирусной активностью: опыт применения метилглюкамина акридоната в педиатрической практике. Фундаментальные исследования. — 2004. — №1. — С.29—33. / *Romancov M.G., Shul'djakova O.G., Kovalenko A.L. Immunomodulatory s protivovirusnoj aktivnost'ju: opyt primeneniya metilgljukamina akridonata v pediatricheskoj praktike. Fundamental'nye issledovanija* 2004; 1: 29—33. [in Russian]
 54. Бокковой А.Г., Ковалев И.В., Маккавеева Л.Ф. и др. Биологические иммуномодуляторы в комплексной терапии инфекционного мононуклеоза у детей // Детские инфекции. — 2015. — №1. — С.30—35. / *Bokovoj A.G., Kovalev I.V., Makkaveeva L.F. i dr. Biologicheskie immunomodulatory v kompleksnoj terapii infekcionnogo mononukleozu u detej. Detskie infekcii* 2015; 1: 30—35. [in Russian]
 55. Касымова Е.Б., Башкина О.А., Галимзянов Х.М. Клиническая эффективность применения циклоферона в комплексной терапии инфекционного мононуклеоза у детей // Антибиотики и химиотер. — 2011. — Т.56. — №9—10. — С.37—40. / *Kasytova E.B., Bashkina O.A., Galimzjanov Kh.M. Klinicheskaja jeffektivnost' primeneniya cikloferona v kompleksnoj terapii infekcionnogo mononukleozu u detej. Antibiotiki i khimioter* 2011; 56: 9—10: 37—40. [in Russian]
 56. Курмаева Д. Ю., Баранова И. П. Терапевтическая эффективность различных форм циклоферона при лечении инфекционного мононуклеоза у детей // Антибиотики и химиотер. — 2011. — Т.56. — №9—10. — С.33—36. / *Kurmaeva D. Ju., Baranova I. P. Terapevticheskaja jeffektivnost' razlicnykh form cikloferona pri lechenii infekcionnogo mononukleozu u detej. Antibiotiki i khimioter* 2011; 56: 9—10: 33—36. [in Russian]
 57. Романцов М.Г., Галимзянов Х.М., Локтева О.М., Коваленко А.Л., Степанов А.В. Экспериментальная и клиничко-лабораторная оценка эффективности комплексной терапии арбовирусных заболеваний // Антибиотики и химиотер. — 2012. — Т.57. — №7—8. — С.12—22. / *Romancov M.G., Galimzjanov Kh.M., Lokteva O.M., Kovalenko A.L., Stepanov A.V. Jeksperimental'naja i kliniko-laboratornaja ocenka jeffektivnosti kompleksnoj terapii arbovirusnykh zabolevanij. Antibiotiki i khimioter* 2012; 57: 7—8: 12—22. [in Russian]
 58. Черенов И.В., Галимзянов Х.М., Сологуб Т.В. Оценка эффективности противовирусных средств в терапии крымской геморрагической лихорадки // Клиническая медицина. — 2012. — №4. — С.59—62. / *Cherenov I.V., Galimzjanov Kh.M., Sologub T.V. Ocenka jeffektivnosti protivovirusnykh sredstv v terapii krymskoj gemorragicheskoi likhoradki. Klinicheskaja medicina* 2012; 4: 59—62. [in Russian]
 59. Шерышева Ю.В., Галимзянов Х.М., Коваленко А.Л. Оценка безопасности и фармакологической эффективности применения циклоферона при лечении астраханской риккетсиозной лихорадки // Антибиотики и химиотер. — 2012. — №1. — С.26—31. / *Sherysheva Ju.V., Galimzjanov Kh.M., Kovalenko A.L. Ocenka bezopasnosti i farmakologicheskoi jeffektivnosti primeneniya cikloferona pri lechenii astrakhanskoj rikketsioznoj likhoradki. Antibiotiki i khimioter* 2012; 1: 26—31. [in Russian]
 60. Кимирилова О.Г., Назарочкина О.В. Клиническая эффективность препарата циклоферон при Лихорадке Западного Нила у детей // Сб.: XII конгресс педиатров России. М.: 2008. — С.150. / *Kimirilova O.G., Nazarochkina O.V. Klinicheskaja jeffektivnost' preparata cikloferon pri Likhoradke Zapadnogo Nila u detej. Sb.: XII kongress pediatrov Rossii. M.: 2008. — С.150. [in Russian]*
 61. Иоанниди Е. А., Чернявская О. А., Божко В. Г. Опыт применения циклоферона в лечении Лихорадки Западного Нила // Волгоградский научно-медицинский журнал. — 2013. — № 4. — С.38—42. / *Ioannidi E. A., Chernjavskaia O. A., Bozhko V. G. Opyt primeneniya cikloferona v lechenii Likhoradki Zapadnogo Nila. Volgogradskij nauchno-medicinskij zhurnal* 2013; №4. — С.38—42. [in Russian]
 62. Крылова Н.В., Леонова Г.Н. Противовирусная активность препаратов с различным механизмом действия при экспериментальном клещевом энцефалите // Problems of Virology. — 2016. — Т.61. — №3. — С.139—144. / *Krylova N.V., Leonova G.N. Protivovirusnaja aktivnost' preparatov s razlichnym mekhanizmom dejstviya pri jeksperimental'nom kleshhevom jencefalite Problems of Virology* 2016; 61: 3: 139—144. [in Russian]
 63. Гордеев А. В., Черникова А. А., Пискунова С. Л., Савина О. Г. Индукторы интерферонов в лечении сочетанных форм клещевых инфекций у детей // Антибиотики и химиотер. — 2011. — Т.56. — №11—12. — С.21—24. / *Gordeev A. V., Chernikova A. A., Piskunova S. L., Savina O. G. Induktory interferonov v lechenii sochetannykh form kleshhevykh infekcij u detej. Antibiotiki i khimioter* 2011; 56: 11—12: 21—24. [in Russian]
 64. Бухарин О.В., Кириллов Д.А., Шеенков Н.В., Кириллов В.А. Влияние циклоферона на биологические свойства бактериальных внутриклеточных патогенов. // Журнал микробиологии. — 2005. — №3. — С. 8—10. / *Bukharin, O.V., Kirillov D.A., Sheenkov N.V., Kirillov V.A. Vlijanie cikloferona na biologicheskie svojstva bakterial'nykh vnutrikletochnykh patogenov. Zhurnal mikrobiologii* 2005; 3: 8—10. [in Russian]
 65. Гордеев А.В., Юрсова Е.Н., Смагина А.Н., Пискунова С.Л. Клинико-иммунологический мониторинг терапии сочетанных форм иерсиниозов // Антибиотики и химиотер. — 2011. — Т.56. — №5—6. — С. 49—53. / *Gordeev A.V., Jursova E.N., Smagina A.N., Piskunova S.L. Kliniko-immunologicheskij monitoring terapii sochetannykh form iersiniozov. Antibiotiki i khimioterap* 2011; 56: 5—6: 49—53. [in Russian]
 66. Кветная А.С., Бехтерева М.К., Железова Л.И., Калиногорская О.С. Применение циклоферона в комплексной терапии сальмонеллезной и иерсиниозной инфекции у детей // Антибиотики и химиотер. — 2012, 57; 3—4 С. 9—16. / *Kvetnaja A.S., Bekhtereva M.K., Zhelezova L.I., Kalinogorskaja O.S. Primenenie cikloferona v kompleksnoj terapii sal'monelljoznoj i iersinioznoj infekcii u detej. Antibiotiki i khimioter* 2012; 57: 3—4: 9—16. [in Russian]
 67. Романцов М.Г., Тихомирова О.В. Коррекция иммунных нарушений, терапия кишечных инфекций и дисбиоза у детей (клинический обзор) // Антибиотики и химиотер. — 2010, 55; 5—6 С. 41—49. / *Romancov M.G., Tikhomirova O.V. Korrekciya immunnykh narushenij, terapija kishhechnykh infekcij i disbioza u detej (klinicheskij obzor). Antibiotiki i khimioter* 2010; 55: 5—6: 41—49. [in Russian]
 68. Коломиец В.М. Современные оценки эпидемической ситуации по туберкулезу. // Туберкулез и болезни лёгких. — 2011. — №4. — С.200—201. / *Kolomiec V.M. Sovremennye ocenki jepidemičeskoj situacii po tuberkulezu. // Tuberkulez i bolezni legkikh* 2011; 4: 200—201. [in Russian]
 69. Коломиец В.М., Рублева Н.В., Вольф С.Б., Демидик С.Н. Эффективность применения иммуномодуляторов в лечении деструктивных форм туберкулеза лёгких // Курский научн.-практич. вестн. «Человек и его здоровье». — 2013. — №1. — С.81—85. / *Kolomiec V.M., Rubleva N.V., Vol'f S.B., Demidik S.N. Jeffektivnost' primeneniya immunomoduljatorov v lechenii destruktivnykh form tuberkuleza legkikh. Kurskij nauchn.-praktich. vestn. «Chelovek i ego zdorov'e»* 2013; 1: 81—85. [in Russian]
 70. Туберкулез. Особенности течения, возможности фармакотерапии. Учебное пособие для врачей / Под ред А. К. Иванова. СПб.: 2009. — С.108 с. / *Tuberkulez. Osobennosti techenija, vozmozhnosti farmakoterapii. Učebnoe posobie dlja vrachej (pod redakciej professora A. K. Ivanova) SPb.: 2009; 108. [in Russian]*
 71. Kolomiets V.M., Rubleva N.V. Neglected tuberculosis of the lungs: problems and efficiency of the rehabilitation // Сетевой журнал «Научный результат». Серия «Медицина и фармация». — 2016. — Т.2. — №1 (7). — С.3—9. / *Kolomiets V.M., Rubleva N.V. Neglected tuberculosis of the lungs: problems and efficiency of the rehabilitation. Setevoj zhurnal «Nauchnyj rezul'tat». Serija «Medicina i farmacija»* 2016; 2: 1 (7): 3—9. [in Russian]
 72. Иванов А.К., Пантелеев А.М., Суханов Д.С. Применение циклоферона в комплексном лечении больных туберкулезом, инфицированных ВИЧ и вирусными гепатитами // Клиническая медицина. — 2010. — №5. — С.71—76. / *Ivanov A.K., Panteleev A.M., Sukhanov D.S. Primenenie cikloferona v kompleksnom lechenii boľnykh tuberkulezom, inficirovannykh VICH i virusnymi gepatitami Klinicheskaja medicina* 2010; 5: 71—76. [in Russian]
 73. Иванов А.К., Сологуб Т.В., Пантелеев А.М. Комплексное лечение больных туберкулезом, инфицированных ВИЧ, с применением циклоферона // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2010. — №1. / *Ivanov A.K., Sologub T.V., Panteleev A.M. Kompleksnoe lechenie boľnykh tuberkulezom, inficirovannykh VICH, s primeneniem cikloferona // Jeksperimental'naja i klinicheskaja farmakologija. — 2010. — №1. [in Russian]*

bol'nykh tuberkulezom, inficirovannykh VICH, s primeneniem cikloferona. Jeksperimental'naja i klinicheskaja farmakologija 2010; 1. [in Russian]

74. Рассказова М.Е., Рассказова В.Н., Садова Н.Г., Симакова А.И. Особенности клинических изменений иммунной недостаточности у ВИЧ-инфицированных детей, оставшихся без попечения родителей, при проведении комплекса профилактических мероприятий. / Rasskazova M.E., Rasskazova V.N., Sadova N.G., Simakova A.I. Osobennosti klinicheskikh izmenenij immunnoj nedostatochnosti u VICH-inficirovannykh detej, ostavshikhsja bez popечeniya roditel'ej, pri provedenii kompleksa profilakticheskikh meroprijatij. [in Russian]
75. Фролов В.М., Пересадин Н. А., Чхетиани Р. Б., Круглова О. В. Повышение эффективности антибактериальной терапии хронической сепсиса при использовании комбинации циклоферона и реамберина // Антибиотики и химиотер. — 2012. — Т.57. — № 5—6. — С. 18—26. / Frolov V.M., Peresadin N. A., Chkhetiani R. B., Kruglova O. V. Povyshenie jeffektivnosti antibakterial'noj terapii khroniosepsisa pri ispol'zovanii kombinacii cikloferona i reamberina // Antibiotiki i khimioter 2012; 57: 5—6: 18—26. [in Russian]
76. Карпенко С.Ф., Галимзянов Х.М., Касимова Н.Б., Рубальский О.В., Красков А.В., Горева О.Н. Возрастные аспекты клинко-иммуно-

логических проявлений Коксиселлеза // Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2012. — № 6. — С. 16—19. / Karpenko S.F., Galimzjanov Kh.M., Kasimova N.B., Rubal'skij O.V., Kraskov A.V., Goreva O.N. Vozrastnye aspekty kliniko-immunologicheskikh pojavlenij Kokselleza. Jependemiologija i infekcionnye bolezni 2012; № 6: 16—19. [in Russian]

77. Хронический бруцеллез: этиология, патогенез, клиника, лечение / Под редакцией Ляпиной Е.П., Шульдякова А.А., Спирина В.Ф., Саратов: Изд. КУБиК. — 2010. — 155. / Khronicheskij brucellez: jetiologija, patogenezi, klinika, lechenie/ Pod redakciej Ljapinoj E.P., Shul'djakova A.A., Spirina V.F., Saratov: Izd. KUBiK, 2010; 155. [in Russian]
78. Евдокимов А.В., Анащенко А.В., Ляпина Е.П., Шульдяков, Глыбочко П.В., Петренко Н.А. Эффективность циклоферона в комплексном лечении больных бруцеллезом с поражением органов мошонки. Урология. — 2012. — №5. — С.30—34. / Evdokimov A.V., Anashhenko A.V., Ljapina E.P., Shul'djakov A.A., Glybochko P.V., Petrenko N.A. Jefferektivnost' cikloferona v kompleksnom lechenii bol'nykh brucellezom s porazheniem organov moshonki. Urologija 2012; 5: 30—34. [in Russian]

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Шульдяков Андрей Анатольевич — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой инфекционных болезней Саратовского ГМУ им. В. И. Разумовского Минздрава России, Саратов

Ляпина Елена Павловна — д.м.н., доцент, профессор кафедры инфекционных болезней Саратовского ГМУ им. В. И. Разумовского Минздрава России, Саратов

Соболева Людмила Анатольевна — доцент, доцент кафедры терапевтической стоматологии Саратовского ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России, Саратов

Романцов Михаил Григорьевич — д.м.н., профессор, лауреат премии Правительства России в области науки, ФГБОУ

ВО «Северо-Западный Государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова», кафедра педиатрии и детской кардиологии, Санкт-Петербург

Перминова Татьяна Анатольевна — к.м.н., ассистент кафедры инфекционных болезней Саратовского ГМУ им. В. И. Разумовского Минздрава России, Саратов

Кузнецов Владимир Иванович — д.м.н., доцент, доцент кафедры инфекционных болезней Саратовского ГМУ им. В. И. Разумовского Минздрава России, Саратов

Наркайтис Лидия Игоревна — к.м.н., ассистент кафедры эпидемиологии Саратовского ГМУ им. В. И. Разумовского Минздрава России, Саратов

Грибковая инфекция в хирургическом стационаре. Системная и местная противогрибковая терапия

Л. А. БЛАТУН, Г. Е. СКЛАДАН, Р. П. ТЕРЕХОВА, С. А. ПРУДНИКОВА, М. Г. КРУТИКОВ, О. И. АНДРЕЙЦЕВА,
М. Н. ЯН, А. А. НИКИТИН, А. А. УШАКОВ, Н. Г. АСКЕРОВ, В. А. МИТИШ, Ю. С. ПАСХАЛОВА,
П. А. МУНЬОС СЭПЭДА, С. Д. МАГОМЕДОВА, С. Л. СОКОВ

Институт хирургии им. А. В. Вишневского, Москва

Fungi Infection in Surgical Department. Systemic and Local Antifungal Therapy

L. A. BLATUN, G. E. SKLADAN, R. P. TEREKHOVA, S. A. PRUDNIKOVA, R. P. TEREKHOVA, M. G. KRUTIKOV,
O. I. ANDREYTSOVA, M. N. YAN, A. A. NIKITIN, A. A. USHAKOV, N. G. ASKEROV, V. A. MITISH,
YU. S. PASKHALOVA, P. A. MUNIOS SEPEDA, S. D. MAGOMEDOVA, S. L. SOKOV

A. V. Vishnevsky Institute of Surgery, Moscow

Цель. Изучить частоту выявления патогенных грибов в различных группах больных в многопрофильном хирургическом стационаре, провести сравнительную оценку эффективности и безопасности новых системных и местных противогрибковых препаратов. **Материал и методы.** Объектом исследования послужили 766 штаммов грибов, полученных из различных локусов инфекционного процесса, выявленного у 363 больных, находившихся в отделениях реанимации и интенсивной терапии, в отделении термических поражений, отделении гнойной хирургии, торакальной, абдоминальной и сосудистой хирургии. Исследование биопроб (биоптаты ран, бронхиальный лаваж, пунктаты жидкостных образований, отделяемое по катетерам и зондам, гемокультуры) проводилось микроскопическим и бактериологическим методами. Системная противогрибковая терапия строго назначалась в соответствии с выявленной чувствительностью грибов к современным противогрибковым препаратам. Местное лечение грибковой инвазии проводилось препаратами, обладающими широким спектром действия, в том числе и противогрибковой активностью. **Результаты.** Изучен видовой состав грибов в различных группах больных с хирургической патологией. Увеличение патогенных грибов (*Candida glabrata* и *Candida krusei*, *Candida parapsilosis*, *Aspergillus* sp.) в различных клинических группах чаще всего было связано с значительным увеличением числа больных с длительным тяжёлым течением инфекционного процесса (рецидивирующий холангит, перитонит, панкреатит, стерномедиастинит, эмпиема плевры, синдром диабетической стопы, обширные трофические язвы, парапротеиновые инфекции и др.). В нашем исследовании в качестве стартовой терапии назначались вариконазол, анидулофунгин, микофунгин, каспофунгин. При местном лечении различных очагов грибковой инфекции высокая клиническая и бактериологическая эффективность достигалась при лечении ран под повязками, содержащими в своём составе йодистые соединения (1% раствор йодопирона, Браунодин Б. Браун, 3% мазь Стелланин ПЭГ). Использование 0,01% раствора мирамистина для санации трахеобронхиального отдела во время диагностических и лечебных бронхоскопий, а также для промывания мочевого пузыря показало возможность сократить длительность системной противогрибковой терапии. **Заключение.** Для успешного предупреждения и лечения грибковой инвазии необходим не только регулярный бактериологический мониторинг видового состава грибов, но и определение чувствительности выделенных штаммов к современным противогрибковым препаратам. Использование препаратов для местного лечения грибов позволяет снизить длительность использования системных препаратов, что имеет значительное экономическое значение.

Ключевые слова: грибковая инфекция, хирургический стационар, противогрибковая терапия, мониторинг чувствительности.

Goal. To determine the frequency of detection of pathogenic fungi in a variety of surgical departments, to track the effectiveness of the developed algorithm of systemic and local antifungal therapy. **Material and methods.** Strains of fungi have been investigated, extracted from the patients situated in the intensive care unit, in the department of thermal injuries, the department of purulent surgery, thoracic, abdominal and vascular surgery. Bioassay Research (biopsy of wounds, bronchial lavage, liquid punctate structures, discharge from catheters and probes, blood culture) was conducted by microscopic and bacteriological methods. Systemic antifungal therapy was strictly prescribed in accordance with the revealed sensitivity of fungi to modern antifungal agents. Local treatment of fungal infestation was carried out with preparations having a wide spectrum of action, including antifungal activity. **Results.** The species composition of fungi was analyzed in various groups of patients with surgical pathologies. The increase in pathogenic fungi (*Candida glabrata* and *Candida krusei*, *Candida parapsilosis*, *Aspergillus* ssp.) in the various clinical groups was most often associated with a significant increase in the number of patients with a long course of the infectious process (recurrent cholangitis, peritonitis, pancreatitis, sternomediastinitis, empyema of the pleura, diabetic foot syndrome, extensive trophic ulcers, paraprotein infections, etc). Variconazole, anidulofungin, mycophengin, caspofungin were administered as starting therapy in the study. Drugs that have iodine compounds in their composition (yodopiron 1% solution, Braunodin B. Braun) show high clinical

© Коллектив авторов, 2018

Адрес для корреспонденции: 117997 Москва, ул. Б. Серпуховская, д. 27. Институт хирургии им. А. В. Вишневского

activity in the topical treatment of various lesions of fungal infection, whereas in the case of large amounts of pus in the wound the drug of choice may be Stellanin-PEG 3% ointment. It is advisable to use a solution of 0.01% miramistin for rehabilitation of the tracheobronchial area during diagnostic and therapeutic bronchoscopy, as well as for rinsing the bladder. **Conclusion.** The problem of fungal infestation is relevant to all clinical departments of a surgical hospital. For successful prevention and treatment of fungal infestation it is necessary not only to carry out regular bacteriological monitoring of the composition of fungi species, but also to determine the sensitivity of isolated strains to current antifungal drugs. The use of drugs for the topical treatment of fungi can significantly reduce the duration of the use of systemic drugs that have a significant economic value.

Keywords: fungal infection, surgical hospital, antifungal therapy, sensitivity monitoring.

Актуальность

«За последние десятилетия микозы, т.е. заболевания, обусловленные микроскопическими грибами стали важнейшей медицинской проблемой. Широкое распространение новых медицинских технологий (инвазивных диагностических и лечебных процедур, цитостатической и иммуносупрессивной терапии, трансплантации и пр.), пандемия ВИЧ инфекции, а также успехи в лечении бактериальных инфекций препаратами широкого спектра действия привели к увеличению популяции иммуносупрессивных пациентов с высоким риском инвазивных (глубоких) микозов» [1].

Несмотря на появление ряда новых эффективных противогрибковых препаратов летальность от инфекций кровотока, вызванных грибами рода *Candida*, достигает 40%.

Кандидозный эндокардит в 10% случаев осложняет операции на сердце, а у 8% этих больных он оказывается причиной смерти.

Смертность от микозов входит в десятку самых распространённых причин летальности от инфекционных заболеваний [1, 2]. На показатели летальности может также влиять вид грибов рода *Candida*.

Например, *Candida glabrata* связана с более высоким, чем обычно, уровнем летальности (45%), хотя это может быть результатом более высокой частоты встречаемости *C.glabrata* у пожилых пациентов, в то время как для *Candida parapsilosis* характерны более низкие показатели летальности [10].

Начиная с середины 90 годов отмечено, что в отделениях интенсивной терапии наиболее часто встречаются системные инфекции, вызванные *Candida* spp. В эти же годы происходит отчётливое изменение эпидемиологии инфекций, обусловленных грибами рода *Candida*, что проявляется в снижении числа случаев, вызванных *C.albicans*, и увеличении частоты non-albicans видов [5].

В США к 2000 г. по сравнению с 1979 г. частота сепсиса от грибковой инфекции увеличилась более чем на 200% [6].

Эпидемиология грибов рода *Candida* значительно варьирует среди различных популяций пациентов.

Фоновые состояния оказывают влияние на распространённость различных видов *Candida* spp., например, у пациентов с онкогематологическими заболеваниями *C.tropicalis* встречается ча-

ще, чем *C.albicans*. Распространённость *C.glabrata* увеличивается с возрастом, достигая 20% у пациентов в возрасте ≥ 70 лет. Однако *C.parapsilosis* наблюдается чаще у детей, в частности у новорождённых и недоношенных [10].

Повышается риск летального исхода при кандидемии в 2 раза, если начало эффективной противогрибковой терапии только задерживается на 12 ч [12].

Важнейшие условия успешного лечения микозов — ранняя и интенсивная антифунгальная терапия. Длительное время количество противогрибковых и лекарственных средств было существенно меньше антибактериальных или противовирусных препаратов. Благодаря появлению в последние годы новых эффективных и безопасных антимикотиков значительно возросли возможности врачей в лечении микозов.

К сожалению, противогрибковая терапия, рассматриваемая в настоящее время как стандарт лечения, ограничена либо токсичностью как наблюдаемая при использовании различных форм амфотерицина В, либо ростом резистентности на фоне увеличивающейся частоты применения препаратов для профилактики, например, флуконазола [3, 4].

Было также отмечено значительное увеличение природной резистентности к флуконазолу, таких грибов как *C.glabrata* и *Candida krusei*. В настоящее время *C.glabrata* является вторым по частоте видом грибов рода *Candida* после *C.albicans* [6].

Данные изменения можно объяснить ростом частоты использования флуконазола и, как следствие, увеличением колонизации флуконазолорезистентными штаммами [7].

В то же время, флуконазол остаётся наиболее часто применяемым противогрибковым препаратом, несмотря на то, что 10—15% клинически значимых штаммов *C.glabrata* и почти 75% *C.krusei* частично или полностью устойчивы к флуконазолу [8].

Среди резистентных к флуконазолу штаммов наибольшая активность вориконазола была отмечена в отношении *C.krusei* (84,4% чувствительных штаммов) и *C.parapsilosis* (76,6% чувствительных штаммов) [9].

Результаты исследования

За период 2014—2016 гг. было протестировано 766 штаммов грибов (рис. 1—3). Как видно

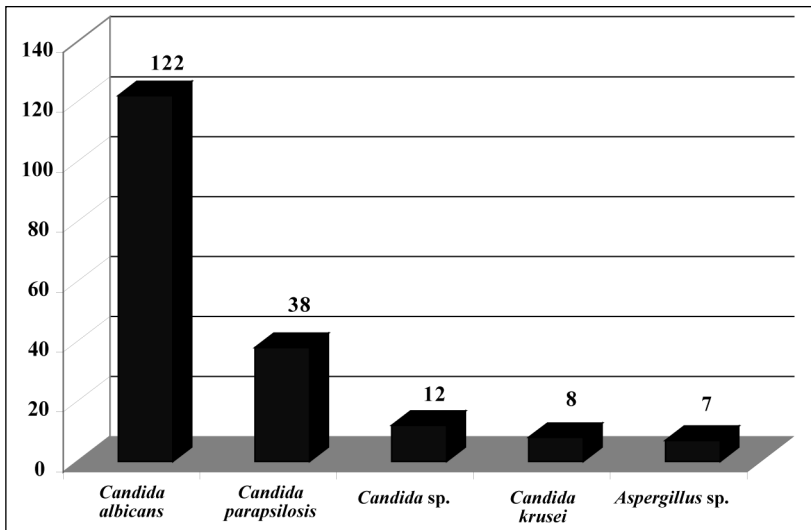


Рис. 1. Грибы, выделенные в 2014 г.

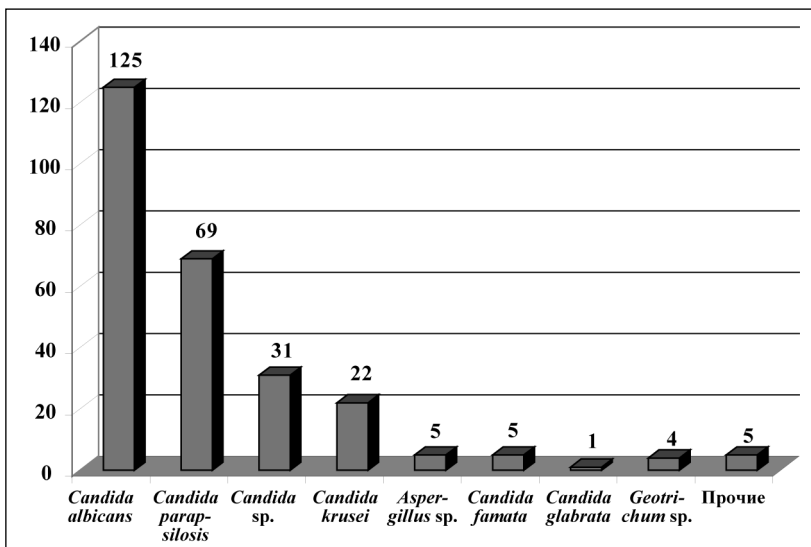


Рис. 2. Грибы, выделенные в 2015 г.

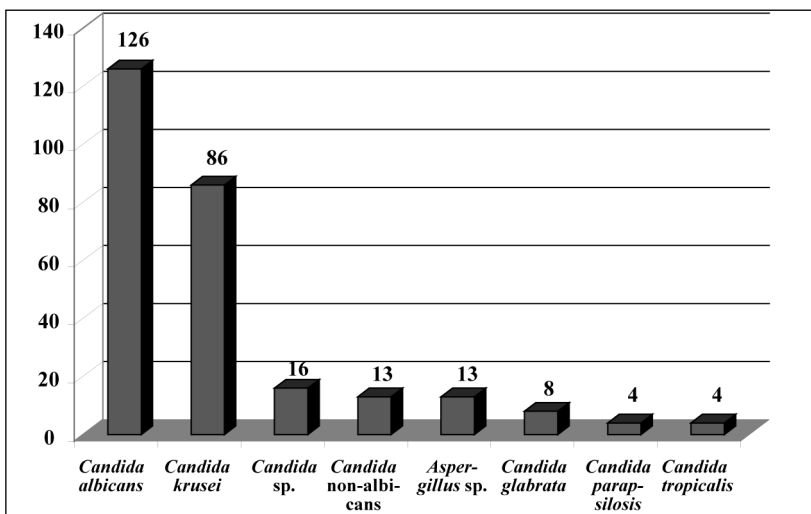


Рис. 3. Грибы, выделенные в 2016 г.

на рис. 1—3, в 2014, 2015, 2016 гг. наиболее часто выделяемыми из различных локусов были штаммы *C.albicans*. Если в 2014—2015 гг. вторым и третьим возбудителем по частоте встречаемости были *C.parapsilosis* и *C.krusei*, то в 2016 г. вторым возбудителем грибковой инфекции была *C.krusei*, выделяемая от больных с раневой инфекцией, с термическими поражениями, с гнойными процессами абдоминальной локализации (таблица).

Наряду с традиционными *C.albicans*, *C.parapsilosis*, *C.krusei*, *Candida sp.* в отделении ран и раневых инфекций, в отделении термических поражений, в реанимации из биоптатов ран 8 больных выявлен рост *Aspergillus spp.* При эпиданализе выявили, что источником распространения были нарушения вентиляционной системы и кондиционеров палат.

Обращает на себя внимание увеличение количества грибов, выделяемых в биоматериалах уже даже на этапе обследования больных в поликлинике стационара перед госпитализацией. У этих больных наряду с *C.albicans* (63%) в пунктатах жидкостных образований печени, в отделяемом длительно функционирующих дренажей, установленных в билиарной системе, в раневых биоптатах, в мокроте стали выявляться также и *C.parapsilosis* (11,6%), *C.krusei* (3,5%). Как правило, это были больные либо с онкологическим заболеванием печени, лёгких, желудка, пищевода, либо с длительным течением гнойного процесса — с синдромом диабетической стопы, с хроническим течением послеоперационного стерно-медиастинита, с посттравматическим или гематогенным остеомиелитом. В анамнезе некоторых таких больных на фоне получения цитостатической, гормональной, лучевой терапии всегда было несколько эпизодов лечения антибактериальными препаратами широкого спектра действия (карбапенемы, фторхинолоны, цефалоспорины 3—4-го поколений и др.), а также курсы парентерального питания.

Видовой состав грибов, выделенных от больных за период 2014–2015 гг. (количество штаммов/%)

Отделения	Годы исследования	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Aspergillus sp.</i>	<i>Candida krusei</i>	<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida non albicans</i>
Абдоминальной хирургии № 2	2014	54/34,6	17/34	—	1/9,1		6/42,2
	2015	38/30,4	10/14,5		2/9,1		
	2016	32/25,6			15/18,6		8/46,2
Абдоминальной хирургии № 1	2014	7/5,6	—	—			
	2015	7/5,6	3/4,3				1/6,7
	2016	15/11,9			4/4,7		2/12,5
Термических поражений	2014	25/16	8/22	7/53,8	1/9,1		4/30,8
	2015	17/13,6	9/23,2	3/60	2/18,2		2/
	2016	17/13,5		11/84,6	5/5,8	3/37,5	6/7,7
Торакальной хирургии	2014	25/16	4/8	—	1/9,1		
	2015	9/7,2	2/2,9	4/26,7	1/4,5		1/20
	2016	7/5,6			4/4,7		
Гнойной хирургии	2014	18/11,5	12/24	4/30,8	6/54,5		6/12,5
	2015	23/18,4	20/29,0	2/40	13/59,2	1/100	2/12,5
	2016	20/15,9	4/1,5	2/15,4	46/53,5	5/50	
Реанимация	2014	9/5,8	2/4	1/7,7			
	2015	3/2,4	4/8,7				2/13,3
	2016						
Сосудистой хирургии	2014	3/1,9	—		1,9,1		
	2015	1/0,8	3/4,33		3/3,5		1/100
	2016	1/0,8					2/12,5
Кардиохирургии	2014	3,1,9	—				
	2015						
	2016	2/1,6			1/1,2		2/7,7
Урологическое	2014	3/1,9	—				
	2015	1/0,8					
	2016	1/0,8					1/6,3
Поликлиника	2014	15/9,6	3/6				2/7,7
	2015	13/10,4	8/11,6				
	2016	18/14,3			3/3,5		1/6,3
Химиотерапии	2014	1/0,6	1/2	1/7,7	1,91		
	2015	3/2,4					1/6,7
	2016						6/30,8
Хирургии пищевода и желудка	2014						
	2015	2/1,6					
	2016	13/10,3			4/4,7		4/30,8
Морфология	2014						
	2015	8/6,4	1/1,4		2/9,1		
	2016						

Здесь следует отметить, что эти больные на предыдущих этапах лечения, как правило, не получали противогрибковые препараты.

Несмотря на кажущееся небольшое число случаев выявления различных грибов, риск стремительного распространения грибов за пределы первичной локализации всегда нами рассматривался как фактор риска развития диссеминированного кандидоза.

Даже при выявлении грибов только из одного очага, с целью предупреждения генерализации грибковой инфекции, в 53 наблюдениях после получения результатов бактериологического исследования стартовую противогрибковую терапию мы начинали современными, хотя и очень дорогостоящими, противогрибковыми препаратами (вориконазол, каспофунгин, анидулафунгин или микафунгин).

Применение этих препаратов было обусловлено значительным снижением чувствительности выделенных грибов из различных локусов этих больных к традиционному флуконазолу. Даже в

отношении *C.albicans* этот препарат был активен только в 23,4% случаев. Не более 30% штаммов *C.glabrata* и *C.parapsilosis* были чувствительны к флуконазолу.

Учитывая способность грибов образовывать биоплёнки, высокую адгезию грибов к раневым поверхностям, стенкам различных дренирующих систем во всех случаях стремились выполнить радикальную хирургическую обработку с максимально возможным удалением всех пораженных тканей, обязательным удалением или заменой всех металлических и пластиковых фиксаторов, дренажных трубок, катетеров.

При обнаружении *C.parapsilosis*, *C.krusei* препаратом первой линии и препаратом спасения был вориконазол, так как чувствительность этих грибов к вориконазолу составила 100%. Такую же высокую активность в отношении этих грибов показывает анидулафунгин и микафунгин. Такая же тактика лечения грибковой инфекции проводилась и в случаях обнаружения non-albicans грибов.



Рис. 4. Вид ран при поступлении.

При обнаружении в биоптатах ран аспергилл у 5 из 8 наблюдаемых больных стартовым препаратом был анидулафунгин (Эраксис), в одном случае каспофунгин (Кансидас) и в двух — микафунгин (Микамин). Амфотерицин В не применяли ввиду его высокой нефротоксичности.

Длительность лечения больных противогрибковыми препаратами составляла не менее 10—14 сут — до 3-кратно подтвержденной полной элиминации грибов из ран, крови, мочи, мочи.

Течение раневого процесса, осложненного инвазией грибами у всех больных сопровождалось клиникой тяжелой интоксикации. В ранах с аспергилламии характерным признаком было формирование множественных трудноудаляемых поверхностных очагов некроза тканей. В этих случаях наряду с хирургической обработкой проводилась обработка ран гидрохирургической системой VersaJet (Smith&Nephew, Великобритания).

Для уменьшения адгезии микробов и грибов раневые поверхности обрабатывали раствором Пронтосан, а затем раны заполнялись салфетками, пропитанными препаратами, в состав которых входили йодистые соединения (1% раствор йодопирона, Браунодин Б. Браун). В случае значительного количества гноя в ране препаратом выбора всегда была 3% мазь Стелланин ПЭГ.

При обнаружении грибов в смывах с бронхов для санации трахеобронхиального отдела во время диагностической или лечебной бронхоскопии использовали 0,01% раствор мирамистина. Для промывания мочевого пузыря также использовали 0,01% раствор мирамистина.

Для промывания брюшной полости, плевральной полости использовали 0,1% раствор лава-септа, способствующий уменьшению адгезии микробов и грибов к раневым поверхностям. Этот же раствор вводили в дренажные трубки, установленные в брюшной или плевральной полости.



Рис. 5. Вид раны через 2 нед. Лечение послеоперационных ран проводится с использованием тампонов, пропитанных раствором Браунодин Б.Браун.

Такая тактика одновременной системной и местной противогрибковой терапии позволила практически во всех случаях в течение 2 нед добиться полной или частичной элиминации грибов из первичного очага. Приводим одно *клиническое наблюдение* (рис. 4—7).

Больная Г. Т. С., 61 г., поступила в отделение с обширными гнойно-некротическими ранами ягодичных областей. В анамнезе длительное тяжелое течение ревматоидного полиартрита, по поводу чего получала в/м инъекции обезболивающих препаратов. Хирургическая обработка п/и абсцессов, выполненная в стационаре по месту жительства и назначенная системная антибактериальная терапия были не эффективными. Гнойный процесс стал распространяться на поясничную область.

При поступлении в стационар состояние тяжелое. Выраженная клиника интоксикации с признаками нарастания полиорганной недостаточности. Поверхность ран фрагментарно покрыта плотным струпом сероватого цвета. В глубине ран небольшое количество свободного гноя (рис. 4). В условиях отделения реанимации и интенсивной терапии начата многокомпонентная терапия.

При бактериологическом анализе (18.11.2013) в биоптате раны обнаружена ассоциация *Aspergillus* sp., *Enterococcus faecium*, *C.albicans* (штамм, устойчивый к флуконазолу).

Назначено: Анидулафунгин (Эраксис) — 100 мг в/в капельно — 2 нед, ванкомицин — 1 г × 2 в/в капельно — 10 дней.

После тщательного удаления всех некротических тканей с последующей обработкой ран гидрохирургической системой VersaJet, обработкой раствором Пронтосан, полость ран заполнялась тампонами, пропитанными 3% мазью Стелланин ПЭГ. Такая тактика лечения проводилась в течение 10 дней. В последующий период лечение ран продолжалось под повязками с раствором Браунодин Б. Браун. Системная антибактериальная и противогрибковая терапия были отменены через две недели, так как к этому сроку лечения была достигнута полная элиминация возбудителей инфекционного процесса. К этому сроку лечения клинически не было признаков острого гнойного процесса. На дне ран наблюдался отчетливый рост грануляций.

При анализе причин возникновения тяжелого течения инфекционного процесса у этой больной, обращает на себя внимание отсутствие



Рис. 6. Вид раны через 4 нед лечения. После заполнения ран грануляционными тканями выполнена пластика местными тканями п/о раны левой ягодичной области. С целью профилактики нагноения ран в послеоперационном периоде использовались повязки с раствором Браунодин Б.Браун.



Рис. 7. Вид раны через 5 нед лечения. Выполнена пластика п/о раны правой ягодичной области свободным расщепленным лоскутом. С целью профилактики нагноения ран в послеоперационном периоде использовались повязки с Браунодин Б.Браун.

профилактического назначения противогрибковой терапии в самом начале лечения тяжёлого течения обширного гнойно-некротического процесса, несмотря на отягощённый анамнез основного заболевания (длительное течение ревматоидного процесса, по поводу которого она получала несколько курсов гормональной терапии, а по поводу обширного гнойного процесса ей были назначены антибактериальные препараты широкого спектра действия). Таким образом, уже тогда были прямые показания для стартовой противогрибковой терапии в дополнение к системным антибактериальным препаратам с направленным действием на аэробные и анаэробные микроорганизмы.

В наших наблюдениях во всех случаях с выявленной грибковой инфекцией и тяжёлым течением основного заболевания больные в условиях отделения реанимации получали многокомпонентную терапию с обязательным добавлением противогрибковых препаратов. Дальнейшая противогрибковая терапия продолжалась путём использования местных препаратов, обладающих противогрибковой активностью. Разработанный алгоритм системной и местной противогрибковой терапии препаратами активными в

отношении выделенных из различных очагов инфекции позволил уже к концу второй недели добиться элиминации грибов. Последующие контрольные исследования, проведенные через 2 нед, ни в одном случае не выявили рецидива грибкового процесса.

Летальный исход вследствие генерализации грибковой инвазии отмечен только в одном случае ввиду длительного использования каспофунгина, неактивного в отношении *C.parapsilosis*, выявленного в крови, в тканях ран, в мокроте и в моче.

Заключение

Проблема грибковой инвазии актуальна для всех клинических подразделений хирургического стационара. Для успешного предупреждения и лечения грибковой инвазии необходим регулярный бактериологический мониторинг не только видового состава, но и определение чувствительности выделенных грибов к современным противогрибковым препаратам. Использование препаратов для местного лечения грибов позволяет значительно снизить длительность использования системных препаратов, что имеет значительное экономическое значение.

ЛИТЕРАТУРА

1. Диагностика и лечение микозов в отделениях реанимации и интенсивной терапии. Российские национальные рекомендации. Под ред. Н.Н.Климко. — М.: 2015. — С. 96. / Diagnostika i lechenie mikozov v otdeleniyah reanimacii i intensivnoj terapii. Rossijskie nacional'nye rekomendacii. Pod red. N.N.Klimko. M.: 2015; 96. [in Russian]
2. Петрухина М.И., Ющенко Г.В., Суранова Т.Г., Иваненко А.В., Шапошников А.А., Лукичева Т.А. Внутрибольничные инфекции: Эпидемиология и профилактика. М.: 2008. — С. 503. / Petruhina M.I., Yushchenko G.V., Suranova T.G., Ivanenko A.V., Shaposhnikov A.A., Lukicheva T.A. Vnutribol'nichnye infekcii: EHpidemiologiya i profilaktika. M.: 2008 — 503. [in Russian]
3. Диагностика и лечение микозов. Под ред Д.Х. Хоспентала, М.Д.Риналди. М.: Издательская группа «ГЭОТАР-Медиа». 2013. — С. 7—8. / Diagnostika i lechenie mikozov. Pod red D.H. Hospentala, M.D.Rinaldi. M.: Izdatel'skaya gruppа «GENOTAR-Media», 2013; 7—8. [in Russian]
4. Tortorano A.M. et al. Epidemiology of candidaemia in Europe: results of 28-Month European Confederation of Medical Mycology (ECMM) hospital-based surveillance study. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2004;

- 23: 317–322.
5. *Basetti M. et al.* Epidemiological trends in nosocomial candidemia in intensive care. *BMC Infect Dis* 2006; 6: 21.
 6. *Morrell M. et al.* Delaying the empiric treatment of *Candida* bloodstream infection until positive blood culture results are obtained: a potential risk factor for hospital mortality. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 3640–3645.
 7. *Климко Н.Н.* Микозы — диагностика и лечение. Руководство для врачей. 2-е издание переработанное и дополненное. М.: Ви Джи Групп. — 2008. — С. 336. / *Klimko N.N.* Mikozy — diagnostika i lechenie. *Rukovodstvo dlya vrachej.* 2-e izdanie pererabotannoe i dopolnennoe. M.: Vi Dzhi Grupp. 2008; 336. [in Russian]
 8. *DuPont B.* Overview of the lipid formulations of amphotericin B. *J Antimicrob Chemother* 2002; 49: Suppl 1: 31–36.
 9. *Richardson M.D.* Changing patterns and trends in systemic fungal infections. *J Antimicrob Chemother* 2005; 56: 5–11.
 10. *Trick W.E. et al.* Secular Trend of Hospital-acquired candidemia among Intensive Care Unit Patients in the United states during 1989–1999. *Clin Infect Dis* 2002; 35 (5): 627–630.
 11. *Messer S.A. et al.* International surveillance of *Candida* spp. and *Aspergillus* spp.: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2003) *J Clin Microbiol* 2006; 44: 1782–1787.
 12. *Веселов А.В., Климко Н.Н., Кречикова О.И., Клясова Г.А., Агапова Е.Д., Бултых И.Г., Розанова С.М., Крайнова Л.Е., Дмитриева Н.В., Козлов Р.С.* *In vitro* активность флуконазола и вориконазола в отношении более 10000 штаммов дрожжей: результаты 5-летнего проспективного исследования ARTEMIS Disk в России. Клиническая микробиология, антимикробная химиотерапия. 2008. — № 10: 4: 345–354. / *Veselov A.V., Klimko N.N., Krechikova O.I., Klyasova G.A., Agapova E.D., 'ulykh I.G., Rozanova S.M., Krajinova L.E., Dmitrieva N.V., Kozlov R.S.* *In vitro* aktivnost' flukonazola i vorikonazola v otnoshenii bolee 10000 shtammov drozhzhej: rezul'taty 5-letnego prospektivnogo issledovaniya ARTEMIS Disk v Rossii. *Klinicheskaya mikrobiologiya, antimikrobnaya khimioterapiya.* 2008; 10: 4: 345–354. [in Russian]

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Блатун Л.А. — к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории профилактики и лечения бактериальных инфекций Института хирургии им. А.В.Вишневского ФГБУ МЗРФ, Москва

Складан Г.Е. — врач бактериолог лаборатории профилактики и лечения бактериальных инфекций Института хирургии им. А.В.Вишневского ФГБУ МЗРФ, Москва

Прудникова С.А. — врач бактериолог лаборатории профилактики и лечения бактериальных инфекций Института хирургии им. А. В. Вишневского ФГБУ МЗРФ, Москва

Терехова Р.П. — к.м.н., заведующая лабораторией профилактики и лечения бактериальных инфекций Института хирургии им. А.В.Вишневского ФГБУ МЗРФ, Москва

Крутиков М.Г. — д.м.н., ведущий научный сотрудник Центра термических поражений Института хирургии им. А. В. Вишневского ФГБУ МЗ РФ, Москва

Болезнь Уиппла

Б. С. БЕЛОВ

НИИ ревматологии им. В. А. Насоновой, Москва

Whipple's Disease

B. S. BELOV

V. A. Nasonova Research Institute of Rheumatology

Болезнь Уиппла (БУ) относится к редким хроническим системным заболеваниям инфекционной этиологии. Возбудитель БУ — *Tropheryma whippelii* (TW) принадлежит к убиквитарным (повсеместно распространённым) бактериям-комменсам. Первичное инфицирование протекает асимптомно или в виде одной из острых форм (гастроэнтерит, пневмония и т.д.). При наличии определенного иммунологического дефекта после длительного периода TW-персистенции развиваются локальные хронические формы или происходит генерализация процесса с поражением опорно-двигательного аппарата, желудочно-кишечного тракта, сердечно-сосудистой системы и др. Важная роль в диагностике БУ отводится морфологическому исследованию слизистой оболочки тонкой кишки и ПЦР. Основу лечения составляют 2–4-недельные курсы цефтриаксона или меропенема с последующим длительным (не менее 1 года) приёмом ко-тримоксазола либо доксициклина с гидроксихлорохином. Прогноз БУ в большинстве случаев благоприятный.

Ключевые слова: болезнь Уиппла, *Tropheryma whippelii*, поражение суставов, эндокардит, антибиотикотерапия.

Whipple's disease (WD) is one of rare chronic systemic diseases of infectious etiology. The causative agent of WD — *Tropheryma whippelii* (TW) — belongs to the ubiquitous bacteria-commensals. Primary infection occurs asymptotically or in the form of one of the acute forms (gastroenteritis, pneumonia, etc.). If there is a certain immunological defect after a long period of TW-persistence, local chronic forms develop or generalization occurs with the damage to the musculoskeletal system, gastrointestinal tract, cardiovascular system, etc. An important role in the diagnosis of WD is assigned to the morphological study of the small intestine mucosa and PCR. The basis of treatment is 2–4-week course of ceftriaxone or meropenem followed by a long (at least 1 year) intake of co-trimoxazole or doxycycline with hydroxychloroquine. The prognosis of the WD is favorable in most cases.

Keywords: Whipple's disease, *Tropheryma whippelii*, joint damage, endocarditis, antibiotic therapy

Введение

Болезнь Уиппла (БУ) — редкое хроническое системное заболевание инфекционной этиологии. Оно было впервые описано в 1907 г. американским патологом George Hoyt Whipple как секционное наблюдение 36-летнего больного, врача по профессии, страдавшего в течение 5 лет лихорадкой, артритом, стойким и упорным кашлем, диареей и прогрессирующим похуданием. При вскрытии обращали на себя внимание выраженное увеличение мезентеральных лимфатических узлов и полисерозит. В кишечнике и лимфоузлах выявлены множественные отложения липидов и большое число макрофагов с аргирофильными палочкообразными структурами. Уиппл рассматривал нарушение метаболизма липидов как наиболее вероятную причину болезни и предложил термин «интестинальная липодистрофия». В то

же время он не исключал и инфекционную этиологию заболевания [1].

Примечательно, что впоследствии Дж. Уиппл к данному заболеванию не обращался и занялся разработкой проблем лечения и профилактики пернициозной анемии, за что в 1934 г. стал одним из первых в США лауреатом Нобелевской премии. Однако его имя до сих пор тесно ассоциируется с описанным им заболеванием — БУ.

Этиология и патогенез

В своем оригинальном описании случая Уиппл указывал на сходство палочковидных микробов, найденных им в собственной пластинке 12-перстной кишки, с бледной спирохетой. В то время инфекционная этиология болезни упорно оспаривалась оппонентами по причине её несоответствия постулатам Коха. Однако, начиная с середины XX века, постепенно накапливались факты, свидетельствующие в пользу бактериальной этиологии заболевания. В 1949 г. В. Black-Schaffer показал, что в биоптатах лимфоузлов и

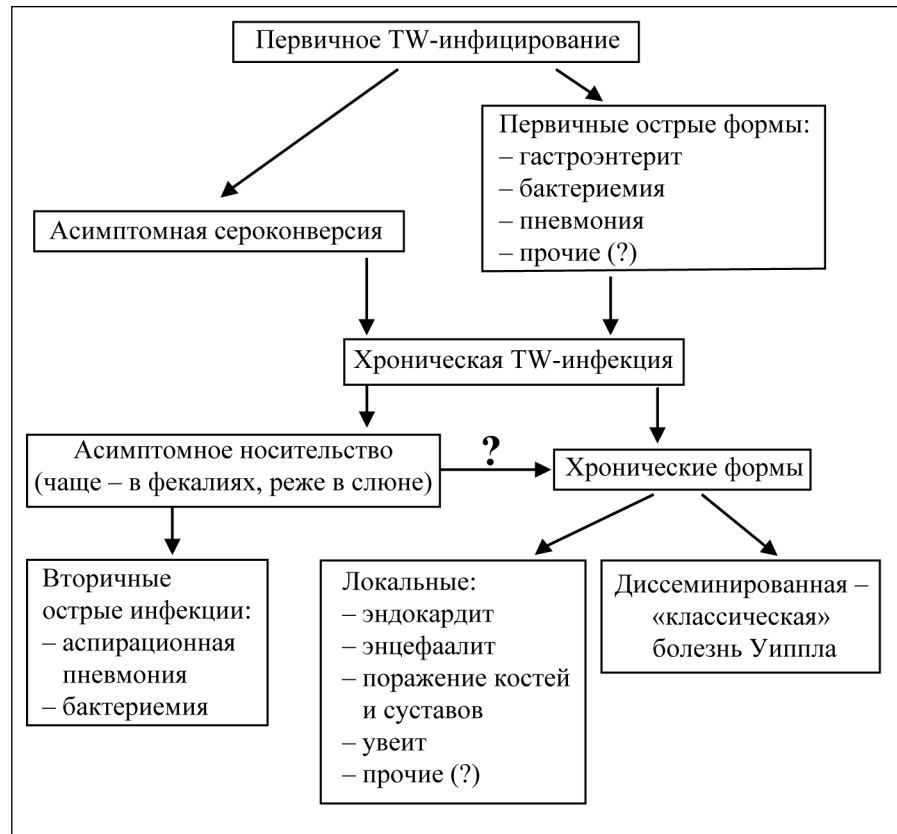
© Б. С. Белов, 2018

Адрес для корреспонденции: 115522 Москва, Каширское шоссе д. 34А. НИИ ревматологии, Москва

тонкого кишечника у пациентов с БУ содержатся PAS-(periodic acid Schiff)-позитивные макрофаги, содержащие гликопротеин или мукополисахариды [2]. Через три года появилось первое описание успешного применения хлорамфеникола у больного БУ с быстрым обратным развитием клинической симптоматики и патоморфологических признаков. В 1961 г. J. Gardley и T. Hendrix выявили палочкообразные тельца в цитоплазме макрофагов при электронной микроскопии, тем самым подтвердив бактериальную природу заболевания [3]. Но только в работах последних 20 лет [4–6] при использовании аксенических (т.е. не содержащих других бактерий) питательных сред, а также с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) из инфицированных тканей пациентов была выделена грамположительная бацилла, получившая название *Tropheryma whippelii* (от греческого trophe — питание, егута — барьер). По своим филогенетическим данным *T.whippelii* (TW) принадлежит к актиномицетам, имеет размеры 0,2×2,0 мкм, трёхслойную клеточную стенку, единственную круговую хромосому и небольшой размер генома (925 кД). Среднее время генерации TW составляет 18 сут, что наряду с потребностью в аксенических средах может снижать значимость рутинной культуральной диагностики в клинической практике [7]. В настоящее время описано более 80 генотипов TW [8]. Предполагается, что патогенными могут быть не все, а строго определённые штаммы возбудителя.

TW относится к убиквитарным (повсеместно распространённым) бактериям-комменсалам. Её выделяют из фекалий здоровых носителей в 1,5–7% случаев, а среди персонала городских очистных сооружений — в 12–25% [9–11]. По данным популяционного исследования, выполненного в Сенегале, этот показатель составил 31,2% [12]. Частота выявления IgG-антител к TW, определённых методом Western blot, среди взрослых здоровых лиц колеблется от 50 до 70% в зависимости от географического региона [12–14].

Полагают, что первичное инфицирование происходит фекально-оральным путём в раннем



Основные клинические формы TW-инфекции

детстве и протекает асимптомно или в виде одной из острых форм, описанных французскими авторами [15] (рисунок). При наличии определённого иммунологического дефекта после длительного периода (иногда — несколько десятилетий) TW-персистенции развиваются локальные хронические формы или происходит генерализация процесса с классической симптоматикой БУ [16]. Наряду с генерализацией инфекции в патогенезе заболевания большую роль играют иммунологические нарушения, в частности снижение Т-клеточного соотношения CD4/CD8 и экспрессии CD11, уменьшение продукции интерлейкина-12 и гамма-интерферона. Параметры гуморального иммунитета изменяются мало. Предполагаемый иммунологический дефект имеет высокую специфичность по отношению к TW, т. к. у больных с БУ другие инфекции развиваются не чаще, чем в популяции. Накопление и размножение TW в макрофагах индуцирует апоптоз клеток макроорганизма, что ведёт к диссеминации бактерий. Кроме того, процессу репликации способствует повышение содержания IL-16, который вырабатывается макрофагами в ответ на инфекцию и подавляет лизис возбудителя в фагосомах. Выявлена прямая корреляция сывороточного содержания IL-16 с активностью болезни. Блокирование

указанного цитокина способствует бактериальному клиренсу [17].

Таким образом, при сохранной функции фагоцитоза макрофаги утрачивают способность к лизису TW, а также не отвечают на присутствие микробных антигенов выработкой специфических антител, либо данный ответ выражен очень слабо. Последнее, вероятно, связано с гликолизацией антигенных структур возбудителя [18].

Накапливаются данные, свидетельствующие об определённом значении иммуносупрессии в патогенезе БУ. В настоящее время описано около 50 случаев развития БУ (включая эндокардит) у пациентов, получавших ингибиторы фактора некроза опухоли- α по поводу спондилоартропатий и атипично протекавшего ревматоидного артрита [19, 20].

Эпидемиология

БУ относится к редким заболеваниям с предполагаемой частотой 0,5–1 случай на 1 млн населения. Мужчины поражаются почти в 8 раз чаще женщин преимущественно в возрасте 40–49 лет. [17]. Наиболее часто заболевают представители белой расы — жители Центральной Европы (55%) и Северной Америки (38%). Единичные случаи болезни описаны среди испанцев, негров, индусов и представителей монголоидной расы. Преобладают жители сельской местности, чаще — фермеры. Имеются сообщения о семейных случаях БУ [13].

Клиническая картина

Мультисистемность поражения при БУ обуславливает чрезвычайную вариабельность клинической симптоматики.

Суставной синдром при БУ является наиболее ранним и очень часто (75%) единственным признаком, предшествующим развернутой клинической картине болезни в течение, в среднем, 6,7 лет. У большинства больных отмечается приступообразный мигрирующий олиго- или полиартрит (реже — моноартрит), длящийся от нескольких часов до нескольких дней и отличающийся различной частотой обострений и полной ремиссией между приступами. Чаще поражаются коленные (50–62%), лучезапястные и голеностопные (40–45%) суставы. Как правило, артрит неэрозивный, протекает без развития деформаций, ревматоидный фактор не выявляется. Возможно развитие подкожных узелков, сходных с ревматоидными, однако при гистологическом исследовании в них выявлялись PAS-позитивные макрофаги, что подтверждало диагноз БУ. У отдельных больных отмечаются деструктивные изменения суставов. Описаны случаи формирования анкилоза лучезапястных и голеностопных суставов, а также гипертрофическая остеоартропа-

тия. Спондилоартропатии, как правило, сочетаются с периферическим артритом. Возможно развитие одно- или двухстороннего сакроилеита с дальнейшим анкилозированием крестцово-подвздошных сочленений. Имеются описания развития дерматомиозита и иных миопатий.

В развёрнутой стадии заболевания примерно в 50% случаев наблюдается лихорадочный синдром, сопровождающийся ознобом с последующим профузным потоотделением, а также генерализованная лимфаденопатия. Отмечается сухость кожи и её диффузная гиперпигментация, преимущественно, на открытых участках тела (но не на слизистых!), хейлит, глоссит, ломкость ногтей, аллопеция, отёки. Описано развитие пурпуры (без тромбоцитопении).

Желудочно-кишечные расстройства являются классическими признаками заболевания. У 60–85% больных наблюдается диарея (чаще — стеаторея), сопровождающаяся болью в животе (60–81%), синдром мальабсорбции и прогрессирующая потеря массы тела (79–93%). Это приводит к полигиповитаминозу и разнообразным нарушениям водно-электролитного обмена.

Поражение органов дыхания (плевральный выпот, пневмонит, гранулематозная медиастинальная лимфаденопатия) наблюдается в 30–40% случаев.

У 30–55% больных наблюдаются клинические симптомы поражения сердечно-сосудистой системы. Поражается любая из оболочек сердца, однако наиболее часто развивается эндокардит. По данным германских исследователей, TW как причина эндокардита по частоте (6,3%) занимала 4-е место после наиболее широко распространённых возбудителей этой болезни — стрептококков, стафилококков и энтерококков (36,5, 36,5 и 11,8%, соответственно) [21]. Выявлен ряд особенностей, присущих TW-эндокардиту, по сравнению с таковым, вызванным другими возбудителями: отсутствие предшествовавшей клапанной патологии сердца (69%), нормальная температура тела (61–75%), отрицательная гемокультура (100%), позитивные Эхо-КГ-данные отмечаются только в 75–79% случаев. [22]. Описано более 20 случаев эндокардита при БУ без гастроэнтерологической симптоматики [23]. Нередко развивается гипотензия, артериальные эмболии различной локализации и прогрессирующая застойная сердечная недостаточность.

Поражение ЦНС встречается в 10–50% случаев. Наиболее частые симптомы — деменция, супрануклеарная офальмоплегия и миоклония, которые встречаются в 25–50% случаев среди больных с патологией ЦНС при БУ. Также описаны эпилептические припадки, церебральная атаксия, инсомния. Сочетание медленного плавного конвергентно-дивергентного маятникооб-

разного нистагма с синхронным сокращением жевательных мышц (oculomasticatory myorhythmia) или лицевых мышц (oculofacioskeletal myorhythmia) наблюдаются у 20% больных с вовлечением ЦНС и, несмотря на относительную редкость, рассматриваются как характерные для БУ [24].

Наиболее распространёнными формами поражения глаз при БУ являются увеит и офтальмоплегия. Встречается диффузный хориоретинит, глаукома, кератит.

В 10—15% случаев выявляют гепатомегалию, спленомегалию, асцит. Патология со стороны мочевыделительной и эндокринной систем встречается крайне редко.

Принимая во внимание возможность изолированного поражения органов или систем (артрит, эндокардит, патология ЦНС и т.д.) без «классических» проявлений БУ, предлагается рассматривать указанные клинические ситуации как отдельные формы хронической ТW-инфекции, как упоминалось выше (см. рисунок) [25—27].

Диагностика

Учитывая полиморфизм клинических проявлений, диагноз БУ весьма часто вызывает существенные трудности. Наибольшие диагностические проблемы возникают у больных с внекишечными формами болезни [28]. По данным отечественных авторов, диагноз БУ устанавливается, в среднем, спустя 6 лет после первых клинических проявлений [29].

Какие-либо специфические изменения лабораторных показателей не наблюдаются. У больных значительно повышены СОЭ, а также число лейкоцитов и тромбоцитов, СРБ, снижен уровень гемоглобина, железа, кальция, калия, белка, альбуминов, холестерина (как следствие мальабсорбции). Отмечаются положительные результаты функциональных проб с ксилозой, нагрузкой глюкозой и др.

Важная роль в диагностике БУ отводится морфологическому исследованию слизистой оболочки тонкой кишки [30]. При эндоскопии выявляют отёк, гиперемию, и резкое утолщение складок кишки по причине лимфостазы, а также неровность рельефа слизистой из-за многочисленных желтовато-белых бляшек. Световая микроскопия биоптатов, полученных из тощей и 12-перстной кишки нелеченных больных с БУ, демонстрирует булавовидные ворсинки, содержащие большое количество лимфы. Часто отмечают внутри- и внеклеточное накопление жира в слизистой оболочке тонкой кишки. В собственной пластинке слизистой оболочки наблюдается большое количество пенистых макрофагов, содержащих крупнозернистые цитоплазматические включения с PAS-положительной реакцией. Эти PAS-положительные макрофаги могут также обнару-

живаться в периферических или брыжеечных лимфоузлах, печени, селезёнке, сердечных клапанах, мозговой ткани, стекловидном теле и синовиальной оболочке.

Считают, что PAS-положительное вещество — это продукты распада фагоцитированных бактерий. Выявление PAS-положительных включений в цитоплазме макрофагов не является патогномоничным для БУ (как полагали ранее), а может иметь место при других инфекциях, вызванных комплексом *M.avium-intracellulare* (у ВИЧ-инфицированных больных), коринебактериозе, гистоплазмозе, микозах, саркоидозе. В то же время PAS-реакция имеет чрезвычайно важное дифференциально-диагностическое значение, в частности, при разграничении БУ с первичной (болезнь Вальдмана) и приобретёнными лимфангиэктазиями.

Электронная микроскопия позволяет выявить в поражённых тканях палочковидные бактерии, локализующиеся как внутриклеточно, так и в межклеточном пространстве.

Несоблюдение правил проведения биопсии (взятие материала из верхней, а не из нижней части 12-перстной кишки) и предшествовавшая антимикробная терапия могут повлечь за собой отрицательные результаты патоморфологического исследования даже при характерной для БУ клинической картине. В подобных ситуациях особенно необходимой представляется ПЦР-диагностика. Использование праймеров, комплементарных консервативным участкам рибосомных генов (16S- и 23S-РНК), и дальнейшее определение полной нуклеотидной последовательности (секвенирование) амплифицированной ДНК позволяют с высокой степенью вероятности идентифицировать ТW. Для выполнения ПЦР могут быть использованы биоптаты слизистой 12-перстной кишки, лимфоузлов, сердечных клапанов (удалённых во время кардиохирургической операции), а также пунктаты синовиальной жидкости или ликвора. Несмотря на высокую чувствительность и специфичность ПЦР, существует определённая вероятность получения как ложноположительных, так и ложноотрицательных результатов. Поэтому залогом успешной диагностики БУ (как и любого другого заболевания) является комплексная оценка клинической картины и данных дополнительных исследований [31].

Весьма перспективным представляется использование в диагностике БУ метода флуоресцентной гибридизации *in situ*, позволяющего дифференцировать активную инфекцию от ТW-носительства. Однако в настоящее время выполнение данного исследования доступно только в высокоспециализированных лабораториях [16].

Лечение

В доантибиотическую эру БУ заканчивалась летально в 100% наблюдений. Поиски оптималь-

Схемы лечения БУ [7, 27, 37]

1.	Стартовая схема Цефтриаксон 2 г в/в или меропенем 3 г в/в или бензилпенициллин (пенициллин G) 12 млн ЕД /сут плюс стрептомицин 1 г в/в 1 раз в день	в течение 14 дней
2.	Поддерживающая схема ко-тримоксазол по 1 таблетке 2 раза в день внутрь в течение 1—2 лет или доксициклин 200 мг/сут внутрь плюс гидроксихлорохин 200 мг 3 раза в день внутрь плюс (см. текст!) сульфадиазин 2—4 г/сут	в течение 1 года

ных схем антибактериальной терапии продолжают до сегодняшнего дня. К сожалению, редкая встречаемость БУ, а также проблемы, связанные с культивированием TW, служат трудно преодолимым препятствием для проведения рандомизированных клинических исследований.

До 1980 гг. весьма популярной была комбинация пенициллина и стрептомицина, назначавшаяся в течение 2 нед, с последующим длительным приёмом тетрациклина. В дальнейшем было установлено, что основной причиной смерти пациентов, принимавших тетрациклин, были неврологические осложнения, развивавшиеся во время рецидивов. Данное обстоятельство побудило клиницистов к применению ко-тримоксазола — комбинированного препарата, 1 таблетка которого содержит 80 мг триметоприма и 400 мг сульфаметоксазола. Препарат, хорошо проникает через гематоэнцефалический барьер и достигает терапевтических концентраций в ликворе даже при неизменённых мозговых оболочках. По сводным данным, объединившим результаты 4 небольших исследований, минимальная частота рецидивов (4,35%) была среди больных, пролеченных ко-тримоксазолом. В группах пациентов, получавших пенициллин со стрептомицином, или тетрациклин, эти показатели составляли 11,8 и 32,2%, соответственно [32].

Лечение БУ следует начинать с 2-недельного парентерального введения бактерицидных антибиотиков, обладающих хорошей пенетрацией в спинномозговую жидкость. При наличии эндокардита или поражения ЦНС продолжительность стартовой схемы составляет 4 нед. В дальнейшем назначают длительное (1—2 года) поддерживающее лечение ко-тримоксазолом. Однако в работах последних лет отмечается нарастание резистентности TW к ко-тримоксазолу. Последнее объясняют мутациями бактериального гена, кодирующего выработку синтетазы, являющейся основной мишенью для сульфаметоксазола [33]. В связи с этим в качестве альтернативы рекомендуется комбинация доксициклина с гидроксихлорохином. Показано, что добавление последнего повышает активность доксициклина *in vitro* путём увеличения pH в фаголизосомах макрофагов [34]. При наличии неврологической симптоматики к указанной схеме целесообразно добавить сульфадиазин в высоких дозах (таблица).

Многие авторы отмечают выраженную положительную динамику при своевременно начатой и активной терапии. Так, лихорадка и диарея купируются к концу 1-й недели лечения, суставной синдром полностью регрессирует в течение 1-го мес. В эти же сроки отмечается явное улучшение общего самочувствия, прибавка массы тела. Обратное развитие неврологической симптоматики происходит значительно медленнее.

Вспомогательное значение имеет применение глюкокортикоидов (преднизолон 30—40 мг в сутки с постепенным снижением дозы вплоть до полной отмены).

При необходимости в план лечения включают мероприятия, направленные на ликвидацию последствий синдрома мальабсорбции (коррекция метаболических нарушений, водно-электролитного обмена, восполнение дефицита железа и витаминов и т.д.).

Длительность антибактериальной терапии должна составлять не менее 1 года. Контроль за лечением осуществляют с помощью повторных морфологических исследований биоптатов тонкого кишечника либо ПЦР-методик. При отсутствии ответа на антибактериальную терапию представляется перспективным применение гамма-интерферона.

На фоне проводимой (и первоначально эффективной) антибактериальной терапии в 10% случаев наблюдается развитие синдрома иммунной реконституции. Он более характерен для больных, у которых в качестве первоначальных диагнозов фигурировали анкилозирующий спондилит или ревматоидный артрит, в связи с чем этим пациентам назначали активное иммуносупрессивное лечение, в т.ч. глюкокортикоиды, цитостатики и ингибиторы фактора некроза опухоли- α . Основные проявления данного синдрома включают лихорадку, артрит, плеврит, узловатую эритему, воспалительную орбитопатию, перфорацию кишечника и гипоталамический синдром. В подобных ситуациях после исключения других системных инфекций рекомендуют назначение преднизолона в суточной дозе 1,5 мг/кг массы тела [35].

Прогноз БУ в большинстве случаев благоприятный. При возникновении рецидивов (8—35%) терапия аналогична вышеуказанной.

Наиболее неблагоприятными в прогностическом плане считают неврологические осложне-

ния, возникающие во время рецидивов, как следствие первично нераспознанной локализации инфекции или неадекватной терапии.

Вероятность развития рецидивов существует даже при верифицированной эрадикации возбудителя, достигнутой в результате адекватной терапии первого эпизода болезни, что свидетельствует о стойко высокой восприимчивости этих пациентов к системной ТW-инфекции. Данное обстоятельство поднимает вопросы пожизненной профилактики БУ с применением доксициклина [25, 36].

ЛИТЕРАТУРА

1. Whipple G.H. A hitherto undescribed disease characterized anatomically by deposits of fat and fatty acids in the intestinal mesenteric lymphatic issues. John Hopkins Hospital Bulletin 1907; 18: 382—391.
2. Black-Schaffer B. The tinctorial demonstration of a glycoprotein in Whipple's disease. Proc Soc Exp Biol Med 1949; 72: 225—227.
3. Gardley J., Hendrix T.R. Combined electron and light microscopy in Whipple's disease: demonstration of «bacillary bones» in the intestine. Bull Johns Hopkins Hosp 1961; 10: 80—98.
4. Wilson K.H., Blitchington R., Frothingham R., Wilson J.A. Phylogeny of the Whipple's disease — associated bacterium. Lancet 1991; 338: 474—475.
5. Relman D.A., Schmidt T.M., Mac Dermott R.P., Falkow S. Identification of the uncultured bacillus of the Whipple's disease. New Engl J Med 1992; 327: 293—301.
6. Raoult D., Birg M.L., La Scola B. et al. Cultivation of the bacillus of Whipple's disease. New Engl J Med 2000; 342: 620—625.
7. Dolmans R.A., Boel C.H., Lacle M.M., Kusters J.G. Clinical Manifestations, Treatment, and Diagnosis of *Tropheryma whipplei* Infections. Clin Microbiol Rev 2017; 30 (2): 529—555.
8. Rollin D.C., Paddock C.D., Pritt B.S. et al. Genotypic analysis of *Tropheryma whipplei* from patients with Whipple disease in the Americas. J Clin Pathol 2017; 70 (10): 891—895.
9. Fenollar F., Puechal X., Raoult D. Whipple's disease New Engl J Med 2007; 356 (1): 55—66.
10. Schöniger-Hekele M., Petermann D., Weber B., Müller C. *Tropheryma whipplei* in the environment: survey of sewage plant influents and sewage plant workers. Appl Environ Microbiol 2007; 73 (6): 2033—2035.
11. Fenollar F., Trani M., Davoust B. et al. Prevalence of asymptomatic *Tropheryma whipplei* carriage among humans and nonhuman primates. J Infect Dis 2008; 197 (6): 880—887.
12. Keita A.K., Bassene H., Tall A. et al. *Tropheryma whipplei*: a common bacterium in rural Senegal. PLoS Negl Trop Dis 2011; 5 (12): e1403.
13. Fenollar F., Keita A.K., Buffet S., Raoult D. Intrafamilial circulation of *Tropheryma whipplei*, France. Emerg Infect Dis 2012; 18 (6): 949—955.
14. Fenollar F., Amphoux B., Raoult D. A paradoxical *Tropheryma whipplei* western blot differentiates patients with whipple disease from asymptomatic carriers. Clin Infect Dis 2009; 49 (5): 717—723.
15. Lagier J.C., Fenollar F., Raoult D. Acute infections caused by *Tropheryma whipplei*. Future Microbiol 2017; 12: 247—254.
16. Moos V., Schneider T. Changing paradigms in Whipple's disease and infection with *Tropheryma whipplei*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2011; 30 (10): 1151—1158.
17. Puechal X. Whipple's disease. Ann Rheum Dis 2013; 72 (6): 797—803.
18. Bonhomme C.J., Renesto P., Desnues B. et al. *Tropheryma whipplei* glycosylation in the pathophysiologic profile of Whipple's disease. J Infect Dis 2009; 199 (7): 1043—1052.
19. Marth T. Systematic review: Whipple's disease (*Tropheryma whipplei* infection) and its unmasking by tumour necrosis factor inhibitors. Aliment Pharmacol Ther 2015; 41 (8): 709—724.
20. Glaser C., Rieg S., Wiech T. et al. Whipple's disease mimicking rheumatoid arthritis can cause misdiagnosis and treatment failure. Orphanet J Rare Dis 2017; 12 (1): 99.
21. Geissdérfer W., Moos V., Moter A. et al. High frequency of *Tropheryma whipplei* in culture-negative endocarditis. J Clin Microbiol 2012; 50 (2): 216—222.
22. Fenollar F., C?lard M., Lagier J.C. et al. *Tropheryma whipplei* endocarditis. Emerg Infect Dis 2013; 19 (11): 1721—1730.
23. Lagier J.C., Lepidi H., Raoult D., Fenollar F. Systemic *Tropheryma whipplei*: clinical presentation of 142 patients with infections diagnosed or confirmed in a reference center. Medicine (Baltimore) 2010; 89 (5): 337—345.
24. El-Abassi R., Soliman M.Y., Williams F., England J.D. Whipple's disease. J Neurol Sci 2017; 377: 197—206.
25. Fenollar F., Lagier J.C., Raoult D. *Tropheryma whipplei* and Whipple's disease. J Infect. 2014; 69 (2): 103—112.
26. Marth T. *Tropheryma whipplei*, Immunosuppression and Whipple's Disease: From a Low-Pathogenic, Environmental Infectious Organism to a Rare, Multifaceted Inflammatory Complex. Dig Dis 2015; 33 (2): 190—199.
27. Marth T., Moos V., Müller C. et al. *Tropheryma whipplei* infection and Whipple's disease. Lancet Infect Dis 2016 Mar; 16 (3): e13—22.
28. Puechal X. Whipple's arthritis. Joint Bone Spine 2016 Dec; 83 (6): 631—635.
29. Логинов А.С., Парфенов А.И., Полева Н.И. Болезнь Уиппла: результаты длительного наблюдения. Тер арх 1998; 9: 35—41.
30. Günther U., Moos V., Offenmüller G. et al. Gastrointestinal diagnosis of classical Whipple disease: clinical, endoscopic, and histopathologic features in 191 patients. Medicine (Baltimore) 2015; 94 (15): e714.
31. Hujoel I.A., Johnson D.H., Lebwohl B. et al. *Tropheryma whipplei* Infection (Whipple Disease) in the USA. Dig Dis Sci 2018 Mar 23. doi: 10.1007/s10620-018-5033-4.
32. Misbah S.A., Mapstone N.P. Whipple's disease revisited. J Clin Pathol 2000; 53: 750—755.
33. Bakkali N., Fenollar F., Biswas S. et al. Acquired resistance to trimethoprim-sulfamethoxazole during Whipple disease and expression of the causative target gene. J Infect Dis 2008 Jul 1; 198 (1): 101.
34. Van La M., Barbry P., Raoult D., Renesto P. Molecular basis of *Tropheryma whipplei* doxycycline susceptibility examined by transcriptional profiling. J Antimicrob Chemother 2007; 59 (3): 370—377.
35. Feurle G.E., Moos V., Schinnerling K. et al. The immune reconstitution inflammatory syndrome in Whipple disease: a cohort study. Ann Intern Med 2010; 153 (11): 710—717.
36. Lagier J.C., Fenollar F., Lepidi H., Raoult D. Evidence of lifetime susceptibility to *Tropheryma whipplei* in patients with Whipple's disease. J Antimicrob Chemother 2011; 66 (5): 1188—1189.
37. Marth T., Schneider T. Whipple's disease. In: Mandell Douglas and Bennet's Principles and Practice of Infectious Diseases. / Eds. J.E. Bennet, R. Dolin, M.J. Blaser. Elsevier, Philadelphia, 2015; 2418—2424.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Белов Борис Сергеевич — д.м.н., зав. лабораторией изучения роли инфекций при ревматических заболеваниях, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В. А. Насоновой», Москва

Бактериальные токсин-антитоксиновые системы и новые стратегии создания антибактериальных препаратов

*Б. Г. АНДРЮКОВ^{1,2}, Н. Н. БЕСЕДНОВА¹, Т. С. ЗАПОРОЖЕЦ¹, М. П. БЫНИНА¹

¹ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова, Владивосток

² Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

Bacterial Toxin-Antitoxin Systems and New Strategies for Creating Antibacterial Preparations

B. G. ANDRYUKOV^{1,2}, N. N. BESEDNOVA¹, T. S. ZAPORozHETS¹, M. P. BYNINA¹

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

² Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia

Интенсивные исследования бактериальных токсин-антитоксиновых систем (ТАС) в последние десятилетия позволили значительно расширить и углубить знания о них. По мере открытия модулей ТАС вначале в плазидах, а в дальнейшем в хромосомах бактерий, и последующего изучения специфической регуляции активации и функций происходила трансформация отношения к ним как от просто любопытных генетических объектов до одного из важнейших инструментов, играющих решающую роль в бактериальной защите и адаптации к неблагоприятным условиям роста, в том числе, микробной персистенции и хронизации инфекционных процессов, формировании антибиотикорезистентности. Стало понятно, что эти небольшие генетические модули, распространённые почти повсеместно в геномах бактерий, обладают высоким потенциалом для биотехнологических и биомедицинских инновационных исследований, а также перспективны для развития принципиально новых антибактериальных технологий. С учётом ведущей роли ТАС в выживании патогенных бактерий и развитии инфекционного процесса, современные технологии создания альтернативных антибактериальных стратегий рассматривают эти системы в качестве перспективных мишеней для разработки новых антимикробных препаратов.

Ключевые слова: токсин-антитоксиновые системы, антибактериальная резистентность, антибиотикотерапия, альтернативы.

Intensive research of bacterial toxin-antitoxin systems (TAS) in recent decades has significantly expanded and deepened knowledge about them. As TAS modules were first discovered in the plasmids and later in the chromosomes of bacteria, and after subsequent study of their specific regulation of activation and functions, their image has changed from simple curious genetic objects to one of the most important tools. They play a decisive role in bacterial protection and adaptation to unfavorable growth conditions, including microbial persistence and chronic infection processes, formation of antibiotic resistance. It became clear that these small genetic modules, which can be found almost everywhere in the bacterial genomes, have a high potential for biotechnological and biomedical innovation research, as well as the prospect of developing fundamentally new antibacterial technologies. Given the leading role of TAS for the survival of pathogenic bacteria and the development of the infectious process, modern technologies for creating alternative antibacterial strategies consider these systems to be promising targets for the development of new antimicrobial agents.

Keywords: toxin-antitoxin system, antibacterial resistance, antibiotic therapy, alternatives.

Введение

Современные достижения в области геномного секвенирования и биоинформатики нового поколения выявили высокую распространённость бактериальных токсин-антитоксиновых систем (ТАС), что послужило мощным стимулом для активизации глубоких исследований этих уникальных белковых структур [1–4]. Гены, кодирующие ТАС, были впервые идентифицированы в 80-х годах XX в. Ogura T. и Hiraga S. (1983) на

мини-F-плазмиде *Escherichia coli* как важные генетические элементы, ответственные за поддержание и стабильность плазмиды в дочерних клетках [5–7]. Бактериальные клетки были «зависимыми» от присутствия этих плазмид, и поэтому ТАС называли «модулями зависимости» [7–9].

Дальнейшие исследования [2, 10–13] показали, что плазмидные гены ТАС играют важнейшую роль не только в кодировании систем постсегрегационного убийства дочерних клеток, потерявших плазмиду, но и в формировании антибиотикорезистентности. Установлено, что они принимают активное участие в образовании биоплёнок, могут переноситься горизонтально, придавая патоген-

© Коллектив авторов, 2018

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

ным бактериям множественную лекарственную устойчивость и вирулентность [2, 13–16].

В течение последнего десятилетия были охарактеризованы структуры и функции большого количества бактериальных ТАС. Впоследствии гены, кодирующие ТАС, были обнаружены и на хромосомах (впервые идентифицированы в *Escherichia coli*) [5, 6]. Они активируются в ответ на различные стрессовые условия роста бактерий, такие как дефицит питательных веществ, действие антибиотиков, бактериофагов и компонентов иммунной защиты, окислительный стресс и высокая температура [4, 13].

Например, установлено, что хромосомный генетический модуль ТАС *mazEF*, кодирующий антитоксин *mazE* и токсин *mazF*, играет главную роль в опосредовании запрограммированной гибели бактериальных клеток в условиях голодания и при дефиците питательных веществ [10, 11]. В последующие годы было обнаружено, что эти системы выполняют разнообразные клеточные функции: ингибирование синтеза белка, репликация ДНК в ответ на возникновение неблагоприятных условий роста, защита бактерий от бактериофагов (абортная инфекция) [1–3, 17].

Цель обзора — на основе анализа результатов последних фундаментальных исследований о структурах и функциях ТАС оценить их потенциал для биотехнологических и биомедицинских инновационных разработок, развития принципиально новых антибактериальных стратегий.

Генетические модули ТАС. Известно, что генетические модули, ответственные за экспрессию ТАС, содержат пару родственных генов. Эти модули кодируют стабильный токсин, влияющий на жизненно важные процессы в бактериальной клетке, такие как транскрипция, трансляция, репликация ДНК и мембранный гомеостаз, а также лабильный антитоксин, ингибирующий эти эффекты в благоприятных условиях роста путём связывания токсина и образования биологически неактивного комплекса ТАС [10, 11, 14] (рис. 1).

Ранее исследователи ТАС позиционировали их исключительно как клеточные суицидальные факторы [5, 6], однако в настоящее время получило широкое признание ТАС как стресс-реализующей системы. При возникновении неблагоприятных условий для роста бактерий (экологические стрессы, воздействие антибактериальных препара-

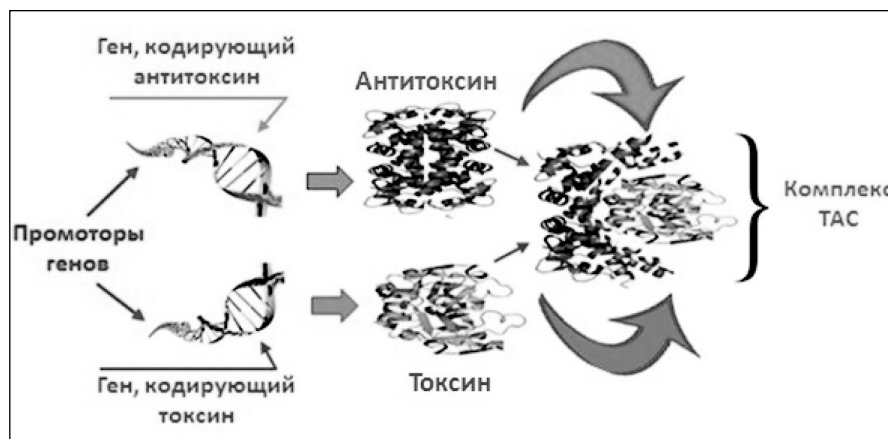


Рис. 1. Образование биологически инертного комплекса ТАС (рис. авторов)

тов) происходит резкое падение уровня нестабильных белков-антитоксинов, главным образом вследствие их деградации цитоплазматическими протеазами, что приводит к активации освобожденного токсина. Белки-токсины, классифицируемые по их клеточным мишеням, влияют на многие различные и физиологически важные клеточные процессы. В частности, некоторые из них, такие как RelE и VapC, ингибируют трансляцию белков путём разрушения РНК, тогда как другие, например, MazF и ToxN, нацелены на клеточную репликацию или целостность мембраны. Эти эффекты, в свою очередь, вызывают либо гибель клеток, либо клеточный стаз [1, 3, 14, 17].

Геномный анализ токсинов различных типов ТАС с последующей экспериментальной валидацией выявили высокий структурный консерватизм, несмотря на различие во внутриклеточных мишенях и механизмах действия [14, 16].

Таким образом, с точки зрения значения для бактерий, роль модулей ТАС в инфекционном процессе может быть как положительной (гибель бактериальных клеток или потеря генетического материала), так и отрицательной (формирование устойчивой антибиотикорезистентности, формирование биоплёнки и персистенция бактерий) [18, 19].

Повсеместное распространение устойчивости к антибиотикам у бактерий стимулирует поиск альтернативных антибактериальных стратегий. Одной из возможных альтернатив является индукция преждевременной активации токсина, что может быть использовано для уничтожения бактериальных клеток. Однако практическая реализация этой антибактериальной стратегии требует понимания механизмов действия компонентов ТАС, исследование их функций.

Так, в исследованиях, проведённых В. Pimentel et al [19] была обнаружена связь ингибирования репликации плазмид R1 *E.coli* и последующего бактерицидного и бактериостатического эффекта вследствие разрушения комплекса ТАС Kid-Kis.

Кроме того, лишённые плазмид бактериальные клетки теряли способность к кодированию группы ферментов β -лактамаз, являющихся ключевыми инструментами, направленными на борьбу с β -лактамами антибиотиками (пенициллины, цефалоспорины и др.) — наиболее широко используемым классом веществ для антимикробной химиотерапии [19]. Резистентность к указанной группе антибиотиков в наши дни является основной клинической проблемой во всем мире [13, 14, 19].

Ранее было показано, что плазмиды, несущие гены, придающие устойчивость энтерококков к ванкомицину, также кодируют и консервативные гомологичные комплексы TAC Kid и Kis [20]. Следовательно, их фармакологическая активация также перспективна в плане альтернативной стратегии индивидуальной терапии против ванкомицинорезистентных энтерококков [14, 19].

TAC и персистирующие клетки. Исследования, проведённые в последнее десятилетие, привели к познанию множества процессов, способствующих сохранению бактерий. Учитывая физиологическую сложность бактериальной клетки, представляется правдоподобным, что антибактериальная резистентность может быть результатом модуляции различных клеточных процессов, связанных с толерантностью. В связи с этим, другим механизмом формирования антибактериальной резистентности, имеющим зависимость от модулей TAC, является образование устойчивых к антибиотикам персистирующих (дремлющих) клеток [21—25]. Эти открытия стали основной причиной возрождения интереса к клеткам-персистерам, которые были впервые описаны J. W. Bigger ещё в середине прошлого века [26].

Открытие в середине XX в. пенициллина и других эффективных антибиотиков и их активное использование против инфекционных заболеваний ознаменовало начало новой антибактериальной эры. Появилась уверенность в том, что многие серьёзные инфекции будут легко излечиваться, и вскоре будут полностью ликвидированы. В итоге в течение нескольких десятилетий активность исследований по разработке новых природных антибиотиков постепенно снижалась. Однако вскоре стало очевидным снижение эффективности антибиотикотерапии, что долгое время связывали с быстрым развитием у бактерий лекарственной устойчивости к большинству известных антибиотиков, используемых с клиническими целями.

В наши дни, несмотря на широкий спектр применяемых антибактериальных препаратов, инфекционные заболевания остаются одной из ведущих причин человеческой смертности во всем мире. В значительной степени это связано с нарастающей антимикробной резистентностью патогенов и появлением устойчивых к традиционной химиотерапии микроорганизмов, что становится гло-

бальным вызовом и одной из основных проблем для общественного здравоохранения.

Развитие бактериальной резистентности к антибиотикам в течение длительного времени рассматривалось в качестве основной причины клинических неудач. Однако в последнее время были выявлены и менее очевидные факторы. Например, бактерии формируют клеточные капсулы и многоклеточные биоплёнки, которые способны защищать их от бактерицидных эффектов антибиотиков. Кроме того, были открыты и более сложные клеточные стратегии, с помощью которых бактериям удаётся уклониться от действия антибиотиков. Это стратегии связаны с тем, что популяции бактерий, чувствительных к данному антибиотику, почти всегда содержат медленно растущие или персистирующие клетки, устойчивые к данному антибактериальному препарату [27—29].

Эффективность антибактериального механизма действия большинства антибиотиков зависит от физиологического состояния бактерий — медленно растущие бактерии, как правило, менее чувствительны к антимикробным препаратам [28, 30], а на клетки-персистеры антибиотики обычно не влияют [28, 31, 32].

На рубеже XX и XXI вв. была высказана гипотеза, согласно которой в одной популяции бактерий могут быть несколько типов клеток-персистеров, каждый из которых имеет чёткие механизмы для уклонения от бактерицидных эффектов антибиотиков [33]. Успехи молекулярной биологии и генетики в изучении функционирования комплексов TAC позволили проверить эту гипотезу и помочь в выяснении механизмов формирования бактериальной персистенции в модели антибактериальной устойчивости. В персистирующей микробной клетке под действием токсинов подавляются ключевые клеточные процессы, такие как репликация ДНК и трансляция белка. Это ингибирование приводит к быстрой остановке роста и резкому снижению метаболической активности, формированию частичной или полной резистентности к антибиотикам, делает их устойчивыми к большинству антибактериальных средств [17, 22—25, 34]. После прекращения действия лекарственных препаратов дремлющие клетки вновь возвращаются в активное состояние. В результате бактериальная персистенция представляет собой гетерогенную популяцию фенотипически резистентных к антибиотикам и другим экологическим стрессам клеток [17, 34, 35]. Таким образом, бактериальная персистенция является серьёзным препятствием для эффективного лечения антибиотиками при многих инфекционных заболеваниях. При этом персистирующая клетка имеет физиологические отличия от антибиотикорезистентных мутантов, размножающихся в присутствии антибиотиков [21—23]. Для

понимания решающей роли ТАС в регуляции персистенции бактерий необходимо более детальное освещение структуры и функции этих систем.

Структура и функция ТАС. К настоящему времени охарактеризованы шесть типов ТАС в зависимости от характера антитоксина и способа взаимодействия токсина с антитоксином [3, 36–39] (рис. 2, 3). Во всех типах токсины представляют собой белки, тогда как антитоксины в системах ТАС типа I и III представляют собой молекулы РНК, а в системах ТАС II, IV–VI — белки. В системах типа I антитоксин подавляет активность белка токсина путём связывания мРНК, тогда как в системах типа II и III ТАС (рис. 2, а, б, в) токсинные белки блокируются прямым связыванием антитоксина с токсинами, соответственно [12, 15, 40]. В ТАС IV типа (рис. 3, а) белок антитоксина предотвращает активность токсина путём связывания с субстратом и, наконец, в системах типа V, антитоксинавая РНКазы вызывает специфическую деградацию мРНК токсина (рис. 3, б) [41, 42]. В сравнительно недавно открытом VI типе ТАС [43, 44] белок-токсин деградируется клеточными протеазами, а антитоксин связывается с белками скользящего зажима, являющимися компонентом ДНК-полимеразы (рис. 3, в) [45].

В зависимости от типа ТАС, активация входящего в них токсина способна привести к замедлению роста бактерий или полной остановке клеточного цикла, что часто наблюдается в неактивных персистирующих клетках [2, 23, 42, 46]. Гибель клеток, вызванная чрезмерной экспрессией токсина, может принести пользу всей бактериальной популяции, осо-

бенно в условиях ограниченных питательных ресурсов. При появлении благоприятных условий происходит экспрессия антитоксина, нейтрализующего вирулентность токсина, и бактерии-перси-

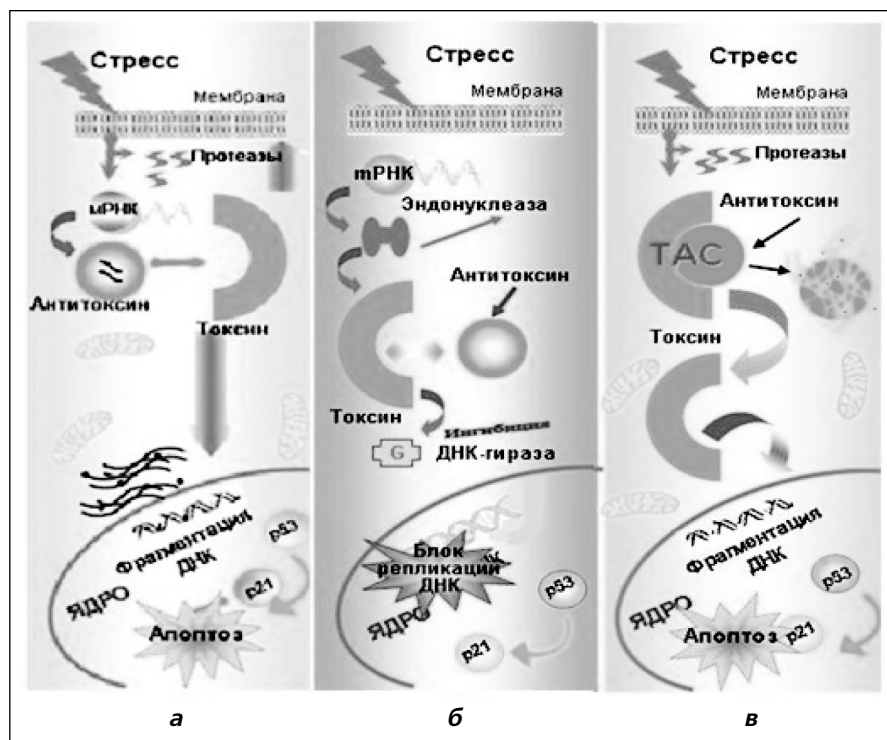


Рис. 2. Схема регуляторного механизма токсин-антитоксических систем (ТАС) I (а) [12], II (б) [15] и III (в) [40] типов (рис. авторов)

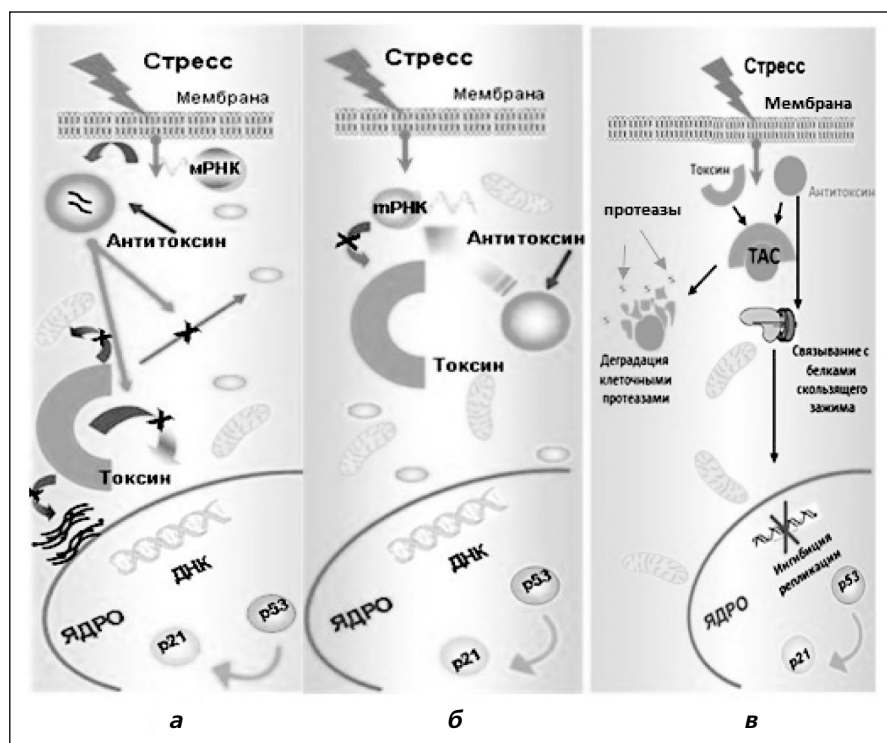


Рис. 3. Схема регуляторного механизма токсин-антитоксических систем (ТАС) IV (а) [41], V (б) [42] и VI (в) [45] типов (рис. авторов)

Механизмы действия токсинов некоторых токсин-антитоксिन-систем

Типы ТАС	Модуль ТАС	Токсин	Антитоксин	Активирует токсин	Ингибирует токсин	Источник
I	sibC-ibsC	IbsC	sibC (РНК)	Деполаризация клеточной мембраны	Синтез АТФ	[69], [70]
I	istR-tisB	TisB	istR (РНК)	Деполаризация клеточной мембраны	Синтез АТФ	[71], [72]
II	mazEF	MazF	MazE (белок)	Расщепление мРНК	Перемещение	[73]
II	kis-kid	Kis	Kid (белок)	Расщепление мРНК	Перемещение	[74]
III	toxIN	ToxN	toxI (РНК)	Расщепление РНК	Перемещение	[75]
IV	yeeUV	YeeV	YeeU (белок)	Взаимодействие с белками цитоскелета FtsZ и MreB	Взаимодействие с отделами клеток	[41]
IV	cptBA	CptA	CptB (protein)	Взаимодействие с белками цитоскелета FtsZ и MreB	Взаимодействие с отделами клеток	[41]
V	ghoST	GhoT	GhoS (protein)	Повреждение клеточной мембраны	Нет данных	[42]
VI	socAB	SocB	SocA (protein)	Повреждение клеточной мембраны	Репликация	[45]

стеры вновь восстанавливают количественные характеристики роста [47, 48].

Эта важнейшая функция ТАС в последующем была многократно подтверждена результатами исследований патогенности бактерий, способных к длительной персистенции. Например, *Mycobacterium tuberculosis* содержат более 30 оперонов, кодирующих пять типов ТАС, тогда как его непатогенный аналог, более быстро растущий *Mycobacterium smegmatis*, имеет три аналогичных оперона [49—51]. Этот физиологический феномен получил название бактериальной персистенции, и приведённый пример показывает, что это явление имеет универсальный характер и свойственно как патогенным бактериям, так и сапрофитам [17, 52].

Последующие исследования молекулярно-генетических механизмов антимикробной резистентности персистенции на моделях *Escherichia coli* [22, 53—55] и *Salmonella enterica* [23, 56] позволили установить их связь с протеином высокой стойкости А (HirA), кодируемым одним из локусов ТАС I и II типа вызывающего деградацию антитоксина и индукцию временной остановки роста бактериальной клетки, и выживание персистирующих клеток внутри макрофагов [55, 56]. Наиболее хорошо охарактеризованы модули ТАС I типа на моделях *Escherichia coli* [12, 57].

Как уже указывалось, впервые эти модули были обнаружены на плазмиде (sok-hok) [57], где они были транскрибированы в две небольшие РНК: кодирующие токсин (РНК I) и антитоксин (РНК II). Токсин Нок модуля sok-hok принимает участие в регулировании скорости роста бактерий при стрессе, вызванном ухудшением параметров окружающей среды (высокая температура и антибиотикотерапия) [57]. Кроме того, в *E.coli* были обнаружены и хромосомные ТАС I типа (ohsC-shoB) [58], istR-tisB [59], rdlD-ldrD [60], agrB-dinQ [61], sibC-ibsC [58], orzO-zorO [62] и symR-symE [63].

Другой механизм формирования антибиотикорезистентности связан с участием ТАС в формировании патогенными бактериями биоплёнок,

позволяющим противостоять антибактериальным препаратам и иммунной системе организмов-хозяев [38, 42, 46, 61]. Бактерии в составе биоплёнок имеют более низкие темпы роста клеток по сравнению с планктонными формами, а также экспрессируют специфические токсины различных типов модулей ТАС, регулирующих образование полимерного матрикса [64—68].

Таким образом, роль токсинов ТАС в модуляции метаболической активности, роста клеток и формировании антибиотикорезистентности зависит от связывания с определёнными молекулярно-генетическими внутриклеточными структурами, а механизмы формирования антибиотикорезистентности имеют специфические особенности в зависимости от типа токсин-антитоксिन-модулей. Некоторые из охарактеризованных ТАС и механизмы действия токсинов приведены в таблице.

В опероне ген токсина транскрибируется на низком уровне и кодируется как относительно нестабильный короткоживущий белок. Высокоуровневая транскрипция антидот-гена в клетках, обеспечивает неактивное состояние токсина [12, 23, 77, 78].

ТАС в качестве перспективных антибактериальных мишеней. Снижение эффективности современных противомикробных средств требует изучения механизмов появления резистентности множественных лекарственно-устойчивых штаммов микроорганизмов, а также активизации разработки новых стратегий создания противомикробных средств для борьбы с инфекциями, поиска принципиально иных антибактериальных внутриклеточных мишеней для терапии. Это является основным направлением современных научных исследований [35, 51, 67, 78—80].

В последнее десятилетие ТАС привлекают большое внимание в качестве перспективных антибактериальных мишеней [81—84]. В процессе эволюции человеческие патогены развили множество ТАС для защиты от стресса, неблагоприятных условий роста в организме-хозяине, и том числе, от антибиотикотерапии. Одной из мощ-

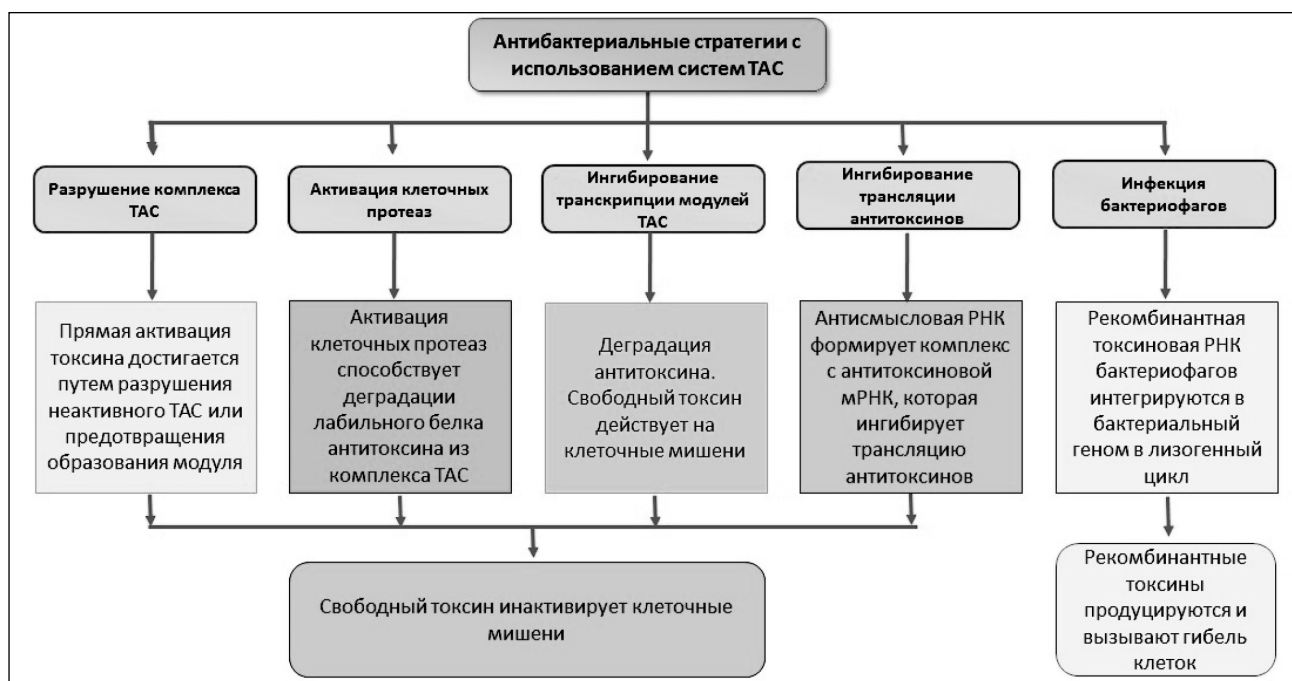


Рис. 4. Перспективные антибактериальные стратегии с использованием ТАС (рис. авторов)

ных антибактериальных стратегий является искусственная активация токсина, которая может быть достигнута с использованием небольших соединений или пептидов в качестве ингибиторов токсин-антитоксिनотоксического взаимодействия. Однако антибактериальные терапевтические средства для целевого воздействия на ТАС пока отсутствуют [3, 36, 67].

В настоящее время рассматривается ряд антибактериальных стратегий, основанных на использовании ТАС (рис. 4). Одна из них связана с разрушением комплекса ТАС, с последующей прямой активацией освобожденного токсина или ингибированием образования комплекса. Это достигается путём введения биомолекул для связывания с антитоксином [85]. Другая стратегия связана с активацией клеточных протеолитических ферментов (гидролаз), вызывающих деградацию лабильного белка антитоксина из комплекса ТАС путём расщепления пептидной связи между аминокислотами, в результате чего происходит высвобождение токсина [51, 60]. Еще один путь прямой активации освобожденного токсина связан с ингибированием транскрипции промотора оперона ТАС [38, 59]. Оставшийся без пополнения, короткоживущий антитоксин вскоре деградирует, а свободный токсин инактивирует соответствующие мишени в бактериальных клетках. Три упомянутые выше стратегии используют модули ТАС типа II, которые обнаруживаются у большого количества бактерий [35, 59, 60, 85].

Наконец, возможно фармацевтическое ингибирование трансляции антитоксинов [37, 58, 86]. Антисмысловая РНК комплементарно связыва-

ется с антитоксической мРНК, что ингибирует трансляцию антитоксинов и высвобождение токсина. Такой подход может быть применён ко всем типам модулей ТАС. Таким образом, в основе перечисленных выше стратегий лежит высвобождение свободного токсина, инактивирующего в дальнейшем внутриклеточные мишени бактериальных клеток и в конечном итоге вызывающего их гибель (рис. 4).

Казалось бы, препараты, содержащие биомолекулы токсина, — реальные кандидаты на роль терапевтического средства для пополнения антимикробного арсенала при формировании у бактерий множественной антибиотикорезистентности. Однако клинические испытания биомолекулярных препаратов выявили серьёзные препятствия для их практического использования: отсутствие лекарственных форм для орального применения и высокую стоимость препаратов [36, 59]. Кроме того, остаются нерешёнными вопросы целевой доставки токсинов в места обитания патогенных бактерий в организме без вредного воздействия на эукариотические клетки и нормальную микробиоту человека [35, 59, 60, 85].

И, наконец, ещё одна, более сложная стратегия предусматривает инфицирование патогенов бактериофагами, содержащими рекомбинантные нуклеиновые кислоты, содержащие ген, кодирующий биосинтез токсина: РНК или ДНК интегрируются в лизогенный цикл генома патогенной бактерии, продуцируемые рекомбинантные токсины вызывают гибель бактериальных клеток [87]. К настоящему времени получены рекомбинантные нуклеиновые кислоты, содержащие раз-

личные гены, кодирующие синтез токсинов многих известных модулей ТАС. Однако использование бактериофагов по-прежнему ограничено из-за их высокой специфичности к определённым микроорганизмам [31, 87, 88].

Существует опасение, что искусственная активация токсинов до умеренного уровня может вызвать образование персистирующих или спящих клеток, которые способствуют хронизации инфекционного процесса. В этой связи разрабатывается другая стратегия, которая «разбудит» персистирующую бактериальную клетку, что делает её восприимчивой к антибиотикам.

Заключение

Таким образом, с учётом ведущей роли ТАС для выживания патогенных бактерий и развития инфекционного процесса современные технологии создания альтернативных антибактериальных стратегий рассматривают эти системы в качестве перспективных целей для разработки новых антимикробных препаратов. Высокая скорость приобретения патогенными бактериями множественной лекарственной устойчивости определяет актуальность и необходимость этого направления исследований. Учитывая отсутствие

ТАС у млекопитающих, будущие препараты на основе технологий, в основе которых лежат механизмы внутриклеточных эффектов ТАС, могут быть высокоспецифическими. Тем не менее, одним из возможных недостатков эффективности этих антимикробных стратегий является высокая распространённость этих систем в геноме бактерий, что потребует создания препаратов, нацеленные на несколько систем. Другим недостатком является то, что недостаточно просто инактивировать антитоксины для активации токсинов, которые в дальнейшем необходимо инактивировать другими препаратами [31, 36]. Некоторые побочные эффекты этих методов лечения могут быть связаны с инактивацией ТАС бактерий, принадлежащих к нормальной микрофлоре. Тем не менее, стимулирование дальнейших фундаментальных исследований ТАС в патогенных бактериях может дать ценную информацию для будущих антибактериальных альтернатив.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Kedzierska B., Hayes F. Emerging Roles of Toxin–Antitoxin Modules in Bacterial Pathogenesis. *Molecules* 2016; 21. Doi: 10.3390/molecules21060790.
2. Van Melder L., Saavedra de Bast M. Bacterial toxin–antitoxin systems: More than selfish entities? *PLoS Genet* 2009; 5: 3: e1000437. Doi: 10.1371/journal.pgen.1000437.
3. Ki-Young Lee., Bong-Jin Lee. Structure, Biology, and Therapeutic Application of Toxin–Antitoxin Systems in Pathogenic Bacteria. *Toxins* 2016; 8: 10: 305. Doi:10.3390/toxins8100305.
4. Goeders N., Chai R., Chen B., Day A. Salmond G. Structure, Evolution, and Functions of Bacterial Type III Toxin–Antitoxin Systems. *Toxins* 2016; 8: 10: 282. Doi:10.3390/toxins8100282.
5. Aizenman E., Engelberg-Kulka H., Glaser G. An *Escherichia coli* chromosomal «addiction module» regulated by guanosine 30,50-bispyrophosphate: a model for programmed bacterial cell death. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 6059–6063.
6. Ogura T., Hiraga S. Mini-F plasmid genes that couple host cell division to plasmid proliferation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983; 80: 4784–4788.
7. Van Melder L., Bernard P. Couturier M. Lon-dependent proteolysis of CcdA is the key control for activation of CcdB in plasmid-free segregant bacteria. *Mol Microbiol* 1994; 11: 1151–1157.
8. Hayes F. Toxins-antitoxins: Plasmid maintenance, programmed cell death, and cell cycle arrest. *Science* 2003; 301: 1496–1499. Doi: 10.1126/science.1088157.
9. Yarmolinsky M. B. Programmed cell death in bacterial populations. *Science* 1995; 267: 836–837.
10. Engelberg-Kulka H., Glaser G. Addiction modules and programmed cell death and antideath in bacterial cultures. *Annu. Microbiol Rev* 1999; 53: 43–70. Doi: 10.1146/annurev.micro.53.1.43.
11. Engelberg-Kulka H., Amitai S., Kolodkin-Gal I., Hazan R. Bacterial programmed cell death and multicellular behavior in bacteria. *PLoS Genet* 2006; 2: e135. Doi: 10.1371/journal.pgen.0020135.
12. Erental A., Idith Sh. I., Engelberg-Kulka H. Two Programmed Cell Death Systems in *Escherichia coli*: An Apoptotic-Like Death Is Inhibited by the mazEF-Mediated Death Pathway. *PLoS biology* 2012; 3: 10: e100128.
13. Coussens N. P., Daines D. A. Wake me when it's over—Bacterial toxin-antitoxin proteins and induced dormancy. *Exp Biol Med* 2016; 241: 1332–1342. Doi: 10.1177/1535370216651938.
14. Muthuramalingam M., White J. C., Bourne C. R. Toxin–Antitoxin Modules Are Pliable Switches Activated by Multiple Protease Pathways. *Toxins* 2016; 8: 7: 214. Doi:10.3390/toxins8070214.
15. Makarova K. S., Wolf Y. I., Koonin E. V. Comprehensive comparative-genomic analysis of type 2 toxin-antitoxin systems and related mobile stress response systems in prokaryotes. *Biol Direct* 2009; 4: 11–19.
16. Makarova K. S., Wolf Y. I., Koonin E. V. Comparative genomics of defense systems in archaea and bacteria. *Nucleic Acids Res* 2013; 41: 4360–4377. Doi: 10.1093/nar/gkt157.
17. Page R., Peti W. Toxin-antitoxin systems in bacterial growth arrest and persistence. *Nat Chem Biol* 2016; 12: 208–214.
18. Allison K. R., Brynildsen M. P., Collins J. J. Heterogeneous bacterial persisters and engineering approaches to eliminate them. *Curr Opin Microbiol* 2011; 14: 593–598. Doi: 10.1016/j.mib.2011.09.002.
19. Pimentel B., Nair R., Bermejo-Rodriguez C., Preston M. A., Agu C. A., Wang X., Bernal J. A., Sherratt D. J., de la Cueva-Mendez G. Toxin Kid uncouples DNA replication and cell division to enforce retention of plasmid R1 in *Escherichia coli* cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; 111: 2734–2739. Doi: 10.1073/pnas.1308241111.
20. Moritz E. M., Hergenrother P. J. Toxin-antitoxin systems are ubiquitous and plasmid-encoded in vancomycin-resistant enterococci. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104: 1: 311–316. Doi: 10.1073/pnas.0601168104.
21. Holden D. W. Microbiology. Persisters unmasked. *Science* 2015; 347: 30–32.
22. Maisonneuve E., Castro-Camargo M., Gerdes K. (p)ppGpp controls bacterial persistence by stochastic induction of toxin-antitoxin activity. *Cell* 2013; 154: 1140–1150.
23. Gerdes K., Maisonneuve E. Remarkable functional convergence: Alarmone ppGpp mediates persistence by activating type I and II toxin-antitoxins. *Mol Cell* 2015; 59: 1–3.
24. Meredith H. R., Srimani J. K., Lee A. J., Lopatkin A. J., You L. Collective antibiotic tolerance: Mechanisms, dynamics and intervention. *Nat Chem Biol* 2015; 11: 182–188. Doi: 10.1038/nchembio.1754.
25. Fasani R. A., Savageau M. A. Unrelated toxin-antitoxin systems cooperate to induce persistence. *J R Soc Interface* 2015; 12. Doi: 10.1098/rsif.2015.0130.
26. Bigger J. W. Treatment of staphylococcal infections with penicillin by intermittent sterilization. *Lancet* 1944; 294: 497–500.
27. Levin B. R., Rozen D. E. Non-inherited antibiotic resistance. *Nat Rev Microbiol* 2006; 4: 556–562.
28. Shan Y., Lazinski D., Rowe S., Camilli A., Lewis K. Genetic basis of persister tolerance to aminoglycosides in *Escherichia coli*. *mBio* 2015; 6. Doi: 10.1128/mBio.00078-15.

29. Harms A., Maisonneuve E., Gerdes K. Mechanisms of bacterial persistence during stress and antibiotic exposure. *Science* 2016; 354: 6318. pii: aaf4268. Doi: <http://dx.doi.org/10.1101/200477>.
30. Dhar N., McKinney J. D. Microbial phenotypic heterogeneity and antibiotic tolerance. *Curr Opin Microbiol* 2007; 10: 30–38. Doi: 10.1016/j.copbio.2017.12.007.
31. Liu S., Wu N., Zhang S., Yuan Y., Zhang W., Zhang Y. Variable Persister Gene Interactions with (p)ppGpp for Persister Formation in *Escherichia coli*. *Front Microbiol* 2017; 8: 1795. Doi: 10.3389/fmicb.2017.01795.
32. Marques C. N., Morozov A., Planzos P., Zelaya H. M. The fatty acid signaling molecule cis-2-decenoic acid increases metabolic activity and reverts persister cells to an antimicrobial-susceptible state. *Appl Environ Microbiol* 2014; 80: 6976–6991.
33. Spoering A. L., Lewis K. Biofilms and planktonic cells of *Pseudomonas aeruginosa* have similar resistance to killing by antimicrobials. *J Bacteriol* 2001; 183: 23: 6746–6751.
34. Wood T. K. Combatting bacterial persister cells. *Biotechnol Bioeng* 2016; 113: 476–483. Doi: 10.1002/bit.25721.
35. Fisher R. A., Gollan B., Helaine S. Persistent bacterial infections and persister cells. *Nat Rev Microbiol* 2017; 15: 8: 453–464. Doi: 10.1038/nrmmicro.2017.42.
36. Garland M., Loscher S., Bogoy M. Chemical Strategies To Target Bacterial Virulence. *Chem Rev* 2017; 117: 5: 4422–4461. Doi: 10.1021/acs.chemrev.6b00676.
37. Marsan D., Place A., Fucich D., Chen F. Toxin-Antitoxin Systems in Estuarine *Synechococcus* Strain CB0101 and Their Transcriptomic Responses to Environmental Stressors. *Front Microbiol* 2017; 8: 1213. Doi: 10.3389/fmicb.2017.01213.
38. Tian C., Semsey S., Mitrari N. Synchronized switching of multiple toxin-antitoxin modules by (p)ppGpp fluctuation. *Nucleic Acids Res* 2017; 45: 14: 8180–8189. Doi: 10.1093/nar/gkx552.
39. Harms A., Fino C., Suresen M. A., Semsey S., Gerdes K. Prophages and Growth Dynamics Confound Experimental Results with Antibiotic-Tolerant Persister Cells. *MBio* 2017; 8: 6: pii: e01964-17. Doi: 10.1128/mBio.01964-17.
40. Fineran P. C., Blower T. R., Foulds I. J., Humphreys D. P., Lilley K. S. The phage abortive infection system, toxin, functions as a protein-RNA toxin-antitoxin pair. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106: 894–899.
41. Masuda H., Tan Q., Awano N., Wu K. P., Inouye M. YeeU enhances the bundling of cytoskeletal polymers of MreB and FtsZ, antagonizing the CbtA (YeeV) toxicity in *Escherichia coli*. *Mol Microbiol* 2012; 84: 979–989.
42. Wang X., Lord D. M., Cheng H. Y., Osbourne D. O., Hong S. H. A new type V toxin-antitoxin system where mRNA for toxin GhoT is cleaved by antitoxin GhoS. *Nat Chem Biol* 2012; 8: 855–861.
43. Brooks T. M., Unterwieser D., Bachmann V., Kostuk B., Pukatzki S. Lytic activity of the *Vibrio cholerae* type VI secretion toxin VgrG-3 is inhibited by the antitoxin TsaB. *J Biol Chem* 2013; 288: 11: 7618–7625. Doi: 10.1074/jbc.M112.436725.
44. Chan W. T., Espinosa M., Yeo C. C. Keeping the Wolves at Bay: Antitoxins of Prokaryotic Type II Toxin-Antitoxin Systems. *Front. Mol. Biosci* 2016; 3: Doi: 10.3389/fmolb.2016.00009.
45. Aakre C. D., Phung T. N., Huang D., Laub M. T. A bacterial toxin inhibits DNA replication elongation through a direct interaction with the β sliding clamp. *Mol Cell* 2013; 52: 5: 617–628. Doi: 10.1016/j.molcel.2013.10.014.
46. Wen Y., Behiels E., Devreese B. Toxin-Antitoxin systems: their role in persistence, biofilm formation, and pathogenicity. *Pathog Dis* 2014; 70: 3: 240–249. Doi: 10.1111/2049-632X.12145.
47. Unterholzner S. J., Poppenberger B., Rozhon W. Toxin-antitoxin systems: Biology, identification, and application. *Mob Genet Elements* 2013; 3: Doi: 10.4161/mge.26219.
48. Schuster C. F., Bertram R. Toxin-Antitoxin Systems of *Staphylococcus aureus*. *Toxins (Basel)* 2016; 8: 5: pii: E140. Doi: 10.3390/toxins8050140.
49. Ramage H. R., Connolly L. E., Cox J. S. Comprehensive functional analysis of *Mycobacterium tuberculosis* toxin-antitoxin systems: implications for pathogenesis, stress responses, and evolution. *PLoS Genet* 2009; 5: 12: e1000767. Doi: 10.1371/journal.pgen.1000767.
50. Sala A., Bordes P., Genevieux P. Multiple toxin-antitoxin systems in *Mycobacterium tuberculosis*. *Toxins* 2014; 6: 1002–1020. Doi: 10.3390/toxins6031002.
51. Deter H. S., Jensen R. V., Mather W. H., Butzin N. C. Mechanisms for Differential Protein Production in Toxin-Antitoxin Systems. *Toxins (Basel)* 2017; 9: 7: pii: E211. Doi: 10.3390/toxins9070211.
52. Бухарин О.В. Персистенция бактериальных патогенов как физиологический феномен // Вестн. Моск. Ун-та. Сер. 16. Биология. 2008; 1: 6–13.
53. Korch S. B., Henderson T. A., Hill T. M. Characterization of the hipA7 allele of *Escherichia coli* and evidence that high persistence is governed by (p)ppGpp synthesis. *Mol Microbiol* 2003; 50: 4: 1199–1213.
54. Durr T., Vulix M., Lewis K. Ciprofloxacin causes persister formation by inducing the TisB toxin in *Escherichia coli*. *PLoS Biol* 2010; 8: 2: e1000317. Doi: 10.1371/journal.pbio.1000317.
55. Verstraeten N., Knapen W. J., Fauvart M., Michiels J. Membrane depolarization-triggered responsive diversification leads to antibiotic tolerance. *Microb Cell* 2015; 2: 8: 299–301. Doi: 10.15698/mic2015.08.220.
56. Lobato-Mórquez D., Moreno-Cyrdoba I., Figueroa V., Dnaz-Orejas R., Garcha-del Portillo F. Distinct type I and type II toxin-antitoxin modules control *Salmonella* lifestyle inside eukaryotic cells. *Sci Rep* 2015; 5: 9374. Doi: 10.1038/srep09374.
57. Chukwudi C. U., Good L. The role of the hok/sok locus in bacterial response to stressful growth conditions. *Microb Pathog* 2015; 79: 70–79. Doi: 10.1016/j.micpath.2015.01.009.
58. Sayed N., Nonin-Lecomte S., Rety S., Felden B. Functional and structural insights of a *Staphylococcus aureus* apoptotic-like membrane peptide from a toxin-antitoxin module. *J Biol Chem* 2012; 287: 43454–43463. Doi: 10.1074/jbc.M112.402693.
59. Sass P., Josten M., Famulla K., Schiffer G., Sahl H. G., Hamoen L., Brotz-Oesterhelt H. Antibiotic acyldepsipeptides activate ClpP peptidase to degrade the cell division protein FtsZ. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108: 17474–17479. Doi: 10.1073/pnas.1110385108.
60. Leung E., Datti A., Cossette M., Goodreid J., McCaw S. E., Mah M., Nakhamchik A., Ogata K., El Bakkouri M., Cheng Y. Q. et al. Activators of cylindrical proteases as antimicrobials: Identification and development of small molecule activators of ClpP protease. *Chem Biol* 2011; 18: 1167–1178. Doi: 10.1016/j.chembiol.2011.07.023.
61. Williams J. J., Hergenrother P. J. Artificial activation of toxin-antitoxin systems as an antibacterial strategy. *Trends Microbiol* 2012; 20: 291–298. Doi: 10.1016/j.tim.2012.02.005.
62. Bienstock R. J. Computational drug design targeting protein-protein interactions. *Curr Pharm Des* 2012; 18: 1240–1254. Doi: 10.1111/j.1365-2731.2012.06564.x.
63. Justice S. S., Hunstad D. A., Cegelski L., Hultgren S. J. Morphological plasticity as a bacterial survival strategy. *Nat Rev Microbiol* 2008; 6: 162–168. Doi: 10.1038/nrmicro1820.
64. Mutschler H., Meinhardt A. Epsilon/zeta systems: Their role in resistance, virulence, and their potential for antibiotic development. *J Mol Med* 2011; 89: 1183–1194. Doi: 10.1007/s00109-011-0797-4.
65. Zhang Y., Inouye M. RatA (YfjG), an *Escherichia coli* toxin, inhibits 70S ribosome association to block translation initiation. *Mol Microbiol* 2011; 79: 1418–1429. Doi: 10.1111/j.1365-2958.2010.07506.x.
66. Al Refaii A., Alix J. H. Ribosome biogenesis is temperature-dependent and delayed in *Escherichia coli* lacking the chaperones DnaK or DnaJ. *Mol Microbiol* 2009; 71: 748–762. Doi: 10.1111/j.1365-2958.2008.06561.x.
67. Hall A. M., Gollan B., Helaine S. Toxin-antitoxin systems: reversible toxicity. *Curr Opin Microbiol* 2017; 36: 102–110. Doi: 10.1016/j.mib.2017.02.003.
68. Dao-Thi M. H., Charlier D., Loris R., Maes D., Messens J., Wyns L., Backmann J. Intricate interactions within the ccd plasmid addiction system. *J. Biol Chem* 2002; 277: 3733–3742. Doi: 10.1074/jbc.M105505200.
69. Mok W. W., Patel N. H., Li Y. Decoding toxicity: deducing the sequence requirements of IbsC, a type I toxin in *Escherichia coli*. *J Biol Chem* 2010; 285: 53: 41627–41636. Doi: 10.1074/jbc.M110.149179.
70. Fozo E. M., Kawano M., Fontaine F., Kaya Y., Mendieta K. S., Jones K. L., Ocampo A., Rudd K. E., Storz G. Repression of small toxic protein synthesis by the Sib and OhsC small RNAs. *Mol Microbiol* 2008; 70: 5: 1076–1093. Doi: 10.1111/j.1365-2958.2008.06394.x.
71. Vogel J., Argaman L., Wagner E. G., Altuvia S. The small RNA IstR inhibits synthesis of an SOS-induced toxic peptide. 2004; 14: 24: 2271–2276. Doi: 10.1016/j.cub.2004.12.003.
72. Unoson C., Wagner E. G. A small SOS-induced toxin is targeted against the inner membrane in *Escherichia coli*. *Mol Microbiol* 2008; 70: 1: 258–270. Doi: 10.1111/j.1365-2958.2008.06416.x.
73. Vesper O., Amitai S., Belitsky M., Byrgazov K., Kaberdina A. C., Engelberg-Kulka H., Moll I. Selective translation of leaderless mRNAs by specialized ribosomes generated by MazF in *Escherichia coli*. *Cell* 2011; 147: 1: 147–157. Doi: 10.1016/j.cell.2011.07.047.
74. Budde P. P., Davis B. M., Yuan J., Waldor M. K. Characterization of a higBA toxin-antitoxin locus in *Vibrio cholerae*. *J Bacteriol* 2007; 189: 491–500. Doi: 10.1128/JB.00909-06.
75. Fineran P. C., Blower T. R., Foulds I. J., Humphreys D. P., Lilley K. S., Salmond G. P. The phage abortive infection system, ToxIN, functions as a protein-RNA toxin-antitoxin pair. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106: 3: 894–899. Doi: 10.1073/pnas.0808832106.
76. Aakre C. D., Phung T. N., Huang D., Laub M. T. A bacterial toxin inhibits DNA replication elongation through a direct interaction with the β sliding clamp. *Mol Cell* 2013; 52: 5: 617–628. Doi: 10.1016/j.molcel.2013.10.014.

77. Brielle R., Pinel-Marie M. L., Felden B. Linking bacterial type I toxins with their actions. *Curr Opin Microbiol* 2016; 30: 114–121. Doi: 10.1016/j.mib.2016.01.009.
78. Brantl S., Jahn N. sRNAs in bacterial type I and type III toxin-antitoxin systems. *FEMS Microbiol Rev* 2015; 39: 3: 413–427. Doi: 10.1093/femsre/fuv003.
79. Crofts T. S., Gasparrini A. J., Dantas G. Next-generation approaches to understand and combat the antibiotic resistome. *Nature Reviews Microbiology* 2017; 15: 422–434. Doi:10.1038/nrmicro.2017.28.
80. Gupta K., Tripathi A., Sahu A., Varadarajan R. Contribution of the Chromosomal ccdAB Operon to Bacterial Drug Tolerance. *J Bacteriol* 2017; 199:19: pii: e00397-17. Doi: 10.1128/JB.00397-17.
81. Chan W. T., Balsa D., Espinosa M. One cannot rule them all: Are bacterial toxins-antitoxins druggable? *FEMS Microbiol Rev* 2015; 39: 522–540. Doi: 10.1093/femsre/fuv002.
82. Mruk I., Kobayashi I. To be or not to be: Regulation of restriction-modification systems and other toxin-antitoxin systems. *Nucleic Acids Res* 2014; 42: 70–86. Doi: 10.1093/nar/gkt711.
83. Ainele A., Tamman H., Leppik M., Remme J., Horak R. The toxin GraT inhibits ribosome biogenesis. *Mol Microbiol* 2016; 100: 719–734. Doi: 10.1111/mmi.13344.
84. Shapiro S. Speculative strategies for new antibacterials: All roads should not lead to Rome. *J Antibiot* 2013; 66: 371–386. Doi: 10.1038/ja.2013.27.
85. Bienstock R. J. Computational drug design targeting protein-protein interactions. *Curr Pharm Des* 2012; 18: 9: 1240–1254.
86. Solecki O., Mosbah A., Baudy Floc'h M., Felden B. Converting a *Staphylococcus aureus* toxin into effective cyclic pseudopeptide antibiotics. *Chem Biol* 2015; 22: 329–335. Doi: 10.1016/j.chembiol.2014.12.016.
87. Huys I., Pirnay J. P., Lavigne R., Jennes S., De Vos D., Casteels M., Verbeken G. Paving a regulatory pathway for phage therapy. Europe should muster the resources to financially, technically and legally support the introduction of phage therapy. *EMBO Rep* 2013; 14: 951–954. Doi: 10.1038/embor.2013.163.
88. Helaine S., Cheverton A. M., Watson K. G., Faure L. M., Matthews S. A., Holden D. W. Internalization of *Salmonella* by macrophages induces formation of nonreplicating persisters. *Science* 2014; 343: 204–208.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

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

Беседнова Наталия Николаевна — академик РАН, д. м. н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории

иммунологии НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова, Владивосток

Запорожец Татьяна Станиславовна — д. м. н., заместитель директора по научной работе НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова, Владивосток

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*), кодиру-

емыми соответствующими генетическими элементами продукты — прописными прямыми буквами (ТЕТ).

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 ста-

ти, 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.

ЕСЛИ БЫ ЧУВСТВО
БЛАГОДАРНОСТИ
МОЖНО БЫЛО ПОКАЗАТЬ,

ОНО БЫ
БЫЛО
ТАКИМ

Таваник®

Спасибо за
профессионализм

- Оригинальный антибиотик широкого спектра^{1, 2}
- Высокая эффективность эмпирической терапии²:
 - ✓ обострений хронического бронхита
 - ✓ внебольничной пневмонии
 - ✓ острого синусита
 - ✓ цистита и пиелонефрита
- Низкий риск дисбактериоза^{3, 4}
- Удобный режим дозирования — 1 раз в день¹



ТАВАНИК® МЕЖДУНАРОДНОЕ НЕПАТЕНТОВАННОЕ НАЗВАНИЕ. Левофлоксацин. **ДЕЙСТВУЮЩЕЕ ВЕЩЕСТВО.** Левофлоксацин. **ЛЕКАРСТВЕННАЯ ФОРМА.** Таблетки, покрытые пленочной оболочкой. **ФАРМАКОДИНАМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА.** Таваник® — синтетический антибактериальный препарат широкого спектра действия из группы фторхинолонов, содержащий в качестве активного вещества левофлоксацин — левовращающий изомер офлоксацина. Левофлоксацин блокирует ДНК-гиразу и топоизомеразу IV, нарушает суперспирализацию и сшивку разрывов ДНК, вызывает глубокие морфологические изменения в цитоплазме, клеточной стенке и мембранах микробных клеток. Левофлоксацин активен в отношении большинства штаммов микроорганизмов в условиях как *in vitro*, так и *in vivo*. **ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ.** Бактериальные инфекции, чувствительные к левофлоксацину, у взрослых: острый синусит, обострение хронического бронхита, внебольничная пневмония, неосложненные инфекции мочевыводящих путей, осложненные инфекции мочевыводящих путей (включая пиелонефрит), хронический бактериальный простатит, инфекции кожных покровов и мягких тканей, для комплексного лечения лекарственно-устойчивых форм туберкулеза, профилактика и лечение сибирской язвы при воздушно-капельном пути заражения. **ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ.** Гиперчувствительность к левофлоксацину или другим хинолонам, а также к любому из вспомогательных веществ препарата Таваник®; эпилепсия; поражения сухожилий при применении фторхинолонов в анамнезе; псевдопаралитическая миастения (myasthenia gravis); детский и подростковый возраст до 18 лет (в связи с незавершенностью роста скелета, так как нельзя полностью исключить риск поражения хрящевых точек роста); беременность (нельзя полностью исключить риск поражения хрящевых точек роста у плода); период грудного вскармливания (нельзя полностью исключить риск поражения хрящевых точек роста костей у ребенка). **СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ И ДОЗЫ.** Таблетки Таваник® 250 мг или 500 мг принимают внутрь один или два раза в сутки. Таблетки следует проглатывать, не разжевывая и запивая достаточным количеством жидкости (от 0,5 до 1 стакана). При необходимости таблетки можно размачивать по разделительной бороздке. Режим дозирования определяется характером и тяжестью инфекции, а также чувствительностью предполагаемого возбудителя. Продолжительность лечения варьирует в зависимости от течения заболевания. Рекомендуемые режим дозирования и продолжительность лечения у пациентов с нормальной функцией почек (КК > 50 мл/мин): острый синусит — по 2 таблетки Таваник® 500 мг 1 раз в сутки 10–14 дней; обострение хронического бронхита — по 2 таблетки Таваник® 250 мг или по 1 таблетке Таваник® 500 мг 1 раз в сутки 7–10 дней; внебольничная пневмония — по 2 таблетки Таваник® 250 мг или по 1 таблетке Таваник® 500 мг 1–2 раза в сутки 7–14 дней; неосложненные инфекции мочевыводящих путей — по 1 таблетке Таваник® 250 мг 1 раз в сутки 3 дня; осложненные инфекции мочевыводящих путей — по 2 таблетки Таваник® 250 мг 1 раз в сутки или по 1 таблетке Таваник® 500 мг 1 раз в сутки 7–14 дней; пиелонефрит — по 2 таблетки Таваник® 250 мг 1 раз в сутки или по 1 таблетке Таваник® 500 мг 1 раз в сутки 7–10 дней; хронический бактериальный простатит — по 2 таблетки Таваник® 250 мг или по 1 таблетке Таваник® 500 мг 1 раз в сутки 28 дней; инфекции кожных покровов и мягких тканей — по 2 таблетки Таваник® 250 мг или по 1 таблетке Таваник® 500 мг 1–2 раза в сутки 7–14 дней; комплексное лечение лекарственно-устойчивых форм туберкулеза — по 1 таблетке Таваник® 500 мг 1–2 раза в сутки — до 3 месяцев; профилактика и лечение сибирской язвы при воздушно-капельном пути заражения — по 2 таблетки Таваник® 250 мг или по 1 таблетке Таваник® 500 мг 1 раз в сутки в течение 8 недель. **ПОБОЧНОЕ ДЕЙСТВИЕ.** Головная боль, головокружение, диарея, рвота, тошнота, повышение активности печеночных ферментов в крови (например, аланинаминотрансферазы — АлАТ, аспартатаминотрансферазы — АсАТ), увеличение активности щелочной фосфатазы (ЩФ) и гамма-глутамилтрансферазы (ГГТ); бессонница. Редко возможна острая почечная недостаточность. С неизвестной частотой (постмаркетинговые данные) возможны: токсический эпидермальный некролиз; рабдомиолиз; разрыв сухожилия; гипергликемия, гипогликемическая кома; анафилактический шок, анафилактический шок; тяжелая печеночная недостаточность, включая случаи развития острой печеночной недостаточности; нарушения пойкикии с нарушениями поведения с применением себе вреда. Остальные нечастые, редкие и очень редкие побочные эффекты представлены в полной инструкции по медицинскому применению препарата. **ПЕРЕДОЗИРОВКА.** В случае передозировки требуется тщательное наблюдение за пациентом, включая мониторинг электрокардиограммы. Лечение симптоматическое. В случае острой передозировки таблеток Таваник® показано промывание желудка и введение антидотов для защиты слизистой оболочки желудка. Левофлоксацин не выводится посредством диализа (гемодиализа, перитонеального диализа и постоянного амбулаторного перитонеального диализа). Специфического антидота не существует. **ФОРМА ВЫПУСКА.** Таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 250 мг: по 5, 7 или 10 таблеток в блистер из ПВХ / алюминиевой фольги; по 1 блистеру вместе с инструкцией по применению в картонную пачку. Таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 500 мг: по 5, 7 или 10 таблеток в блистер из ПВХ / алюминиевой фольги; по 1 блистеру вместе с инструкцией по применению в картонную пачку. Срок годности — 5 лет. **УСЛОВИЯ ОТПУСКА ИЗ АПТЕК.** По рецепту. **РЕГИСТРАЦИОННЫЙ НОМЕР.** П N012242/01 от 21.07.15. **Перед приемом необходимо ознакомиться с полной инструкцией по применению препарата.**

¹ Инструкция по применению препарата Таваник® (П N012242/01 от 21.07.15). ² Яковлев С. В., Яковлев В. П. Левофлоксацин — новый антимикробный препарат группы фторхинолонов. М.: Дипак, 2006. 240 с. ³ Zhi-Chao Zhang, Feng-Shuo Jin, Dong-Ming Liu, Zhou-Jun Shen, Ying-Hao Sun and Ying-Lu Guo. Safety and efficacy of levofloxacin, versus ciprofloxacin for the treatment of chronic bacterial prostatitis in Chinese patients. Asian Journal of Andrology. 2012; 14: 870–874. ⁴ Фоминых Ю. А., Пакимова И. Г. Антибиотик-ассоциированные состояния в медицинской практике: актуальность проблемы, пути решения. Русский медицинский журнал. 2012. Т. 20. № 15. С. 754–757.

SANOFI

Представительство АО «Санofi-авентис груп» (Франция). 125009, Москва, ул. Тверская, 22.
Тел.: (495) 721-14-00. Факс: (495) 721-14-11. www.sanofi.ru.

SARU.LEV.16.06.0749

НАВСТРЕЧУ ЖИЗНИ. Реамберин®



Реамберин®

Форма выпуска:
Раствор для инфузий 1,5 %, в бутылках
стеклянных по 200 или 400 мл, в
контейнерах из плёнки многослойной
полиолефиновой по 250 или 500 мл

- ➔ ПРИМЕНЕНИЕ ПРИ НЕОТЛОЖНЫХ СОСТОЯНИЯХ
И В ПЕРИОПЕРАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ
- ➔ ИЗОТОНИЧЕСКИЙ ИНФУЗИОННЫЙ РАСТВОР
- ➔ СБАЛАНСИРОВАННАЯ ЭЛЕКТРОЛИТНАЯ
СТРУКТУРА
- ➔ КОМПЛЕКСНОЕ ДЕЙСТВИЕ



лекарственная форма
РАСТВОР для инфузий



способ применения
ВНУТРИВЕННО КАПЕЛЬНО



фармакотерапевтическая группа
РАСТВОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ
НА ВОДНО-ЭЛЕКТРОЛИТНЫЙ БАЛАНС



WWW.POLYSAN.RU



Интеллект на защите
здоровья

polysan