

ISSN 0235-2990

АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

Том 66



1-2'2021

Научно-практический журнал

Учредители:

ISSN 0235-2990

Министерство здравоохранения
Российской Федерации

Государственный научный
центр по антибиотикам

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

АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

Том 66

1-2'2021

ЕЖЕМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

АДРЕС РЕДАКЦИИ:

Нагатинская ул., д. 3а, Москва, 117105.
Тел.: 89254723038
E-mail: journalgnca@yandex.ru
Зав. редакцией Л. Б. Смирнова
Корректор: Е. А. Крыкова
Сайт: www.antibiotics-chemotherapy.ru

ОТДЕЛ РЕКЛАМЫ:

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

ИЗДАТЕЛЬ:

Издательство «ОКИ»

Подписка через объединённый



каталог «Пресса России»
или через «Агентство «КнигаСервис»:
подписной индекс — E71404

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

Установочный тираж 5000 экз.

Типография:
ООО «Литера»

Дата выхода: 2021

Свободная цена

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

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

Отв. за выпуск — Белоусов Д. Ю.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

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

Научные редакторы

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

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

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

Founders:

**Ministry of Health
of the Russian Federation**

State Scientific Center for Antibiotics

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

Founded in 1956

Editorial office address:

3a Nagatinskaya st., Moscow, 117105
Russia
Tel.: +7-925-472-30-38
E-mail: journalgnca@yandex.ru
Head of the Editorial Office:
L. B. Smirnova
Proofreader: E. A. Krykova
Website:
www.antibiotics-chemotherapy.ru

Advertising Department:

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

Publisher:

Izdatelstvo «OKI»



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

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

Circulation: 5000 copies

Tipography:
ООО «Литера»

Release Date: 2021

Free price

ISSN 0235-2990

ANTIBIOTICS AND CHEMOTHERAPY

АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

Volume 66

1–2'2021

MONTHLY JOURNAL

Editor-in-Chief

Professor, D. Sc. in Medicine Sergey V. Sidorenko

Deputy Editor-in-chief

Professor, D. Sc. in Medicine Sergey V. Yakovlev

RESPONSIBLE FOR THE ISSUE

Dmitry Yu. Belousov

MEMBERS OF EDITORIAL BOARD

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

Scientific Editors

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

MEMBERS OF EDITORIAL BOARD

Natalia N. Besednova	Galina A. Klyasova
Tatyana A. Bogush	Irina A. Leneva
Andrey N. Vasiliev	Sergey D. Mitrokhin
Valeriy M. Volzhanin	Dmitry A. Sychev
Natalya V. Dmitrieva	Victor V. Tets
Yuliya A. Zakharova	Evgenia V. Shikh
Lyudmila P. Zueva	

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

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

Экспериментальные исследования

- Карпова С.П., Блажеевский Н.Е.
Количественное определение ампициллина
тремя независимыми методами
с помощью калий гидрогенпероксиомосульфата
Гулий О. И., Зайцев Б. Д., Ларионова О. С., Алсowэйдн А. К. М.,
Караваяева О. А., Петерсон А. М., Бородин А. А.
Анализ антибактериальной активности амоксициллина
биологическим датчиком с щелевой акустической волной

Клинические исследования и практика

- Гордеев И. Г., Казей В. И., Капашин А. В., Лучинкина Е. Е.,
Глобенко А. А., Владыкин А. Л., Джайн Е. А., Черенкова А. И.,
Кокорин И. А., Левчук Н. Н., Смолина Т. В.,
Соболев П. Д., Горбачева С. Ю.
Фармакокинетика имидазолметанамида пентандиовой
кислоты у здоровых добровольцев

- Павлович Н. В., Цимбалистова М. В., Аронова Н. В.,
Анисимова А. С., Водопьянов С. О., Водопьянов А. С.,
Гудуева Е. Н., Сагакянц М. М., Ковалев Е. В., Носков А. К.
Внебольничные пневмонии бактериальной этиологии
и спектр чувствительности возбудителей
к антибиотикам у коронапозитивных
и коронанегативных больных г. Ростова-на-Дону
Сабитов А. У., Сорокин П. В., Дашутина С. Ю.
Эффективность и безопасность применения препарата
Риамилловир в лечении пациентов с COVID-19
Богущ Т. А., Рукавишников Е. А., Башарина А. А.,
Богущ Е. А., Кирсанов В. Ю., Коломийцев С. Д.,
Равчеева А. Б., Вихлянцева Н. О., Косоруков В. С.
Продолжительность жизни радикально оперированных
больных немелкоклеточным раком лёгкого:
по результатам 8-летнего наблюдения
в онкологическом научном центре им. Н. Н. Блохина
Загребнева А. И., Барях Е. А., Желнова Е. И., Потешкина Н. Г.,
Белоглазова И. П., Мутовина З. Ю., Самсонова И. В.,
Ковалевская Е. А., Паршин В. В., Пшеничникова В. В.,
Фомина Д. С., Круглова Т. С., Лысенко М. А., Драницына М. А.
Барцитиниб в лечении пациентов с COVID-19:
обзор международных данных и анализ результатов опыта
клинического применения в российской популяции

Обзоры

- Агеев В. А., Сулян О. С.,
Лазарева И. В., Сухинин А. А.
Распространение генов *mcr*-типа, кодирующих
устойчивость к полимиксинам, в России и мире
Орлов Ю. П., Афанасьев В. В., Хиленко И. А.
Перспектива сукцинатов в условиях гипоксии
при COVID-19

Юбилей

- Профессору Николаю Сергеевичу Егорову – 100 лет!

Experimental studies

- 4 Svetlana P. Karpova, Nikolay Ye. Blazheyevskiy
Comparison of Three Independent Methods
of Ampicillin Detection Using
Hydrogen Peroxymonosulfate
12 Olga I. Guliy, Boris D. Zaitsev, Olga S. Larionova,
Ali Kadhim Mohammed Alsowaidi, Olga A. Karavaeva,
Alexandra M. Peterson, Irina A. Borodina
Analysis of Amoxicillin's Antibacterial Activity
Using Biological Sensor with Slit Acoustic Wave

Guidelines for Practitioners

- 19 Ivan G. Gordeev, Vasily I. Kazey, Aleksey V. Kapashin,
Elena E. Luchinkina, Alexander A. Globenko,
Alexander L. Vladykin, Ekaterina A. Jain,
Anzhelika I. Cherenkova, Ilya A. Kokorin, Nina N. Levchuk,
Tatyana V. Smolina, Pavel D. Sobolev, Svetlana Yu. Gorbacheva
Pharmacokinetics of Pentanedioic Acid Imidazolyl
Ethanamide in Healthy Volunteers
26 Natalia V. Pavlovich, Marina V. Tsimbalistova,
Nadezhda V. Aronova, Anastasia S. Anisimova,
Sergey O. Vodopyanov, Alexey S. Vodopyanov, Elena N. Gudueva,
Margarita M. Sagakyants, Evgeny V. Kovalev, Alexey K. Noskov
Community-Acquired Pneumonia of Bacterial Etiology
and the Spectrum of Pathogen Sensitivity to Antibiotics
in Corona-Positive and Corona-Negative Patients in Rostov-on-Don
33 Alebay U. Sabitov, Pavel V. Sorokin, Svetlana U. Dashutina
The Efficacy and Safety of Riamilovir in the Treatment
of Patients with COVID-19
38 Tatyana A. Bogush, Ekaterina A. Rukavishnikova,
Anna A. Basharina, Elena A. Bogush, Vladislav Yu. Kirsanov,
Sergey D. Kolomiytsev, Anna B. Ravcheeva,
Nadezhda O. Vikhlyantseva, Vyacheslav S. Kosorukov
Survival Outcomes in Patients after Radical Surgery
for Non-Small Lung Cancer: an 8-year Study
at N. N. Blokhin Cancer Research Center
47 Alena I. Zagrebneva, Elena A. Baryakh, Evgenia I. Zhelnova,
Natalia G. Poteshkina, Irina P. Beloglazova,
Zinaida Yu. Mutovina, Inna V. Samsonova,
Elena A. Kovalevskaya, Vasily V. Parshin,
Vera V. Pshenichnikova, Daria S. Fomina, Tatyana S. Kruglova,
Maryana A. Lysenko, Margarita A. Dranitsyna
Baricitinib in the Treatment of Patients with COVID-19:
A Review of International Data and Analysis
of Clinical Results in the Russian Population

Reviews

- 57 Vladimir A. Ageevets, Ophelia S. Sulyan,
Irina V. Lazareva, Alexander A. Sukhinin
Dissemination of *MCR*-Type Genes Encoding Polymyxin
Resistance in Russia and Across the Globe
65 Yury P. Orlov, Vasily V. Afanasyev, Irina A. Khilenko
The Prospects of Succinates' Use under Hypoxic Conditions
in COVID-19

Anniversaries

- 75 Professor Nikolai S. Egorov is 100 years old!

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

Количественное определение ампициллина тремя независимыми методами с помощью калий гидрогенпероксомоносульфата

*С. П. КАРПОВА, Н. Е. БЛАЖЕЕВСКИЙ

Национальный фармацевтический университет, Харьков, Украина

Comparison of Three Independent Methods of Ampicillin Detection Using Hydrogen Peroxymonosulfate

*SVETLANA P. KARPOVA, NIKOLAY YE. BLAZHEYEVSIIY

National University of Pharmacy, Kharkov, Ukraine

Резюме

Разработаны три унифицированные методики и показана возможность количественного определения методами кинетико-спектрофотометрии, вольтамперометрии и окислительно-восстановительного титрования ампициллина в субстанции и лекарственном препарате с использованием калий гидрогенпероксомоносульфата (KHSO₅) в качестве аналитического реагента.

Ключевые слова: калий гидрогенпероксомоносульфат; ампициллин; спектрофотометрия; вольтамперометрия; йодометрия

Для цитирования: Карпова С. П., Блажеевский Н. Е. Количественное определение ампициллина тремя независимыми методами с помощью калий гидрогенпероксомоносульфата. *Антибиотики и химиотерапия*. 2021; 66: 1–2: 4–11. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-1-2-4-11.

Abstract

Three unified procedures have been developed. The possibility of quantitative determination using the methods of kinetic spectrophotometry, voltammetry, and redox titration of ampicillin (Amp) as a pure substance and in a drug using potassium hydrogen peroxymonosulfate (KHSO₅) as an analytical reagent has been shown.

Keywords: hydrogen peroxymonosulfate; ampicillin; spectrophotometry; voltammetry; redox titration

For citation: Karpova S. P., Blazheevskiy N. E. Comparison of three independent methods of ampicillin detection using hydrogen peroxymonosulfate. *Antibiot i khimioter*. 2021; 66: 1–2: 4–11. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-1-2-4-11.

Введение

Ампициллин — полусинтетический антибиотик, используемый для лечения различных инфекционных заболеваний дыхательных путей (пневмония, бронхопневмония, ангина), мочевыводящих путей, печени и желудочно-кишечного тракта. Впервые был введен в использование в 1961 г. британской компанией Beecham.

По механизму действия аналогичен пенициллину — необратимый ингибитор транспептидазы, участвующей в синтезе пептидогликана клеточной стенки.

Препарат не разрушается в кислой среде желудка, хорошо всасывается при приеме внутрь. Активен в отношении грамположительных микроорганизмов, на которые действует бензилпе-

нициллин. Кроме того, он действует на ряд грамотрицательных микроорганизмов (сальмонеллы, шигеллы, протей, кишечная палочка, клебсиелла пневмонии (палочка Фридендера), палочка Пфейффера (палочка инфлюэнцы) и поэтому рассматривается как антибиотик широкого спектра действия и применяется при заболеваниях, вызванных смешанной инфекцией [1].

Для определения активности препаратов пенициллина так же, как и других антибиотиков, применяют биологические, химические и физико-химические методы [2].

Базовым методом количественного определения суммы пеницилинов является классический метод йодометрии продуктов гидролиза [3]. Его недостатком является длительность — не менее 40 мин, а также необходимость использования

стандартных образцов и стандартизации условий определения, зависимость от температуры.

Согласно данным литературы, для количественного определения антибиотиков применяются различные хроматографические методы [4–10], хемилюминесцентные [11], спектрофотометрические [12–17], кинетические [18–20], флуориметрические [21, 22], вольтамперметрические [23, 24], методы с использованием ионоселективных электродов [25], капиллярный электрофорез [26].

Нами разработаны новые унифицированные методики количественного определения антибиотика ампициллина (Амп) тремя независимыми методами — иодометрии, кинетико-спектрофотометрии и вольтамперметрии с использованием калий гидрогенпероксомоносульфата (KHSO_5) в качестве аналитического реагента.

Материал и методы

Экспериментальная часть. Для исследований использовали препарат ампициллина тригидрат (2S,5R,6R)-6-[(R)-2-амино-2-фенилацетил]амино-3,3-диметил-7-оксо-4-гиа-1-азабидцикло [3.2.0]гептан-2-карбоновую кислоту в таблетках по 0,250 г в пересчёте на ампициллин, серии 214372, производства «Артериум» ПАО «Киевмедпрепарат», Украина (UA/2950/01/01). Как окислитель использовали гидрогенпероксомоносульфат калия в виде тройной калиевой соли $2\text{KHSO}_5 \times \text{KHSO}_4 \times \text{K}_2\text{SO}_4$ квалификации «extra pure» «Оксон» с содержанием активного кислорода 4,5%. Выбор реагента обусловлен его доступностью, достаточно хорошей растворимостью и стойкостью в водных растворах, а также относительно высокой окислительной способностью [27].

Рабочий раствор пероксомоносульфатной кислоты, 2×10^{-2} моль/л. Навеску 0,6148 г соли растворяют в 100,0 мл дважды дистиллированной воды при 20°C. Концентрацию раствора контролировали методом йодометрического титрования.

Как рабочий стандартный образец (PCO) ампициллина тригидрата (AT) использовали субстанцию Амп производства Augobindo Pharma Ltd, Индия (№ серии АНТ(В) 08110500, содержание основного вещества 98,8%, w (H_2O)=14,5%) фармакопейной чистоты.

Раствор PCO ампициллина тригидрата 500 мкг/мл. Навеску 0,05 г РЗО Амп растворяют в 100,00 мл дистиллированной воды при 20°C.

Раствор тиосульфата натрия, 2×10^{-2} моль/л. Ампулу стандарт-титра тиосульфата натрия с точной концентрацией 0,1 моль/л разбавляют дистиллированной водой в пять раз (1/5).

Раствор йодида калия, 5%. Навеску 5,0 г йодида калия растворяют в 50 мл дистиллированной воды и объём раствора доводят до метки 100 мл в мерной колбе при 20°C.

Рабочие стандартные растворы Амп. Готовят семь растворов в мерных колбах на 100 мл следующих концентраций: 80, 85, 90, 95, 100, 110, 120% , взвесив соответствующие навески 0,2289 г; 0,2433 г; 0,2576 г; 0,2718 г; 0,2862 г; 0,3147 г; 0,3433 г субстанции Амп.

Аппаратура

Спектрофотометрия. Спектры растворов АТ и его продуктов окисления регистрируют, а также измеряют светопоглощение растворов в кварцевой кювете на 1 см на спектрофотометре Evolution 60S UV-Visible Spectrophotometer Thermo-Scientific (USA) против раствора без исследуемого Амп или дважды дистиллированной воды (компенсационный раствор).

Вольтамперметрия. Вольтамперограммы записывают на осциллографическом полярографе CLA-3 (Ростов-на-Дону, Россия) с использованием ячейки при 20°C. Электрод сравнения —

насыщенный каломельный электрод, вспомогательный электрод из платины. Потенциалы пиков измеряют с помощью цифрового вольтметра V7-21 с точностью $\pm 0,1$ мВ. Скорость развёртки поляризуемого напряжения $v=0,5$ V/s. Потенциал варьируют в интервале от 0,2 до 1,4 V. Растворённый кислород удаляют перед измерениями, выдувая его очищенным аргоном более 20 мин. Значение величины рН оценивают с помощью стеклянного электрода «ЭСЛ 43-07», используя потенциометр лабораторный ИОНОМЕР «И-160» (ЗИП Гомель, Беларусь).

Титрование. Определяют титр исследуемого Амп с помощью микробюретки объёмом на 10 мл с точностью $\pm 0,01$ мл, которую заполняют титрантом до нулевой отметки.

Процедура

Кинетико-спектрофотометрический метод. Около 0,075 г (точная навеска) порошка растёртых таблеток Амп переносят в мерную колбу ёмкостью 100 мл, растворяют в смеси 50 мл дистиллированной воды и 8 мл диметилформамида при слабом нагревании, доводят объём раствора до метки и перемешивают. 5,00 мл полученного раствора переносят в мерную колбу на 50 мл, добавляют 3,0 мл 0,02 моль/л раствора KHSO_5 и 3 мл NaOH с концентрацией $4,88 \times 10^{-3}$ моль/л. Полученный раствор фотометрируют в кварцевой кювете с толщиной 1 см при 290 нм, используя дистиллированную воду как компенсационный раствор, на протяжении 10 мин.

Вольтамперметрический метод. Около 0,50 г (точная навеска) порошка растёртых таблеток Амп растворяют в смеси 50 мл бидистиллированной воды и 8 мл диметилформамида при слабом нагревании, доводят объём раствора до метки в 100 мл колбе и перемешивают. К 5,5 мл полученного раствора добавляют 2,0 мл 0,02 моль/л раствора KHSO_5 и 5 мл NaOH с концентрацией $4,88 \times 10^{-3}$ моль/л, тщательно перемешивают. Отбирают 5,0 мл полученного раствора и переносят в 50 мл колбу, добавляют 5,0 мл 0,1 моль/л KH_2PO_4 с рН 4,7, доводят до метки бидистиллированной водой, перемешивают. Потенциал измеряют в интервале от 0,2 до 1,4 V.

Метод окислительно-восстановительного титрования. 0,45 г (точная навеска) порошка растёртых таблеток Амп растворяют в мерной колбе на 100 мл при слабом нагревании на водяной бане в смеси 8 мл диметилформамида и 75 мл воды и доводят объём до метки дистиллированной водой при 20°C. С помощью пипетки отбирают 10 мл полученного раствора Амп и переносят в мерную колбу на 100 мл, добавляют при перемешивании 10,0 мл 0,02 моль/л раствора KHSO_5 и доводят объём до метки дистиллированной водой при 20°C. С помощью пипетки отбирают 10 мл реакционной смеси и переносят в колбу на 100 мл, подкисляют 1мл 0,1 моль/л раствора H_2SO_4 и при интенсивном перемешивании добавляют 2 мл 5% раствора йодида калия. Вытесненный йод сразу оттитровывают стандартным 0,02 моль/л раствором тиосульфата натрия. Параллельно при этих же условиях проводят контрольный опыт (без исследуемого раствора Амп).

Валидационный метод. Методику проводят согласно международной конференции Harmonization. Для контроля воспроизводимости и точности во всех трёх методах выполняют по пять контрольных анализов за один день при одинаковых экспериментальных условиях. Линейность определяют для широкого интервала концентраций (0–50 мкг/мл). Для построения градуировочного графика во всех трёх методах используют данные 7 экспериментальных пунктов.

Результаты и обсуждение

Кинетико-спектрофотометрический метод.

В результате исследования установлено, что порядок смешивания растворов существенно влияет на кинетику и выход продукта реакции: наибольшая скорость образования продукта была после предварительного смешивания исследуемого раствора Амп с KHSO_5 (стадия обра-

зования сульфоксида Амп). С раствором щёлочи (реакция пергидролиза-щелочного гидролиза в присутствии избытка калий гидрогенпероксиомосульфата).

На рис. 1 приведены электронные спектры светопоглощения продукта реакции щелочного гидролиза и пергидролиза Амп в ходе реакции. Очевидно, что максимальное поглощение новообразованного продукта наблюдается при 290 нм. Поэтому при данной длине волны исследуют кинетику аналитической реакции.

Оптимальные концентрации щёлочи $4,88 \times 10^{-3}$ моль/л и KHSO_5 0,02 моль/л, при которых скорость реакции образования продукта пергидролиза наибольшая.

Без KHSO_5 в вышеуказанных условиях на протяжении 30 мин продукт реакции не образуется. Необходимый избыток KHSO_5 может быть объяснен влиянием в процессе дальнейшего гидролитического расщепления S-оксида Амп в щелочной среде (нуклеофильный катализ гидролиза β -лактамного и тиазолидинового циклов). KHSO_5 благодаря альфа-эффекту во много раз более сильный нуклеофил, чем гидроксид-ион (рис. 2).

Построение градуировочного графика. В мерные колбы на 50 мл с помощью микробюретки последовательно отмеряют 0,50; 2,50; 3,00; 4,00; 5,00; 7,50; 10,00 мл стандартного раствора АТ, до-

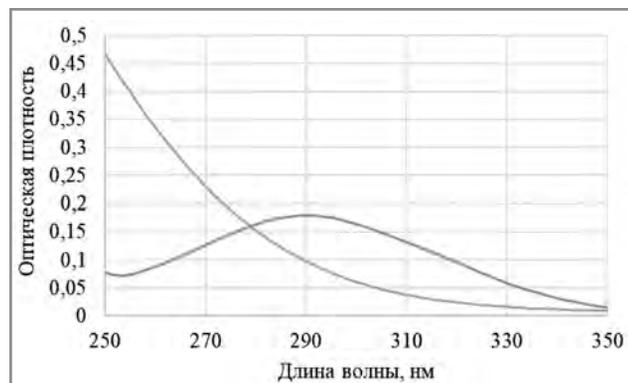


Рис. 1. Электронные спектры светопоглощения продукта реакции Амп ($\text{Amp} + \text{KHSO}_5$, время 15 мин), $C(\text{Amp}) = 10 \text{ мкг мл}^{-1}$.

Fig. 1. Electronic light absorption spectra of the product of Amp reaction ($\text{Amp} + \text{KHSO}_5$, time 15 min), $C(\text{Amp}) = 10 \text{ } \mu\text{g ml}^{-1}$.

бавляют в каждую по 5 мл $2 \cdot 10^{-2}$ моль/л раствора KHSO_5 и тщательно образам взбалтывают. В каждую колбу последовательно приливают 5,0 мл $4,88 \times 10^{-3}$ моль/л раствора натрий гидроксида, доводят объём до метки дистиллированной водой и тщательно образам перемешивают. После добавления к раствору щёлочи начинают отсчёт времени, включают секундомер. Полученные растворы фотометрируют в кварцевой кювете с тол-

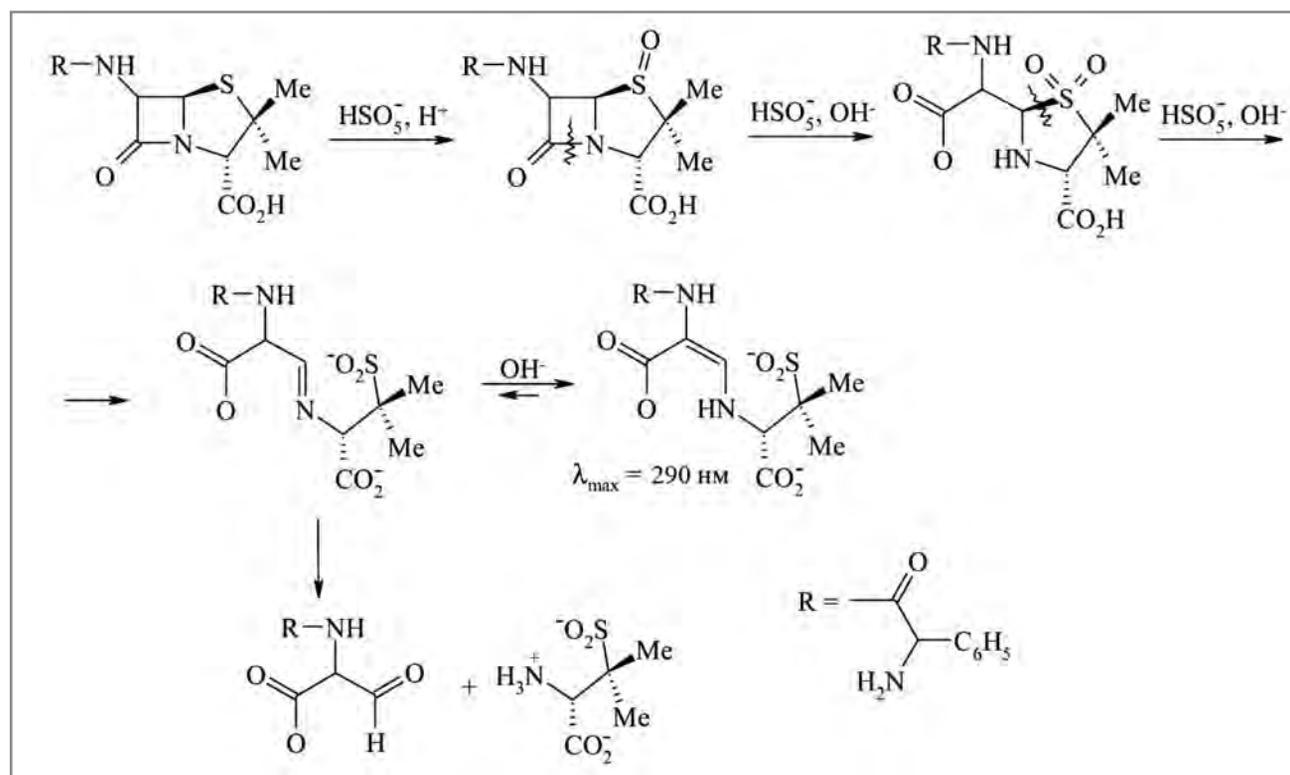


Рис. 2. Схема сопряжённых реакций пероксикислого окисления и пергидролиза Амп с образованием замещённой производной N-акрил- β -пенициламина сульфата (IV).

Fig. 2. Scheme of coupled reactions of peroxycarboxylic acid oxidation and perhydrolysis of Amp with the formation of a substituted derivative of N-acrylic- β -penicillamine sulfate (IV).

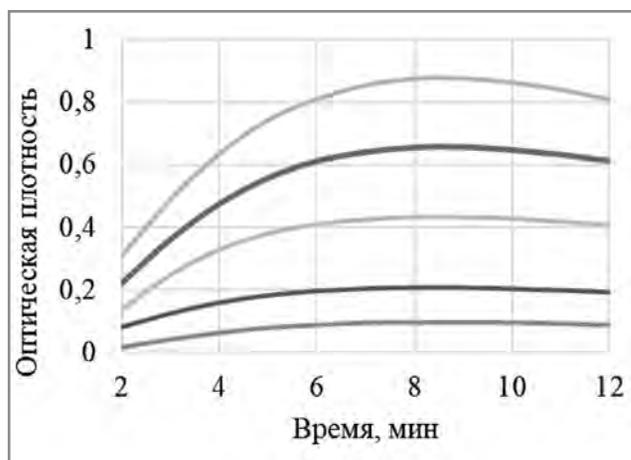


Рис. 3. Кинетические кривые окисления ампициллина KHSO_5 .

Примечание. C (Amp), мкг/мл: 1—5; 2—10; 3—20; 4—30; 5—40. C (KHSO_5) = 0,02 моль/л; C (NaOH) = 0,012 моль/л.

Fig. 3. Kinetic curves of ampicillin oxidation (KNSO_5 , min).

Note. C (Amp), mcg/ml: 1—5; 2—10; 3—20; 4—30; 5—40. C (KHSO_5) = 0.02 mol/l; C (NaOH) = 0.012 mol/l.

щиной 1 см при 290 нм против дистиллированной воды (компенсационный раствор) на протяжении 10 мин через каждую минуту при 20°C и строят кинетические кривые зависимости оптической плотности от времени. По данным наклона линейных участков кинетических кривых строят градуировочную зависимость $\text{tg } \alpha$ от концентрации ампициллина (C , мкг/мл).

На рис. 3 приведены кинетические кривые окисления Амп гидропероксомоносульфатом калия.

На рис. 4 приведён градуировочный график определения Амп, согласно которому в пределах от 5 до 40 мкг/мл концентрационная зависимость величины $\text{tg } \alpha$, которая

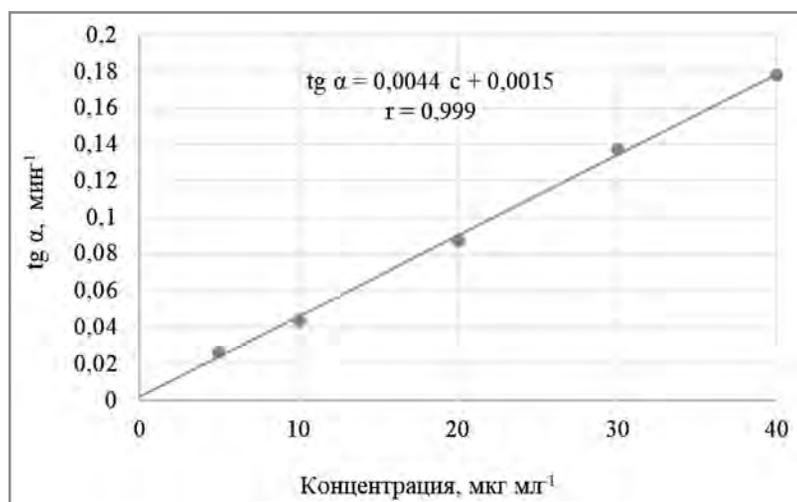


Рис. 4. Калибровочная кривая количественного определения Амп.

Примечание. C (KHSO_5) = 2×10^{-2} моль/л; C (NaOH) = $5,0 \times 10^{-3}$ моль/л.

Fig. 4. Calibration curve for the quantitative determination of Amp.

Note. C (KNSO_5) = 2×10^{-2} mol/l; C (NaOH) = 5.0×10^{-3} mol/l.

Таблица 1. Результаты количественного определения ампициллина кинетико-спектрофотометрическим методом в препарате Амп по реакции с гидропероксомоносульфатом калия ($p=0,95$, $n=7$)

Table 1. Results of quantitative determination of ampicillin using kinetic spectrophotometric method in Amp preparation by reaction with potassium hydrogenperoxomonosulfate ($p=0.95$, $n=7$)

Взято ампициллина, г	Обнаружено		Метрологические характеристики
	г	%	
0,2511*	0,2503	99,68	$\bar{\chi} = 0,2509$ (99,92%) $S = \pm 0,00369$ $S_{\bar{\chi}} = \pm 0,00139$ $\Delta \bar{\chi} = \pm 0,00342$ $RSD = \pm 1,47\%$ $\varepsilon = \pm 1,36\%$ $\delta = -0,08\%$
	0,2465	98,17	
	0,2526	100,60	
	0,2477	98,65	
	0,2491	99,20	
	0,2523	100,48	
	0,2575	102,55	

Примечание. * — содержание Амп, указанное в сертификате качества.

Note. * — the Amp content specified in the quality certificate.

пропорциональна скорости реакции, имеет линейный характер. Это даёт возможность определять количественное содержание Амп в данном интервале концентраций методом стандарта.

Содержание $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ (в г) в одной таблетке, ($X_{\text{амп}}$) рассчитывают по формуле:

$$X_{\text{амп}} = \frac{a_{cm} \times \text{tg} \alpha \times 0,9880 \times \bar{a}}{a \times \text{tg} \alpha_{cm}},$$

где: a_{cm} — масса навески РСО ампициллина, г; $\text{tg} \alpha_{cm}$ — тангенс угла наклона кинетической кривой в опыте с РСО ампициллина, мин⁻¹; a — масса навески исследуемого ампициллина, г; \bar{a} — средняя масса вместимого таблетки, г; $\text{tg} \alpha$ — тангенс угла наклона кинетической кривой в опыте с исследуемым ампициллином, мин⁻¹; 0,9880 — массовая доля основного вещества Амп в РСО в пересчёте на безводное вещество.

Результаты анализа препарата АТ кинетико-спектрофотометрическим методом приведены в табл. 1. Относительное стандартное отклонение не превышало 1,5 % ($\delta = -0,08\%$).

Вольтамперометрический метод. Электрохимическое поведение пенициллинов было предметом исследований ряда отечественных и зарубежных авторов. Они установили, что пенициллины полярографически неактивны. Результаты дальнейших исследований показали возможность определения пенициллинов непрямыми аналитическими методиками, которые основаны на способности продуктов гидролиза пенициллина непосредственно восстанавливаться на РКЭ. Другие предложенные методики базировались на восстановлении полярографически активных нитропродуктов. Осциллографический метод удобен для исследования степени чистоты препарата по характерным пикам продуктов гидролиза на полярограммах. Однако гидролитическое расщепление стойкого Амп требует особенных условий и затраты времени.

Нами предложено количественное определение ампициллина осуществлять в виде соответствующего полярографически активного сульфоксида, добытого в предыдущей стадии анализа с помощью калий гидропероксомоносульфата.

На рис. 5 приведён химизм процесса дериватизации Амп в электрохимически активный сульфоксид ампициллина с помощью калий гидропероксомоносульфата.

Экспериментально было установлено, что образование S-оксида ампициллина в разбавленных слабо кислых растворах происходит практически мгновенно и количественно. Типичная вольтамперограмма приведена на рис. 6.

На фоне 0,1 моль/л KN_2PO_4 (pH 4,7) наблюдалась волна $E_p = -1,17$ В (НКЭ), которая в интервале концентрации деполяризатора $(1,0-8,5) \times 10^{-5}$ моль/л имела диффузионный характер.

Химизм процесса восстановления сульфоксида ампициллина на ртутном микроэлектроде приведён на рис. 7.

Концентрационная зависимость высот пиков деполяризатора в интервале концентраций $(1,0-8,5) \times 10^{-5}$ моль/л: $I_p = 9240 C + 0,058$ ($r = 0,998$) приведена на рис. 8 и в табл. 2.

$$C = \frac{I - 0,058}{9240},$$

где: 0,058 и 9240 — соответствующие коэффициенты линии регрессии градуировочного графика: I кС, в моль/л.

Результаты анализа препарата Амп вольтамперометрическим мето-

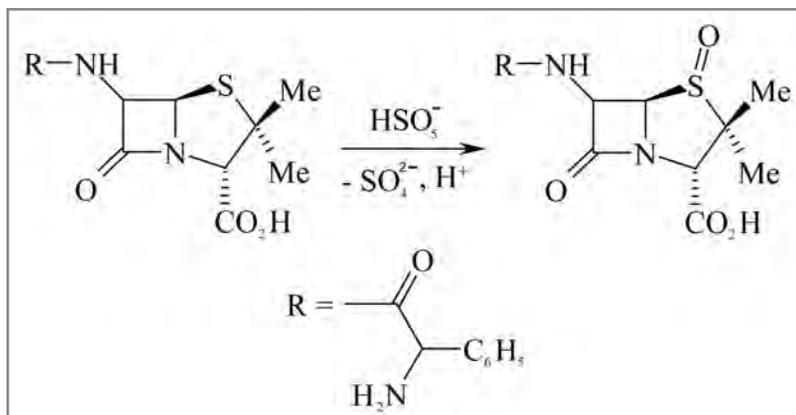


Рис. 5. Химизм процесса дериватизации ампициллина в соответствующий S-оксид.

Fig. 5. Chemistry of the process of ampicillin derivatization into the corresponding S-oxide.

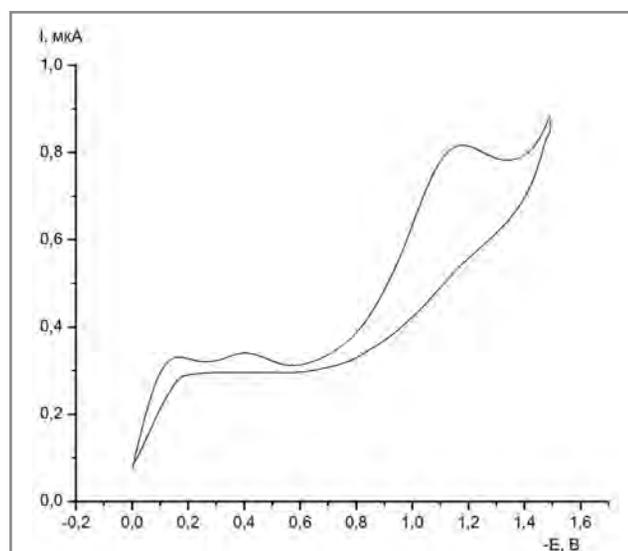


Рис. 6. Вольтамперограмма сульфоксида ампициллина на фоне 0,1 моль/л KN_2PO_4 .

C (Амп) = $4,8 \times 10^{-5}$ моль/л; pH 4,7. $E_p = -1,172$ В (НКЭ).

Fig. 6. Voltammogram of ampicillin sulfoxide against a background of 0.1 mol/l KN_2PO_4 .

Note. C (Amp) = 4.8×10^{-5} mol/L; pH 4.7. $E_p = -1.172$ V (NKE).

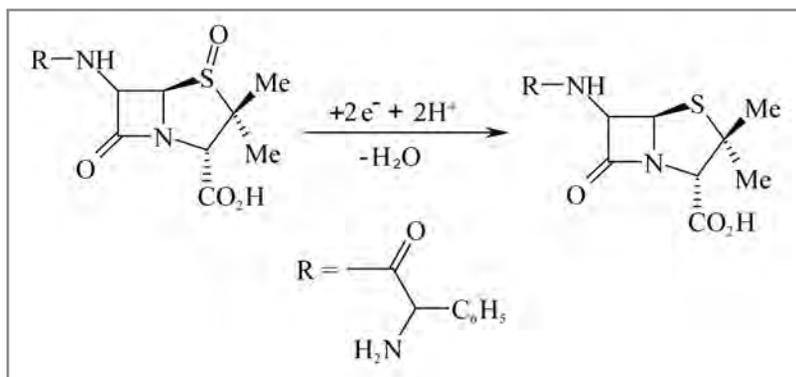


Рис. 7. Процесс восстановления сульфоксида ампициллина на РКЭ.

Fig. 7. Ampicillin sulfoxide reduction process on RCE.

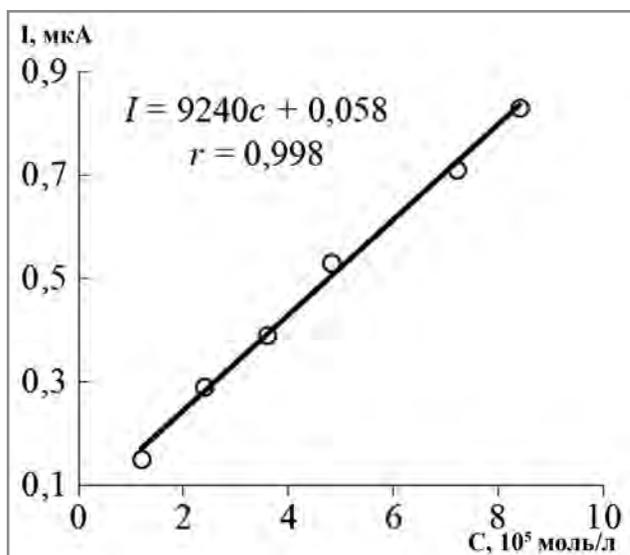


Рис. 8. Градуировочный график вольтамперометрического определения Амп в виде N-оксида ампициллина.

Примечание. 0,1 М KH_2PO_4 (рН 4,7).

Fig. 8. Calibration graph of the voltammetric determination of Amp in the form of ampicillin N-oxide.

Note. 0.1 M KH_2PO_4 (pH 4.7).

дом приведены в табл. 3. Относительное стандартное отклонение не превышало 1,7% ($\delta = +0,4\%$).

Метод окислительно-восстановительного титрования. Методом обратного йодометрического титрования остатка KHSO_5 установлено, что в искомой

Таблица 2. Значения зависимостей высот пиков на полярограммах растворов сульфоксидов ампициллина от молярной концентрации
Table 2. The values of the dependence of the peak heights on the polarograms of ampicillin sulfoxide solutions on the molar concentration

C (Амп), моль/л	I, мкА
$1,2 \times 10^{-5}$	0,15
$2,4 \times 10^{-5}$	0,29
$3,6 \times 10^{-5}$	0,39
$4,8 \times 10^{-5}$	0,52; 0,525 0,53 0,54; 0,52
$7,2 \times 10^{-5}$	0,71
$8,4 \times 10^{-5}$	0,79

реакции на 1 моль Амп расходуется 1 моль KHSO_5 , причём взаимодействие между ними происходит за 1 мин. Аналитическая реакция, которая положена в основу определения, представлена на рис. 9.

Содержание $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$, X, в %, рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{0,02 \times K \times 349,40 \times (V_0 - V) \times 100 \times 100\%}{2 \times 1000 \times m_n \times 100 - w_{\text{H}_2\text{O}}}$$

где: V_0 — объём раствора тиосульфата натрия в контрольном опыте, мл; V — объём раствора тиосульфата натрия в рабочем опыте, мл; 349,40 — молярная масса ампициллина (безводного), г/моль; K — коэффициент поправки концентрации раствора тиосульфата натрия к 0,0200 моль/л; m_n — масса навески Амп, г.

Результаты анализа препарата Амп методом титрования приведены в табл. 4. Относительное

Таблица 3. Результаты количественного определения ампициллина вольтамперометрическим методом в препарате Амп по реакции с гидрогенпероксомоносульфатом калия ($p=0,95$, $n=5$)

Table 3. Results of quantitative determination of ampicillin by voltammetric method in Amp preparation by reaction with potassium hydrogenperoxomonosulfate ($p=0.95$, $n=5$)

Содержание ампициллина в модельном растворе, моль/л	Найденное содержание ампициллина, моль/л	Метрологические характеристики
$5,05 \times 10^{-5}$	$5,00 \times 10^{-5}$	$\bar{\chi} = 5,07 \times 10^{-5}$
	$5,10 \times 10^{-5}$	$S = \pm 8,37 \times 10^{-7}$
	$5,00 \times 10^{-5}$	$S\bar{\chi} = \pm 3,7$
	$5,05 \times 10^{-5}$	$\Delta\bar{\chi} = \pm 1,04 \times 10^{-6}$
	$5,20 \times 10^{-5}$	$RSD = \pm 1,65\%$
		$\varepsilon = \pm 2,05\%$
		$\delta = +0,4\%$

Примечание. * — содержание Амп, указанное в сертификате качества.

Note. * — the Amp content specified in the quality certificate.

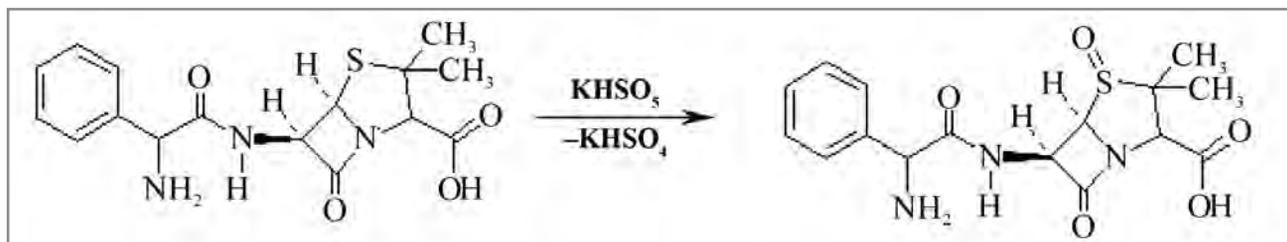


Рис. 9. Схема S-окисления ампициллина гидрогенпероксомоносульфатом калия.

Fig. 9. Scheme of S-oxidation of ampicillin with potassium hydrogenperoxomonosulfate.

Таблица 4. Результаты количественного определения ампициллина методом титрования в препарате Амп по реакции с гидрогенпероксомоносульфатом калия ($p=0,95, n=7$)

Table 4. Results of quantitative determination of ampicillin by titration in Amp preparation by reaction with potassium hydrogenperoxomonosulfate ($p=0.95, n=7$)

Взято ампициллина, г	Обнаружено		Метрологические характеристики
	г	%	
0,2511*	0,2553	101,67	$\bar{\chi} = 0,2565 (102,15\%)$
	0,2564	102,11	$S = \pm 0,00136$
	0,2574	102,51	$S\bar{\chi} = \pm 0,00051$
	0,2584	102,91	$\Delta\bar{\chi} = \pm 0,00126$
	0,2566	102,19	$RSD = \pm 0,53\%$
	0,2571	102,39	$\varepsilon = \pm 0,49\%$
	0,2543	101,27	$\delta = -2,1\%$

Примечание. * — содержание АТ, указанное в сертификате качества.

Note. * — the AT content specified in the quality certificate.

стандартное отклонение не превышало 0,5% ($\delta = -2,1\%$).

С использованием кинетико-спектрофотометрического метода (тангенсов), вольтамперометрии и окислительно-восстановительного титрования разработаны три независимые методики и показана возможность количественного определения ампициллина (Амп) в субстанции и лекарственном

препарате с использованием в качестве аналитического реагента калий гидрогенпероксомоносульфата ($KHSO_5$).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Литература/References

- British Pharmacopoeia. V. 1–6. London: The Stationery Office. 2014; 5860.
- European Pharmacopoeia. 5th Ed. Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines. 2005; 2781.
- Фармацевтическая химия. А. П. Арзамасцев (ред.). М.: ЭОТАР МЕД, 2004; 176. [Farmatsevticheskaya khimiya. A. P. Arzamastsev (ed.). Moscow: EOTAR. MED, 2004; 176. (in Russian)]
- Liu K., Sun D., Zhao Y. Assay detection for azlocillin sodium and sulbactam sodium for injection by HPLC. Chin J Pharm Anal. 2008; 28: 1568–70.
- Соколова Л.И., Черняев А.П. Определение антибиотиков цефалоспоринового ряда в биологических объектах методом обращено-фазовой ВЭЖХ. Хим-фарм журн. 2002; 36: Suppl 5: 39–45. [Sokolova L.I., Chernyaev A.P. Opredelenie antibiotikov tsefalosporinovogo ryada v biologicheskikh ob'ektakh metodom obrashcheno-fazovoy VEZhKh. Khim-Farm Zhurn. 2002; 36: Suppl 5: 39–45. (in Russian)]
- Puing P., Borull E., Calull M. Sample stacking for the analysis of eight penicillin antibiotics by micellar electrokinetic capillary chromatography. Electrophor. 2005; 26: 954–961.
- Batravi N., Wahdan S., Al-Rimawi F. A validated stability-indicating HPLC method for simultaneous determination of amoxicillin and enrofloxacin combination in an injectable suspension. Scient Pharm. 2017; 85: Suppl 6: 1–8.
- Государственная фармакопея Украины. Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных препаратов». 1-е изд. Дополнения 4. Харьков.: РИРЕГ 2011; 367. [Gosudarstvennaya farmakopeya Ukrainy. Gosudarstvennoe predpriyatie «Ukrainskij nauchnyj farmakopeynyj tsentr kachestva lekarstvennykh preparatov». 1-e izd. Dopolneniya 4. Khar'kov.: RIREG 2011; 367. (in Russian)]
- Wang P., Wang B., Cheng X. A method for determination of penicillin G residue in waste penicillin chrysoygenum using high performance liquid chromatography. Appl Mech Mat. 2015; 768: 15–24.
- Batravi N., Wahdan S., Al-Rimawi F. A validated stability-indicating HPLC method for simultaneous determination of amoxicillin and enrofloxacin combination in an injectable suspension. Scien Pharm. 2017; 85 (6): 1–8.
- Zhang X., Baeyens W. Chemiluminescence determination of tetracyclines based on their reaction with hydrogen peroxide catalyzed by the copper ion. Analyst. 1995; 120 (2): 463–466.
- Khare B., Khare K. Spectrophotometric determination of antibiotic drug penicillin in pharmaceutical samples using 2,6 dichlorophenol indo-phenol, N-bromocaprolactam and N-chlorosuccinimide. Int J Rec Res Phys Chem Sci. 2017; 4: 1–7.
- Sangeetha S., Kumar M., Kumudhavalli M. Development and validation of UV spectrophotometric area under curve method for quantitative estimation of piperacillin and tazobactam. Int J Chem Tech Res. 2017; 10 (2): 988–994.
- Chaudhary N., Mishra P. Bioactivity of some divalent M(II) complexes of penicillin based Schiff base ligand: Synthesis, spectroscopic characterization, and thermal study. J Saud Chem Soc. 2018; 22 (5): 601–613.
- Клюев Н.А. Применение масс-спектрометрии и хромато-масс-спектрометрии в анализе лекарственных препаратов. Журн аналит химии. 2002; 57 (6): 566–584. [Klyuev N.A. Primenenie mass-spektrometrii i khromato-mass-spektrometrii v analize lekarstvennykh preparatov. Zhurn Analit Khimii. 2002; 57 (6): 566–584. (in Russian)]
- United States Pharmacopoeial Convention. 38th Ed. 2015; 3795.
- Sallach J., Snow D., Hodges L. Development and comparison of four methods for the extraction of antibiotics from a vegetative matrix. Envir Toxicol Chem. 2016; 35 (4): 889–897.
- Navarro M., Li M., Muller-Bunz H., Bernhard S. Donor-flexible nitrogen ligands for efficient iridium-catalyzed water oxidation catalysis. Eur J Chem. 2016; 22 (20): 6740–6745.
- Karпова S. P. Quantitative determination of amoxicillin trihydrate in medical forms using kinetic method. J Chem Pharm Res. 2014; 6 (4): 1120–1125.
- Штыков С.Н., Смирнова Т.Д., Быликин Ю.Г. Флуориметрическое определение тетрациклинов с помощью хелата европия с 1.10-фенантролином в мицеллярных растворах анионных ПАВ. Журн аналит химии. 2005; 60 (1): 30–34. [Shtykov S.N., Smirnova T.D., Bylikin Yu.G. Fluorimetricheeskoe opredelenie tetratsiklinov s pomoshch'yu khelata evropiya s 1.10-fenantrolinom v mitsellyarnykh rastvorakh anionnykh PAV. Zhurn Analit Khimii. 2005; 60 (1): 30–34. (in Russian)]
- Shapiro A. Investigation of β -lactam antibacterial drugs, β -lactamases, and penicillin-binding proteins with fluorescence polarization and anisotropy: a review. Meth Appl Fluor. 2016; 4 (2): 1–8.
- Ahmad A., Rahman N., Islam F. Spectrophotometric determination of ampicillin, amoxycillin, and carbenicillin using folin-ciocalteu phenol reagent. J Anal Chem. 2004; 59 (2): 119–123.
- Dubenska L., Blazhejevskij M., Plotyca S. Voltammetric methods for the determination of pharmaceuticals. Meth Obj Chem Anal. 2017; 12 (3): 61–75.
- Belal F., Al-Majed A., Ibrahim K. Voltammetric determination of josamycin (a macrolide antibiotic) in dosage forms and spiked human urine. J Pharm Biomed Anal. 2002; 30 (3): 705–713.
- Кулапина Е.Г., Барагузина В.В., Кулапина О.И. Ионоселективные электроды для определения антибиотиков пенициллинового ряда в биологических жидкостях и лекарственных формах. Журн аналит химии. 2004; 59 (9): 971–975. [Kulapina E.G., Baraguzina V.V., Kulapina O.I. Ionoselektivnye elektrody dlya opredeleniya antibiotikov penitsillinovogo ryada v biologicheskikh zhidkostyakh i lekarstvennykh formakh. Zhurn Analit Khimii. 2004; 59 (9): 971–975. (in Russian)]

26. *Al-Attas A., El-Enany N., Belal F.* A green capillary zone electrophoresis method for the simultaneous determination of piperacillin, tazobactam and cefepime in pharmaceutical formulations and human plasma. *Biomed Chrom.* 2015; 29 (12): 1811–1818.
27. *Bennet D., Yao H., Richardson D.* Mechanism of sulfide oxidations by peroxymonocarbonate. *Inorg Chem.* 2001; 40 (13): 2996–3001.

Информация об авторах

Карпова С. П. — к. фармацевт. н., доцент кафедры физической и коллоидной химии, Национальный фармацевтический университет, Харьков, Украина

Блажеевский Н. Е. — д. х. н., профессор кафедры физической и коллоидной химии, Национальный фармацевтический университет, Харьков, Украина. ORCID: 0000-0002-8032-347X

About the authors

Svetlana P. Karpova — Ph. D. in Pharmacy, National University of Pharmacy, Ukraine

Nikolay Ye. Blazheyevskiy — D. Sc. in Chemistry, National University of Pharmacy, Ukraine. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8032-347X>

Анализ антибактериальной активности амоксициллина биологическим датчиком с щелевой акустической волной

*О. И. ГУЛИЙ^{1,2}, Б. Д. ЗАЙЦЕВ³, О. С. ЛАРИОНОВА², А. К. М. АЛСОВЭЙДИ¹,
О. А. КАРАВАЕВА¹, А. М. ПЕТЕРСОН⁴, И. А. БОРОДИНА³

¹ Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов, Россия

² Саратовский государственный аграрный университет им. Н. И. Вавилова, Саратов, Россия

³ Институт радиотехники и электроники им. В. А. Котельникова РАН, Саратовский филиал, Саратов, Россия

⁴ Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н. Г. Чернышевского, Саратов, Россия

Analysis of Amoxicillin's Antibacterial Activity Using Biological Sensor With Slit Acoustic Wave

*OLGA I. GULIY^{1,2}, BORIS D. ZAITSEV³, OLGA S. LARIONOVA²,
ALI KADHIM MOHAMMED ALSOWAIDI¹, OLGA A. KARAVAEVA¹,
ALEXANDRA M. PETERSON⁴, IRINA A. BORODINA³

¹ Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms of the Russian Academy of Sciences, Saratov, Russia

² Saratov State Vavilov Agrarian University, Saratov, Russia

³ Kotelnikov Institute of Radio Engineering and Electronics of the Russian Academy of Sciences, Saratov, Russia

⁴ Saratov State University, Saratov, Russia

Резюме

Продемонстрирована возможность оценки антибактериальной активности на примере амоксициллина и *Escherichia coli* с помощью акустического биологического датчика на основе двух пьезоэлектрических пластин, разделённых воздушным зазором. В нижней пластине датчика возбуждается акустическая волна с поперечно-горизонтальной поляризацией. Верхняя пластина служит дном контейнера с исследуемой клеточной суспензией. Показано, что добавление антибиотика к клеточной суспензии приводит к изменению параметров датчика. Проведён контроль воздействия амоксициллина на микробные клетки с помощью лазерной микроскопии и стандартного микробиологического посева. Показана возможность экспресс-анализа антибактериальной активности препаратов с помощью биологического датчика на основе щелевой акустической волны.

Ключевые слова: *Escherichia coli*; акустический бесконтактный биологический датчик; амоксициллин; антибактериальная активность

Для цитирования: Гулий О.И., Зайцев Б.Д., Ларионова О.С., Алсовэйдиди А.К.М., Караваева О.А., Петерсон А.М., Бородина И.А. Анализ антибактериальной активности амоксициллина биологическим датчиком с щелевой акустической волной. *Антибиотики и химиотерапия*. 2021; 66: 1–2: 12–18. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-1-2-12-18.

Abstract

The possibility of antibacterial activity assay using an acoustic non-contact biological sensor based on two piezoelectric plates separated by an air gap was demonstrated on the example of amoxicillin and *Escherichia coli* for the first time. An acoustic wave with transverse horizontal polarization is excited in the bottom plate of the sensor. The upper plate serves as the bottom of the container with the studied cell suspension. It was shown that the addition of an antibiotic to the cell suspension leads to a change in the parameters of the sensor. The effect of amoxicillin on microbial cells was monitored by laser microscopy and standard microbiological culture. The possibility of express analysis of the drug's antibacterial activity using a biological sensor based on the use of a slit acoustic wave is shown.

Keywords: *Escherichia coli*; acoustic non-contact biological sensor; amoxicillin; antibacterial activity

For citation: Guliy O.I., Zaitsev B.D., Larionova O.S., Alsowaidi A.K.M., Karavaeva O.A., Peterson A.M., Borodina I.A. Analysis of amoxicillin's antibacterial activity using biological sensor with critted acoustic wave. *Antibiot i khimioter*. 2021; 66: 1–2: 12–18. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-1-2-12-18.

Введение

В основе эффективного воздействия антибактериальных препаратов лежит высокая чув-

ствительность к ним микробных клеток. Для оценки влияния антибиотика на бактерии применяют стандартные микробиологические методы, такие как определение минимальной по-

© Коллектив авторов, 2021

*Адрес для корреспонденции: пр-т Энтузиастов, 13, г. Саратов, 410049. E-mail: guliy_olga@mail.ru

© Team of Authors, 2021

*Correspondence to: 13 Entuziastov ave., Saratov, 410049 Russia. E-mail: guliy_olga@mail.ru

давливающей концентрации (МПК) в мясо-пептонном бульоне или в твёрдой питательной среде. Определение антимикробной активности основано на способности антибиотиков угнетать рост микроорганизмов. В клинической практике определение антибактериальной активности обычно проводят методом диффузии в агар на плотной питательной среде. Анализ проводится путём сравнения размеров зон угнетения роста тест-штаммов микроорганизмов, которые образуются при испытании растворов стандартного образца и испытуемого препарата определённых концентраций [1–3]. Метод основан на анализе логарифмической зависимости размеров зон угнетения роста тест-микроорганизмов от концентрации антибиотика.

Одним из основных моментов при оценке активности антибиотика является временной диапазон, в течение которого будут получены результаты. Поэтому разработка новых технологий и методов для определения антибактериальной активности препаратов весьма актуальна для микробиологии и медицины. Использование метода электроакустического анализа для регистрации воздействия антибиотиков на бактерии предоставляет широкие возможности для решения различных биотехнологических задач, в том числе, и для анализа антибактериальной активности. Ранее была показана возможность использования метода электроакустического анализа на примере пьезоэлектрического резонатора с поперечным электрическим полем для определения чувствительности микробных клеток к амоксициллину [4–5]. Одним из основных условий при разработке новых методов при работе с бактериями является соблюдение условий многократного использования датчика и возможность его очистки от микроорганизмов без повреждения элементов датчика. Поэтому на данном этапе исследования направлены на разработку метода оценки антибактериальной активности препаратов акустическим датчиком, в котором контейнер с исследуемой суспензией бактериальных клеток изолирован от поверхности датчика. Конструкция датчика позволяет проводить многократную смену измерительной ячейки с последующей очисткой от микробной суспензии без внесения помех при регистрации аналитического сигнала [6].

Бета-лактамы антибиотики (β -ЛА) являются основой современной химиотерапии, так как занимают ведущее место в лечении большинства инфекционных болезней. Это наиболее многочисленная группа среди всех антибактериальных средств [7]. Поэтому в работе использовали представитель группы β -ЛА — амоксициллин.

Цель работы — демонстрация возможности оценки антибактериальной активности амокси-

циллина в отношении *Escherichia coli* с помощью акустического биологического датчика на основе структуры из двух пьезоэлектрических пластин, разделённых воздушным зазором с распространяющейся акустической волной с поперечно-горизонтальной поляризацией.

Материал и методы

Бактериальные штаммы и условия выращивания бактерий. В работе использовали бактерии *Escherichia coli* XL-1, полученные из коллекции ризосферных микроорганизмов ИБФРМ РАН (Саратов), (<http://collection.ibppm.ru>).

Для культивирования бактерий использовали жидкую питательную среду LB следующего состава (г/л): NaCl (ЗАО «ЛенРеактив»), Россия — 5,0; пептон (Becton, Dickinson & Co., США) — 10,0; дрожжевой экстракт (DIFCO, США) — 5,0.

В качестве антибиотика в работе использовали амоксициллин (Sigma, США).

Подготовка клеток к анализу. Перед проведением анализа клетки отмывали в дистиллированной воде трёхкратным центрифугированием при 2800 g в течение 5 мин, затем ресуспендировали в небольшом объёме воды (электропроводность 1,8–2,0 $\mu\text{S}/\text{cm}$). Оптическую плотность подготовленной бактериальной суспензии доводили до значений $D_{600}=0,4–0,42$. Оптическую плотность микробных клеток определяли в кювете с толщиной оптического слоя 1,0 см на спектрофотометре «Specol-221» («Carl Zeiss Jena», Германия).

Устройство датчика и методика эксперимента. Основным элементом датчика для определения микробных клеток являлась линия задержки, изготовленная из пластины Y-X ниобата лития толщиной 200 мкм. На одной из сторон пластины были нанесены встречно-штыревые преобразователи для возбуждения и приёма акустической волны с поперечно-горизонтальной поляризацией. На противоположной стороне пластины с некоторым зазором помещался жидкостный контейнер, основание которого было выполнено из пластины ниобата лития Z-X+30° среза толщиной 500 мкм. Зазор между дном контейнера и поверхностью пьезопластины обеспечивался с помощью полосок алюминиевой фольги толщиной 16 мкм. Скорость акустической волны, распространяющейся в такой структуре, изменялась при изменении проводимости жидкости, находящейся в контейнере. Изменение скорости волны приводило к изменению выходных параметров датчика – глубины и частоты пиков резонансного поглощения на частотной зависимости полных потерь акустической линии задержки [6].

Для проведения экспериментов датчик подключали к измерителю S-параметров E5071C («Agilent», США) в режиме измерения частотной зависимости полных потерь устройства. Предварительно были измерены характеристики датчика с ячейкой без жидкости. Было установлено наличие ярко выраженных резонансных пиков на частотной зависимости полных потерь, связанных с возбуждением щелевой волны, распространяющейся в структуре из двух пьезопластин [8]. Затем жидкостная ячейка заполнялась дистиллированной водой, и вновь регистрировали изменения выходного сигнала датчика. Далее жидкостный контейнер заполнялся суспензией клеток и измерялись частотные зависимости полных потерь датчика для этого случая. Количество клеток в измерительной ячейке было постоянным и составляло 10^6 кл/мл. После этого в ячейку с клетками добавляли амоксициллин с определённой концентрацией (2–20 мкг/мл) и снова фиксировали показания датчика. Аналитическим сигналом служило изменение глубины и частоты резонансных пиков на частотной зависимости полных потерь датчика.

Все эксперименты проводились не менее чем пять раз. Относительная погрешность результатов измерений составляла $\pm 3\%$, т. е. при проведении нескольких экспериментов с одним и

тем же взаимодействием суспензии клеток с антибиотиком значения глубины резонансных пиков на частотной зависимости полных потерь датчика имели разброс в пределах $\pm 3\%$.

Определение количества жизнеспособных бактерий. Для подсчёта количества колоний, образующихся из отдельных жизнеспособных клеток, использовали стандартный метод посева на поверхности плотной среды, содержащей (г/л): NaCl, 10; дрожжевой экстракт (FLUKA, Швейцария), 5; пептон (FLUKA, Швейцария), 5. Для этого суспензию клеток, подготовленную для анализа, обрабатывали амоксициллином (используемые концентрации 2–20 мкг/мл) при 37°C. После этого 0,1 мл разбавленной культуры клеток вносили пипеткой на поверхность агара в чашке Петри, и распределяли по поверхности с помощью стеклянного шпателя. Чашки инкубировали в термостате в течение ночи при постоянной температуре 30°C и проводили подсчёт выросших колоний. В качестве контроля использовали данные подсчёта выросших колоний при посеве клеток без их обработки антибиотиком [9].

Исследование воздействия антибиотика с помощью лазерного диссектора. Для контроля воздействия антибиотика на микробные клетки использовали лазерный диссектор Leica LMD 7000, Leica Microsystems (Германия), метод TL-PH фазового контраста (увеличение 40). Исследования проводились в Центре коллективного пользования научным оборудованием в области физико-химической биологии и нанобиотехнологии «Симбиоз» ИБФРМ РАН. Микробные клетки выращивали на жидкой питательной среде LB до достижения фазы логарифмического роста, затем клетки отмывали в дистиллированной воде трёхкратным центрифугированием при 2800 g в течение 5 мин, затем ресуспендировали до OD₆₀₀ 0,4–0,45. Далее суспензию клеток наносили на предметное стекло и проводили микроскопию образцов до внесения антибиотика (контроль). После этого к подготовленной суспензии бактерий добавляли антибиотик в тех же концентрациях, которые использовались в ходе анализа с помощью акустического датчика. По истечении 5 мин суспензию наносили на предметное стекло и проводили сканирование образца [10].

Результаты и обсуждение

Мишенью действия всех β -ЛА в микробной клетке являются ферменты (транс- и карбоксипептидазы), объединённые названием «пенициллин-связывающие белки» (ПСБ). Эти ферменты связаны с цитоплазматической мембраной микробной клетки и участвуют в синтезе пептидогликана, осуществляющего образование поперечных сшивок клеточной стенки микробов, которая выдерживает давление внутри клетки в несколько атмосфер. Связывание пенициллина и других β -ЛА с ПСБ ведёт к их инактивации, прекращению роста и последующей гибели микроба, при этом бактерицидный эффект β -ЛА максимально выражен в период деления. Чем выше аффинность (сродство) конкретного антибиотика к ПСБ отдельных микроорганизмов, тем выше активность препарата [1].

Поскольку амоксициллин активен в отношении ряда грамотрицательных палочек, в качестве объекта исследования использовались микробные клетки *E.coli*.

Идея экспериментов заключалась в оценке изменений регистрируемых параметров акустического датчика при внесении в суспензию клеток разных концентраций антибиотика. Параллельно проводили оценку антибактериальной активности препарата в отношении этих же бак-

терий с помощью стандартного метода определения МПК. Оценивалось также воздействие амоксициллина на количество бактерии с помощью лазерного диссектора. Результаты акустического анализа сопоставляли с данными МПК и результатами микроскопии. Общая схема экспериментов представлена на рис. 1.

Предварительно были измерены характеристики датчика с ячейкой без жидкости. Диапазон рабочих частот датчика составлял 2,6–3,8 МГц. Было установлено наличие ярко выраженных резонансных пиков на частотной зависимости полных потерь, связанных с возбуждением щелевой моды [8] (рис. 2 а). Затем жидкостная ячейка заполнялась дистиллированной водой, и регистрировали частотные зависимости полных потерь датчика. Показано, что добавление дистиллированной воды в пустую ячейку приводило к значительному уменьшению глубины резонансных пиков по сравнению с пустой ячейкой (рис. 2 б). Это свидетельствовало о том, что данное устройство чувствительно к присутствию жидкости.

Далее измерительная ячейка заполнялась клеточной суспензией, и снова измерялись частотные зависимости полных потерь датчика. Количество клеток в измерительной ячейке для всех экспериментов было постоянным и составляло 10^6 кл/мл. Время воздействия антибактериального препарата составляло 10 мин. Из данных, представленных на рис. 2 в, видно, что добавление бактерий к дистиллированной воде практически не влияло на частотные характеристики устройства. Частота резонансных пиков не меняется, а их глубина меняется незначительно.

После этого в измерительный контейнер с клеточной суспензией добавлялся амоксициллин с определённой концентрацией (2, 4, 8, 12, 16, 20 мкг/мл), и снова фиксировались показания датчика. Выбор используемых концентраций антибиотика был обусловлен ранее проведёнными исследованиями по оценке чувствительности клеток исследуемого штамма [4]. При добавлении амоксициллина к суспензии клеток наблюдалось значительное уменьшение глубины и частоты резонансных пиков по сравнению с ячейкой, заполненной дистиллированной водой с клетками. На рис. 2 г в качестве примера представлены частотные зависимости полных потерь датчика с ячейкой, нагруженной дистиллированной водой с клетками *E.coli* до (серая кривая) и после (чёрная кривая) добавления амоксициллина с концентрацией 4 мкг/мл.

Для каждой используемой концентрации антибиотика регистрировались изменения глубины и частоты резонансных пиков на частотной зависимости полных потерь датчика до и после воздействия препарата на бактериальные клетки. В

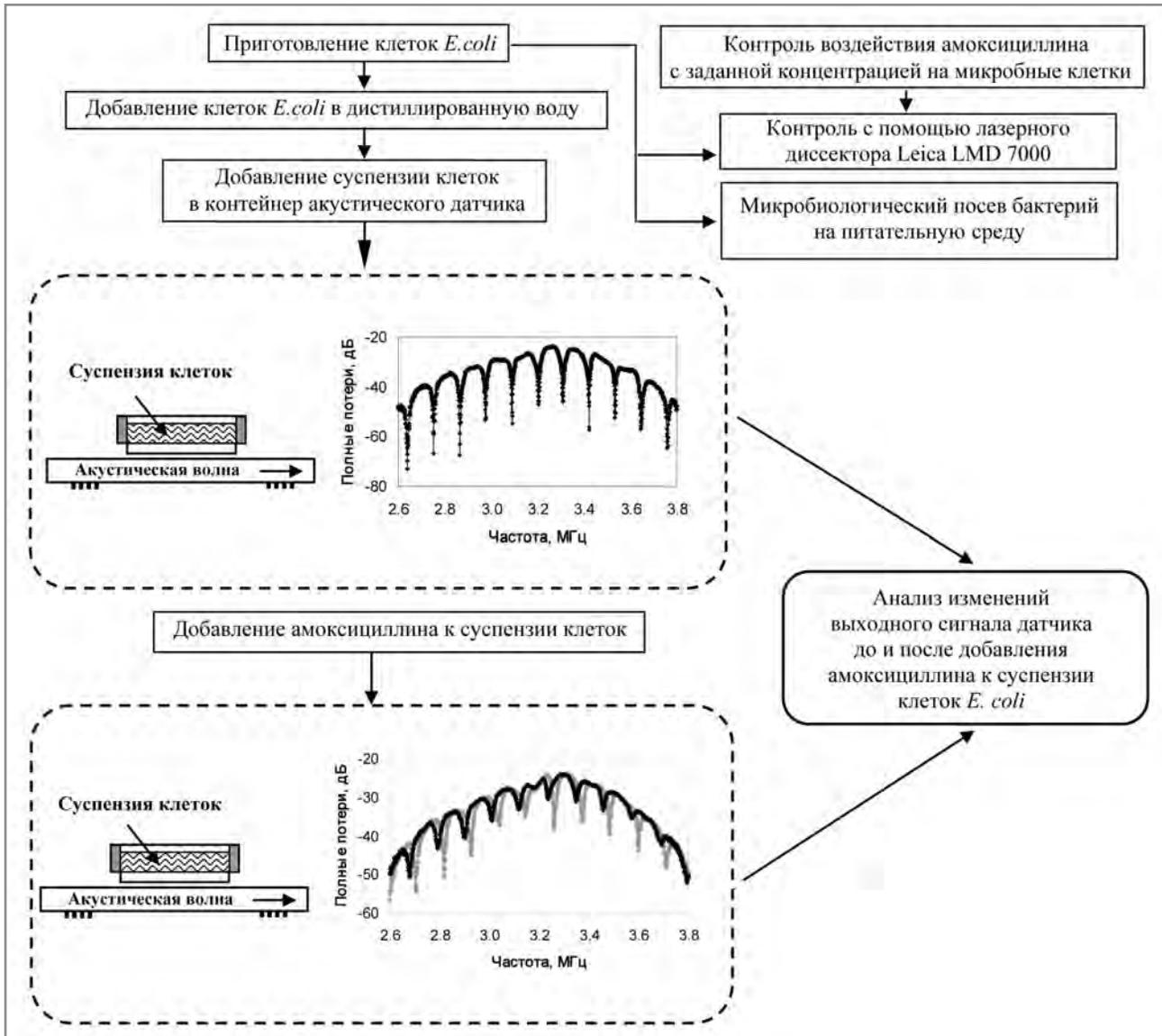


Рис. 1. Общая схема проведения экспериментов.
Fig. 1. General test configuration.

таблице в качестве примера представлены результаты для изменения глубины и частоты резонансного пика вблизи резонансной частоты 2,9 МГц после добавления амоксициллина к суспензии клеток, т. е. разница в сигнале до и после добав-

ления препарата. Одновременно проводили стандартный микробиологический посев микробных клеток на питательную среду с разной концентрацией антибиотика. Количественный учёт проводили путём подсчёта отдельных колоний.

Количество колоний *E.coli*, процентное содержание жизнеспособных клеток и изменение глубины резонансного пика на частоте 2,9 МГц, регистрируемого датчиком, при воздействии на бактерии амоксициллина с разной концентрацией

The number of *E.coli* colonies, the percentage of viable cells, and the change in the depth of the resonance peak at a frequency of 2.9 MHz, recorded by the sensor, upon the exposure of bacteria to different concentrations of amoxicillin

Концентрация антибиотика, мкг/мл	Количество колоний, $K \times 10^3$, кл/мл	Количество жизнеспособных клеток, %	Изменение глубины резонансного пика, дБ
2	283±0,7	86	-10,85
4	207±0,3	62	-12,2
8	149±0,7	45	-12
12	79±0,6	24	-11
16	58±0,6	17	-12,4
20	24±0,4	7	-12,7
Без воздействия антибиотика	329±0,5	100	0

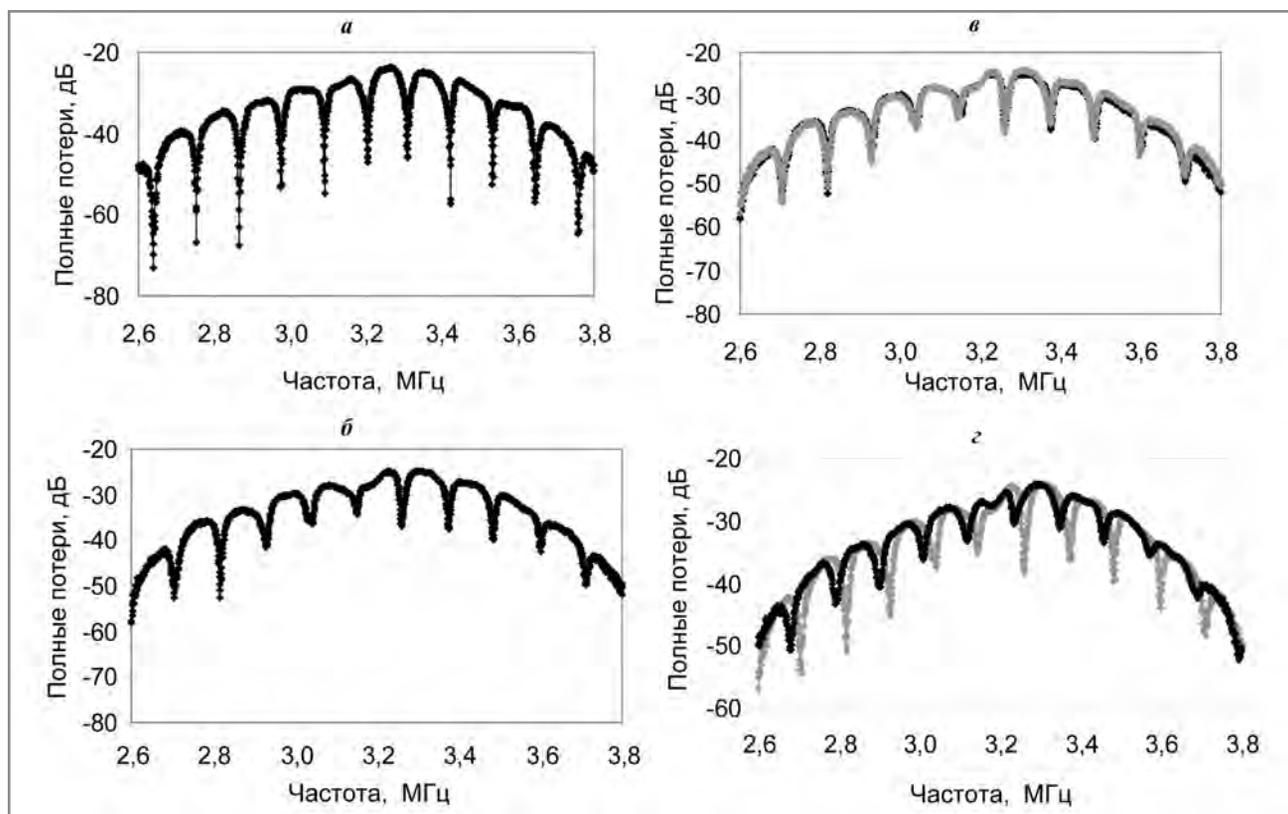


Рис. 2. Частотная зависимость полных потерь выходного сигнала датчика.

Примечание. Для ячеек: *a* — пустой; *б* — наполненной дистиллированной водой; *в* — нагруженной дистиллированной водой без микробных клеток (чёрная кривая) и с клетками (серая кривая); *з* — нагруженной дистиллированной водой с клетками до добавления (серая кривая) и после добавления (чёрная кривая) антибиотика.

Fig. 2. Dependence frequency of total losses of the sensor output signal.

Note. *a* — for an empty cell; for the cell: *б* — filled with distilled water; *в* — loaded with distilled water without microbial cells (black curve) and with cells (gray curve); *з* — loaded with distilled water with cells before the addition (gray curve) and after the addition (black curve) of the antibiotic.

Как видно из данных, представленных в таблице, уровень сигнала, характеризующий чувствительность микробных клеток к амоксициллину, достаточно высок даже при начальной концентрации амоксициллина. Добавление амоксициллина в количестве 2 мкг/мл к суспензии клеток приводит к изменению глубины резонансного пика на 10,85 дБ. При этом количество жизнеспособных клеток также уменьшилось на 14% по сравнению с контролем (без воздействия антибиотика). При дальнейшем увеличении концентрации препарата изменение глубины резонансного пика лежит в пределах 11–12,7 дБ. При этом добавление антибиотика к клеткам чувствительного штамма приводит к сдвигу резонансной частоты на 0,02–0,03 МГц при всех используемых концентрациях препарата.

Наблюдаемое изменение глубины и частоты резонансных пиков можно объяснить следующим образом. Известно, что активность β -ЛА в значительной степени определяется их способностью взаимодействовать с клеточной поверх-

ностью и изменять барьерные свойства цитоплазматической мембраны [1]. Это вызывает нарушение цитоплазматической мембраны, выход внутриклеточных компонентов в суспензию и повышение её проводимости. Поскольку датчик реагирует на изменения проводимости жидкости [9], можно утверждать, что регистрируемые изменения параметров обусловлены повреждением мембраны клеток под действием амоксициллина. Эти результаты согласуются с данными, представленными в работах [10–11], где продемонстрирован лизис клеток *E.coli* вследствие бактерицидного действия β -ЛА на примере ампициллина.

Для подтверждения результатов активности антибиотика в отношении изучаемых бактерий, проводилась также оценка воздействия амоксициллина на бактерии с помощью лазерного диссектора Leica LMD 7000. Выбор данной микроскопии обусловлен тем, что LMD позволяет различать релевантные клетки и обеспечивает

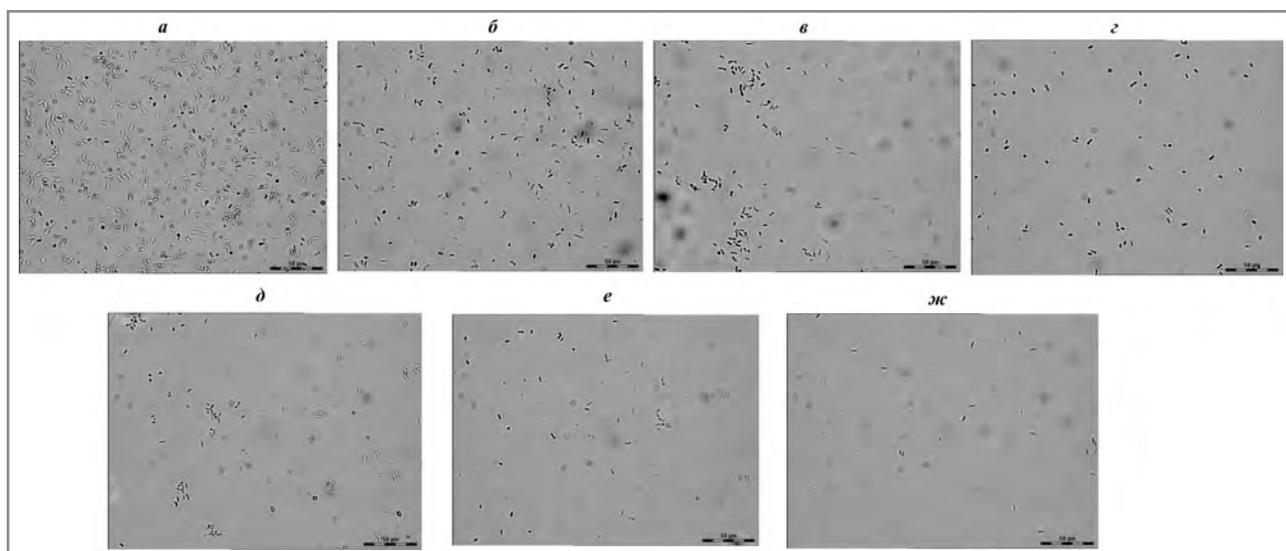


Рис. 3. Изображения микробных клеток, полученные с помощью лазерного диссектора Leica LMD 7000 после воздействия разных концентраций амоксициллина.

Примечание. *a* — контроль, без воздействия антибиотика; после воздействия антибиотика (в мкг/мл): *б* — 2; *в* — 4; *г* — 8; *д* — 12; *е* — 16; *ж* — 20.

Fig. 3. Images of microbial cells obtained using a Leica LMD 7000 laser dissector after exposure to different concentrations of amoxicillin.

Note. *a* — control, without antibiotic exposure; after antibiotic exposure (in µg/ml): *б* — 2; *в* — 4; *г* — 8; *д* — 12; *е* — 16; *ж* — 20.

бесконтактное и свободное от загрязнений выделение отдельных клеток. Высокая числовая апертура линзовых объективов и короткая длина волны лазерного излучения обеспечивают получение изображений с высоким разрешением вдоль оптического и поперечного направлений. В работе [10] продемонстрирована возможность применения лазерного диссектора для контроля оценки β-ЛА на бактерии.

На рис. 3 представлены снимки суспензии клеток до (рис. 3 *a*) и после воздействия разной концентрации амоксициллина 2 (3 *б*), 4 (3 *в*), 8 (3 *г*), 12 (3 *д*), 16 (3 *е*), 20 (3 *ж*) мкг/мл. Из представленных данных видно, что с увеличением концентрации антибиотика количество микробных клеток в поле зрения уменьшается по сравнению с контролем (клетки без воздействия антибиотика, рис. 3 *a*).

Таким образом, на основании полученных данных можно утверждать, что с помощью бесконтактного биологического датчика на основе целевой волны в линии задержки с поперечно-горизонтальной волной нулевого порядка можно проводить оценку антибактериальной активности амоксициллина в отношении микробных клеток. Установлено, что показателем активности антибиотика в отношении микробных клеток является разница между регистрируемым сигналом датчика для суспензии клеток без воздействия антибиотика и после его воздействия, которая зависит от концентрации амоксициллина. Следовательно, регистрируя величину измене-

ния глубины резонансного пика до и после воздействия антибиотика на суспензию микробных клеток можно определить величину антибактериальной активности препарата. Преимуществами данного подхода является то, что исследуемая суспензия клеток помещается в измерительный контейнер, и она контактирует только с верхней частью основания датчика. После добавления антибиотика, препарат очень быстро диффундирует в суспензию, и реакция осуществляется в полном объеме в течение короткого промежутка времени (5–10 мин). Конструкция датчика позволяет решить проблему микробной обсемененности измерительной ячейки и многократного её использования. После проведения измерений жидкостную ячейку с бактериальной суспензией можно легко снимать и очищать от микробных клеток. В то время, пока одна используемая измерительная ячейка очищается от бактерий, другая ячейка с новым образцом может быть исследована. Следовательно, за единицу времени можно исследовать большее количество образцов. В целом, полученные результаты показывают возможность использования устройства на основе двух пьезопластин, разделённых воздушным зазором, для определения активности антибиотиков в отношении бактерий. Тем не менее, в дальнейшем необходимо провести адаптацию описанного метода для применения на других группах антибиотиков с применением разных групп бактерий.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации в рамках госу-

дарственного задания и Российского фонда фундаментальных исследований № 19-07-00304.

Литература/References

1. Antibiotic Resistance Protocols: Second Edition, Gillespie SH, McHugh TD (eds.), Methods in Molecular Biology. Vol. 642. Springer Science+Business Media. LLC 2010.
2. *Balouiri M., Sadiki M., Ibnsouda S.K.* Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: A review. *J Pharm Anal.* 2016; 6 (2): 71–79. doi: 10.1016/j.jpha.2015.11.005
3. *Matuschek E., Brown D. F. J., Kahlmeter G.* Development of the EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method and its implementation in routine microbiology laboratories. *Clin Microbiol Infect.* 2014; 20: O255–O266. doi: 10.1111/1469-0691.12373
4. *Гулий О.И., Зайцев Б.Д., Семенов А.С., Ларионова О.С., Караваева О.А., Бородин И.А.* Оценка воздействия амоксициллина на микробные клетки методом электроакустического анализа. *Биофизика.* 2018. 63 (3): 496–502. doi: 10.1134/S0006350918030089. [*Guliy O.I., Zaitsev B.D., Semenov A.S., Larionova O.S., Karavaeva O.A., Borodina I.A.* Otsenka vozdeystviya amoksisillina na mikrobnnye kletki metodom elektroakusticheskogo analiza. *Biofizika.* 2018. 63 (3): 496–502. doi: 10.1134/S0006350918030089 (in Russian)]
5. *Гулий О.И., Зайцев Б.Д., Караваева О.А., Ловцова Л.Г., Мехта С.К., Бородин И.А.* Экспресс-анализ чувствительности бактерий к бета-лактамам антибиотикам с помощью резонатора с поперечным электрическим полем. *Антибиотики и химиотерапия.* 2019. 64 (1–2): 3–8. doi: 10.24411/0235W2990W2019W10001 [*Guliy O.I., Zaitsev B.D., Karavaeva O.A., Lovtsova L.G., Mekhta S.K., Borodina I.A.* Ekspress-analiz chuvstvitel'nosti bakterij k beta-laktamnym antibiotikam s pomoshch'yu rezonatora s poperechnym elektricheskim polem. *Antibiot khimioter.* 2019; 64 (1–2): 3–8. doi: 10.24411/0235W2990W2019W10001 (in Russian)]
6. *Borodina I.A., Zaitsev B.D., Teplykh A.A.* The influence of viscous and conducting liquid on characteristics of slot acoustic wave. *Ultrasonics.* 2018; 82: 39–43. doi: 10.1016/j.ultras.2017.07.011
7. European Medicines Agency, European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption, 2017. 'Sales of veterinary antimicrobial agents in 30 European countries in 2015'. (EMA/184855/2017).
8. *Borodina I.A., Zaitsev B.D., Kuznetsova I.E., Teplykh A.A.* Acoustic Waves in a Structure Containing Two Piezoelectric Plates Separated by an Air (Vacuum) Gap. *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control.* 2013; 60 (12): 2677–2281. doi: 10.1109/TUFFC.2013.2867
9. Методы общей бактериологии под редакцией Ф.Герхарда. М.: Мир, 1983; 1: 458–464. [Metody obshchej bakteriiologii pod redaktsiej F.Gerkharda. Moscow: Mir, 1983; 1: 458–464 (in Russian)]
10. *Johnson W.L., France D.C., Rentz N.S., Cordell W.T., Walls F.L.* Sensing bacterial vibrations and early response to antibiotics with phase noise of a resonant crystal. *Scientific Reports.* 2017; 7: 12138. doi: 10.1038/s41598-017-12063-6
11. *Yao Z., Kahne D., Kishoy R.* Distinct single-cell morphological dynamics under beta-lactam antibiotics. *Mol Cell.* 2012; 48: 705–712. doi: 10.1016/j.molcel.2012.09.016

Информация об авторах

Гулий Ольга Ивановна — д. б. н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории биохимии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук (ИБФРМ РАН); профессор кафедры микробиологии, биотехнологии и химии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования Саратовский государственный аграрный университет им. Н. И. Вавилова, Саратов, Россия

Зайцев Борис Давыдович — д. физ.-мат. н., профессор, заведующий лабораторией физической акустики Саратовского филиала Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института радиотехники и электроники им. В. А. Котельникова РАН, Саратов, Россия

Ларионова Ольга Сергеевна — д. б. н., зав. кафедрой микробиологии, биотехнологии и химии ФГБОУ ВО Саратовский государственный аграрный университет им. Н. И. Вавилова, Саратов, Россия

Алсовэиди Али Кадхим Мохаммед — аспирант очной формы обучения Саратовского национального исследовательского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского, Саратов, Россия

Караваева Ольга Александровна — к. б. н., научный сотрудник лаборатории биохимии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН. Саратов, Россия

Петерсон Александра Михайловна — к. б. н., доцент кафедры микробиологии и физиологии растений Саратовского национального исследовательского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского, Саратов, Россия

Бородин Ирина Анатольевна — к. физ.-мат. н., ведущий научный сотрудник лаборатории физической акустики Саратовского филиала Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института радиотехники и электроники им. В. А. Котельникова РАН. Саратов, Россия

About the authors

Olga I. Guliy — D.Sc. in biology, Professor, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms of the Russian Academy of Sciences, Saratov State Vavilov Agrarian University, Saratov, Russia

Boris D. Zaitsev — D.Sc. in physics and mathematics, Professor, Kotelnikov Institute of Radio Engineering and Electronics of the Russian Academy of Sciences, Saratov, Russia

Olga S. Larionova — D.Sc. in biology, Saratov State Vavilov Agrarian University, Saratov, Russia

Ali Kadhim Mohammed Alsowaidi — full-time postgraduate student, Saratov State University, Saratov, Russia

Olga A. Karavaeva — Ph.D. in biology, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms of the Russian Academy of Sciences, Saratov, Russia

Alexandra M. Peterson — Ph.D. in biology, Saratov State University, Saratov, Russia

Irina A. Borodina — Ph.D. in physics and mathematics, Kotelnikov Institute of Radio Engineering and Electronics of the Russian Academy of Sciences. Saratov, Russia

Фармакокинетика имидазолилэтанамида пентандиовой кислоты у здоровых добровольцев

И. Г. ГОРДЕЕВ¹, В. И. КАЗЕЙ², *А. В. КАПАШИН³, Е. Е. ЛУЧИНКИНА¹,
А. А. ГЛОБЕНКО³, А. Л. ВЛАДЫКИН³, Е. А. ДЖАЙН³,
А. И. ЧЕРЕНКОВА³, И. А. КОКОРИН¹, Н. Н. ЛЕВЧУК¹,
Т. В. СМОЛИНА¹, П. Д. СОБОЛЕВ², С. Ю. ГОРБАЧЕВА²

¹ Исследовательский центр ГБУЗ «Городская клиническая больница № 15 ДЗМ», Москва, Россия

² Биоаналитическая лаборатория ООО «Экзактэ Лабс», Москва, Россия

³ Фармацевтическая компания АО «Валента Фарм», Москва, Россия

Pharmacokinetics of Pentanedioic Acid Imidazolyl Ethanamide in Healthy Volunteers

IVAN G. GORDEEV¹, VASILY I. KAZEY², *ALEKSEY V. KAPASHIN³,
ELENA E. LUCHINKINA¹, ALEXANDER A. GLOBENKO³,
ALEXANDER L. VLADYKIN³, EKATERINA A. JAIN³, ANZHELIKA I. CHERENKOVA³,
ILYA A. KOKORIN¹, NINA N. LEVCHUK¹, TATYANA V. SMOLINA¹,
PAVEL D. SOBOLEV², SVETLANA YU. GORBACHEVA²

¹ Research Center at the Municipal Clinical Hospital No. 15 named O. M. Filatov, Moscow, Russian Federation

² Exacte Labs LLC Bioanalytical laboratory, Moscow, Russian Federation

³ JSC Valenta Pharm pharmaceutical company, Moscow, Russian Federation

Резюме

Актуальность. Применение имидазолилэтанамида пентандиовой кислоты (ИПК) в качестве противовирусного средства имеет длительный клинический опыт, однако сведения о зависимости фармакокинетики ИПК от полиморфизма изоферментов системы цитохрома P450 (CYP) и о вариабельности фармакокинетических показателей у человека в доступной литературе отсутствуют.

Цель: определить основные фармакокинетические показатели ИПК у здоровых добровольцев, оценить вклад полиморфизма изоферментов CYP P450 в вариабельность фармакокинетических параметров.

Материал и методы. В исследовании приняли участие 12 здоровых добровольцев (5 мужчин и 7 женщин) европеоидной расы, которые в ходе двух периодов дозирования, разделённых 7-дневным отмывочным периодом, принимали препарат Ингавирин® в дозе 180 мг (2 капсулы по 90 мг) натощак. Определение концентрации ИПК в образцах плазмы крови и мочи проводилось методом высокоэффективной жидкостной хроматографии-тандемной масс-спектрометрии. Для изучения фармакогенетических особенностей метаболизма ИПК у добровольцев в ходе исследования провели анализ полиморфизма генов CYP методом полимеразной цепной реакции.

Результаты. После перорального приёма ИПК быстро достигал системного кровотока: максимальная концентрация, составлявшая $578,88 \pm 145,21$ нг/мл, наблюдалась примерно через 2 ч. Фармакокинетические параметры ИПК не отличались высокой внутрииндивидуальной вариабельностью и не зависели от полиморфизма изоферментов CYP1A1, CYP2C9 и CYP2D6. В течение 48 ч после приёма исследуемого препарата с мочой в неизменённом виде выводилось около половины от принятой дозы ИПК, что свидетельствует о значительном вкладе почек в элиминацию ИПК. Единственным нежелательным явлением, зарегистрированным у 1 добровольца, являлось клинически незначимое снижение уровня лейкоцитов, не потребовавшее медицинского вмешательства и разрешившееся без последствий.

Заключение. ИПК характеризуется предсказуемой фармакокинетикой, низкой внутрииндивидуальной вариабельностью фармакокинетических показателей и благоприятным профилем безопасности.

Ключевые слова: фармакокинетика; фармакогенетика; клиническое исследование; имидазолилэтанамида пентандиовой кислоты

Для цитирования: Гордеев И.Г., Казей В.И., Капашин А.В., Лучинкина Е.Е., Глобенко А.А., Владыкин А.Л., Джайн Е.А., Черенкова А.И., Кокорин И.А., Левчук Н.Н., Смолина Т.В., Соболев П.Д., Горбачева С.Ю. Фармакокинетика имидазолилэтанамида пентандиовой кислоты у здоровых добровольцев. *Антибиотики и химиотерапия*. 2021; 66: 1–2: 19–25. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-1-2-19-25.

Abstract

Relevance. Pentanedioic acid imidazolyl ethanamide (PAIE) has been used clinically as an antiviral agent for a long time, however, there is no information in the available literature concerning the dependence of PAIE pharmacokinetics on isoenzymes polymorphism of the cytochrome P450 system (CYP), as well as on the variability of pharmacokinetic parameters in humans.

The aim of the study is to determine the main pharmacokinetic parameters of PAIE in healthy volunteers and to assess the contribution of polymorphism of CYP P450 isoenzymes to the variability of pharmacokinetic parameters.

Material and methods. The study included 12 healthy volunteers (5 men and 7 women) of the Caucasian race, who took Ingavirin® at a dose of 180 mg (2 capsules of 90 mg) on an empty stomach during two dosing periods, separated by a 7-day washout period. Determination of PAIE concentration in blood plasma and urine samples was carried out by high-performance liquid chromatography–mass spectrometry. Polymorphism of CYP genes was analyzed using the polymerase chain reaction method in order to analyze the pharmacogenetic features of PAIE metabolism in volunteers during the study.

Results. After oral administration, PAIE quickly reached the systemic circulation: the maximum concentration of 578.88 ± 145.21 ng/ml was observed after about 2 hours. Pharmacokinetic parameters of PAIE did not show high intraindividual variability and did not depend on polymorphism of isoenzymes CYP1A1, CYP2C9, and CYP2D6. Within 48 hours after the administration of the studied drug, about half of the taken dose of PAIE was excreted in the urine unchanged, which indicates a significant contribution of the kidneys to the elimination of PAIE. The only adverse event registered in 1 volunteer was a clinically insignificant decrease in the level of leukocytes, which did not require medical intervention and was resolved without consequences.

Conclusion. PAIE is characterized by predictable pharmacokinetics, low intraindividual variability of pharmacokinetic parameters, and a favorable safety profile.

Keywords: pharmacokinetics; pharmacogenetics; clinical research; pentanedioic acid imidazolyl ethanamide

For citation: Gordeev I.G., Kazei V.I., Kapashin A.V., Luchinkina E.E., Globenko A.A., Vladykin A.L., Jain E.A., Cherenkova A.I., Kokorin I.A., Levchuk N.N., Smolina T.V., Sobolev P.D., Gorbacheva S.Yu. Pharmacokinetics of pentanedioic acid imidazolyl ethanamide in healthy volunteers. *Antibiot i khimioter.* 2021; 66: 1–2: 19–25. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-1-2-19-25.

Введение

Грипп и другие острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ) являются самыми массовыми и распространёнными болезнями человека. Данная группа заболеваний составляет более 90% всей инфекционной заболеваемости. ОРВИ — группа заболеваний, в которую входят грипп, парагрипп, аденовирусная, респираторно-синцитиальная, риновирусная, коронавирусная и другие вирусные инфекции (более 200 разновидностей), характеризующиеся коротким инкубационным периодом, лихорадкой, интоксикацией и поражением различных отделов дыхательных путей [1].

Особое место в группе ОРВИ занимает грипп, что обусловлено способностью вируса к антигенной изменчивости, которая определяет высокую восприимчивость населения. Грипп — острая вирусная инфекционная болезнь с воздушно-капельным путём передачи возбудителя, характеризующаяся острым началом, лихорадкой (с температурой 38°C и выше), общей интоксикацией и поражением дыхательных путей. Возбудитель гриппа является вирусом, содержащим рибонуклеиновую кислоту (РНК), входит в семейство ортомиксовирусов (*Orthomyxoviridae*), включающее пять родов, в том числе: род *Influenza virus A* — вирусы гриппа типа А, род *Influenza virus B* — вирусы гриппа типа В, род *Influenza virus C* — представлен вирусом гриппа типа С [1].

Имидазолэтанамид пентандиовой кислоты (ИПК), действующее вещество лекарственного препарата Ингавирин® (АО «Валента Фарм», Россия), разрешён для медицинского примене-

ния в качестве противовирусного средства, предназначенного для лечения и профилактики гриппа А и В и других острых респираторных вирусных инфекций [2, 3]. Ингавирин® включён в алгоритмы оказания медицинской помощи больным гриппом и острыми респираторными вирусными инфекциями (ОРВИ) [4]. Согласно методическим рекомендациям по лечению гриппа у взрослых (2019 г.), для лечения тяжёлых форм гриппа или осложнённого гриппа рекомендовано применение комбинированной противовирусной терапии, в частности, комбинации осельтамивира перорально по 150 мг два раза в сутки (суточная доза 300 мг) в комбинации с ИПК перорально по 180 мг 1 раз в сутки в течение 5–10 дней. Также рекомендуется применение дезинтоксикационной терапии, нестероидных противовоспалительных средств, парацетамола, антигистаминных, отхаркивающих и топических сосудосуживающих препаратов для лечения ринита.

Несмотря на длительный клинический опыт применения ИПК как у взрослых [5–7], так и у детей [8, 9], сведения о зависимости фармакокинетики от полиморфизма изоферментов системы цитохрома P450 (CYP) и о вариабельности фармакокинетических показателей ИПК у человека в доступной литературе отсутствуют, что не позволяет в ряде случаев провести однозначную оценку вероятности фармакокинетических взаимодействий.

Цель работы — определение основных фармакокинетических параметров ИПК у здоровых добровольцев с применением фармакогенетического подхода.

Материал и методы

Данное исследование было проведено в соответствии с принципами Хельсинкской Декларации Всемирной Медицинской Ассоциации (ВМА) (в редакции, одобренной на 64 Генеральной Ассамблее ВМА, г. Форталеза, Бразилия, октябрь 2013 г.), принципами Надлежащей клинической практики, утверждёнными на Международной конференции по гармонизации технических требований для регистрации фармацевтических препаратов для человека (ICH) и законодательством Российской Федерации. Исследование проводилось после соответствующей этической экспертизы и одобрения Минздравом России (разрешение на проведение клинического исследования № 102 от 08 февраля 2016 г.). Протокол клинического исследования был одобрен Локальным этическим комитетом исследовательского центра (Выписка из Протокола заседания Независимого Этического Комитета ГКБ № 15 им. О. М. Филатова ДЗМ №173 от 14 марта 2016 г.).

В соответствии с критериями включения, в исследовании могли принять участие подписавшие форму информированного согласия здоровые добровольцы обоих полов в возрасте от 18 до 45 лет с индексом массы тела (ИМТ) в пределах 18,5–30 кг/м² (масса тела \geq 55 кг — для мужчин, \geq 45 кг — для женщин). В исследование не включали добровольцев с отягощённым аллергологическим анамнезом; непереносимостью препарата исследования или его компонентов; перенёвших симптомы любого заболевания в течение 30 дней перед скринингом; принимавших какие-либо лекарственные средства и/или биологически активные добавки в течение 14 дней перед первым приёмом исследуемого препарата; с хроническими заболеваниями сердечно-сосудистой, дыхательной, нервной, эндокринной систем, а также заболеваниями желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), печени, почек, крови; перенёвших хирургические вмешательства на ЖКТ в анамнезе (за исключением аппендэктомии); сдававших \geq 450 мл крови или плазмы менее чем за 2 мес. до проведения скрининга; принимавших более чем 10 ед. алкоголя в неделю или с алкоголизмом, наркоманией, злоупотреблением лекарственными препаратами в анамнезе; лиц, выкуривавших более 10 сигарет в день на момент скрининга или в течение 6 мес., предшествующих визиту скрининга; лиц с положительным анализом крови на ВИЧ, сифилис, гепатиты В/С; женщин детородного возраста, применявших гормональные контрацептивы в течение 2 мес., предшествующих визиту скрининга; беременных и кормящих женщин, а также женщин детородного возраста, которые не могли постоянно использовать высокоэффективный метод контрацепции в течение всего участия в исследовании; лиц, участвовавших в другом клиническом исследовании в течение 3 мес. перед визитом скрининга или параллельно с настоящим исследованием; лиц, планировавших пребывание в стационаре в период проведения исследования по какому-либо поводу, кроме госпитализации, предусмотренной данным протоколом. Отдельными критериями не включения были: невозможность либо неспособность соответствовать требованиям протокола, в том числе по физическим, психическим или социальным причинам, по мнению исследователя; режим работы/учебы, который с высокой вероятностью не позволил бы добровольцу завершить участие в исследовании и/или соблюдать график визитов; прочие условия, которые, по мнению исследователя, препятствовали участию добровольца в исследовании.

Исследование состояло из периода скрининга (1–21 день), двух периодов приёма препарата исследования и отбора проб для фармакокинетического анализа (по 58 ч каждый), разделённых 7-дневным отмывочным периодом, а также периода последующего наблюдения (через 5 ± 1 дней с момента приёма последней дозы препарата исследования). Госпитализация здоровых добровольцев проводилась с вечера предыдущего дня, не менее чем за 10 ч до приёма исследуемого препарата. Исследуемый препарат Ингавирин® добровольцы принимали

в дозе 180 мг (2 капсулы по 90 мг) натошак, запивая 200 мл кипяченой или бутилированной питьевой воды; за 1 ч до и в течение первых 2 ч после приёма препарата приём любых других жидкостей был запрещен. Через 4 ч после приёма исследуемого препарата добровольцы получали стандартный завтрак.

Образцы крови для анализа фармакокинетических параметров отбирали в пробирки, содержащие калия ЭДТА, непосредственно перед приёмом исследуемого препарата и через 15 мин, 30 мин, 45 мин, 1 ч, 1,5 ч, 2 ч, 2,5 ч, 3 ч, 4 ч, 6 ч, 8 ч, 12 ч, 24 ч, 36 ч и 48 ч после приёма. Образцы мочи собирали в контейнеры в промежутки времени 0–12 ч, 12–24 ч, 24–36 ч, 36–48 ч с момента приёма исследуемого препарата. Определение концентрации ИПК (рис. 1) в образцах плазмы крови и мочи добровольцев проводили с помощью валидированного метода высокоэффективной жидкостной хроматографии-тандемной масс-спектрометрии на системе 4500 QTrap (AB Sciex Triple Quad 4500). Извлечение ИПК из плазмы осуществляли путём осаждения белков плазмы подкисленным ацетонитрилом; извлечение ИПК из мочи осуществляли методом твердофазной экстракции. В качестве внутреннего стандарта использовали дейтерированный ИПК. Детектирование ИПК проводили при ионизации в электроспее в режиме регистрации положительных ионов (MRM переходы для ИПК — 226,1→95,0 m/z, для внутреннего стандарта — 232,1→214,1 m/z). Хроматографическое разделение осуществляли на колонке Phenomenex Synergi™ 2.5 μ m Fusion-RP 100 Å, LC Column 100×2 mm в градиентном режиме элюирования при скорости потока 0,5 мл/мин. Нижний предел количественного определения (НПКО) использованного метода составлял 10 нг/мл для плазмы крови и 1 мкг/мл для мочи.

Для изучения фармакогенетических особенностей метаболизма ИПК у добровольцев в ходе исследования провели анализ полиморфизма генов, кодирующих белки семейства цитохрома P450 (cytochrome P450, CYP), влияющих на основные пути метаболизма ксенобиотиков — CYP1A1, CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19. Генотипирование проводили при помощи метода полимеразной цепной реакции (ПЦР). Полиморфизм изоферментов CYP1A1, CYP2C19, CYP2C9 или CYP2D6 оценивали по наличию изменений в одной или двух аллелях соответствующего гена. Образец венозной крови для фармакогенетического анализа отбирали непосредственно перед первым приёмом исследуемого препарата. Помимо этого, в соответствии с протоколом исследования, проводили клинический анализ крови, биохимический анализ крови, общий анализ мочи, а также проводили сбор жалоб и физикальный осмотр для выявления нежелательных явлений (НЯ).

Расчёт фармакокинетических параметров и статистический анализ фармакокинетических данных проводили с использованием программы Phoenix WinNonlin 6.4. Время достижения максимальной концентрации вещества (t_{max}) в плазме крови участника рассчитывали как время наступления первой максимальной концентрации (C_{max}). Площадь под фармакокинетической кривой «концентрация–время» от начального момента времени до времени t (AUC_{0-t}) и площадь под фармакокинетической кривой «концентрация–время» от начального

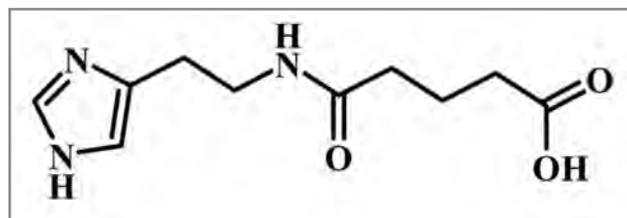


Рис. 1. Структурная формула имидазолилэтанамида пентандиовой кислоты

Fig. 1. Structural formula of pentanedioic acid imidazolylethanamide

момента времени до бесконечности ($AUC_{0-\infty}$) рассчитывали методом линейных трапеций с логарифмическим преобразованием участка элиминации фармакокинетической кривой.

Статистическую обработку параметров безопасности и оформление результатов исследования выполняли с помощью статистического пакета SPSS Statistics 19.0. Количественные показатели представляли в виде среднего арифметического значения и стандартного отклонения (если не указано иное), качественные показатели — в виде абсолютного количества наблюдений и доли от общей популяции.

Результаты

В исследовании приняли участие 12 добровольцев (5 мужчин и 7 женщин) европеоидной расы. Средний возраст добровольцев составил $27,58 \pm 7,72$ лет, масса тела — $70,54 \pm 13,34$ кг, ИМТ — $24,13 \pm 3,66$ м/кг². Усреднённый фармакокинетический профиль ИПК представлен на рис. 2, а рассчитанные фармакокинетические показатели обобщены в табл. 1.

Как следует из представленных результатов, основные фармакокинетические показатели ИПК не отличались высокой вариабельностью: коэффициент внутрииндивидуальной вариабельности (CV_{intra}) для C_{max} составил 21,94%, а для AUC_{0-t} и $AUC_{0-\infty}$ — 15,43 и 15,36%, соответственно. В неизменённом виде с мочой выводилось $47,57 \pm 20,6\%$ от введённой дозы ИПК, причём 90% от этого количества экскретировалось в течение первых 12 ч.

В результате проведённого генотипирования статистически значимого вклада полиморфиз-

Таблица 1. Показатели фармакокинетики имидазолилэтанамид пентандиовой кислоты у здоровых добровольцев при его пероральном введении в дозе 180 мг
Table 1. Parameters of pentanedioic acid imidazolyl ethanamide pharmacokinetics in healthy volunteers after oral administration at a dose of 180 mg

Показатель	Среднее арифметическое ± стандартное отклонение (CV_{intra} , %)
C_{max} , нг/мл	$578,88 \pm 145,21$ (21,94)
t_{max} [#] , ч	2,00 [1,00; 2,88]
AUC_{0-t} , ч*нг/мл	$2715,27 \pm 587,31$ (15,43)
$AUC_{0-\infty}$, ч*нг/мл	$2720,66 \pm 588,00$ (15,36)
K_{el} , ч ⁻¹	$0,423 \pm 0,114$ (10,37)
$t_{1/2}$, ч	$1,76 \pm 0,47$ (10,37)
MRT, ч	$4,079 \pm 0,759$ (11,45)

Примечание. CV_{intra} , % — коэффициент индивидуальной вариабельности, %; C_{max} — максимальная концентрация в плазме; t_{max} — время достижения максимальной концентрации; AUC_{0-t} — площадь под фармакокинетической кривой «концентрация-время» от начального момента времени до времени t ; $AUC_{0-\infty}$ — площадь под фармакокинетической кривой «концентрация-время» от начального момента времени до бесконечности; K_{el} — константа элиминации; $t_{1/2}$ — период полувыведения; MRT — среднее время удержания в крови; # — данные представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартиля.

Note. CV_{intra} , % — coefficient of individual variability, %; C_{max} — maximum plasma concentration; t_{max} — time needed to reach maximum concentration; AUC_{0-t} — area under the concentration-time pharmacokinetic curve from the initial moment of time to the time t ; $AUC_{0-\infty}$ — area under the pharmacokinetic curve concentration-time from the initial moment of time to infinity; K_{el} — elimination constant; $t_{1/2}$ — half-life; MRT — mean retention time in the blood; # — data are presented as median, upper and lower quartile.

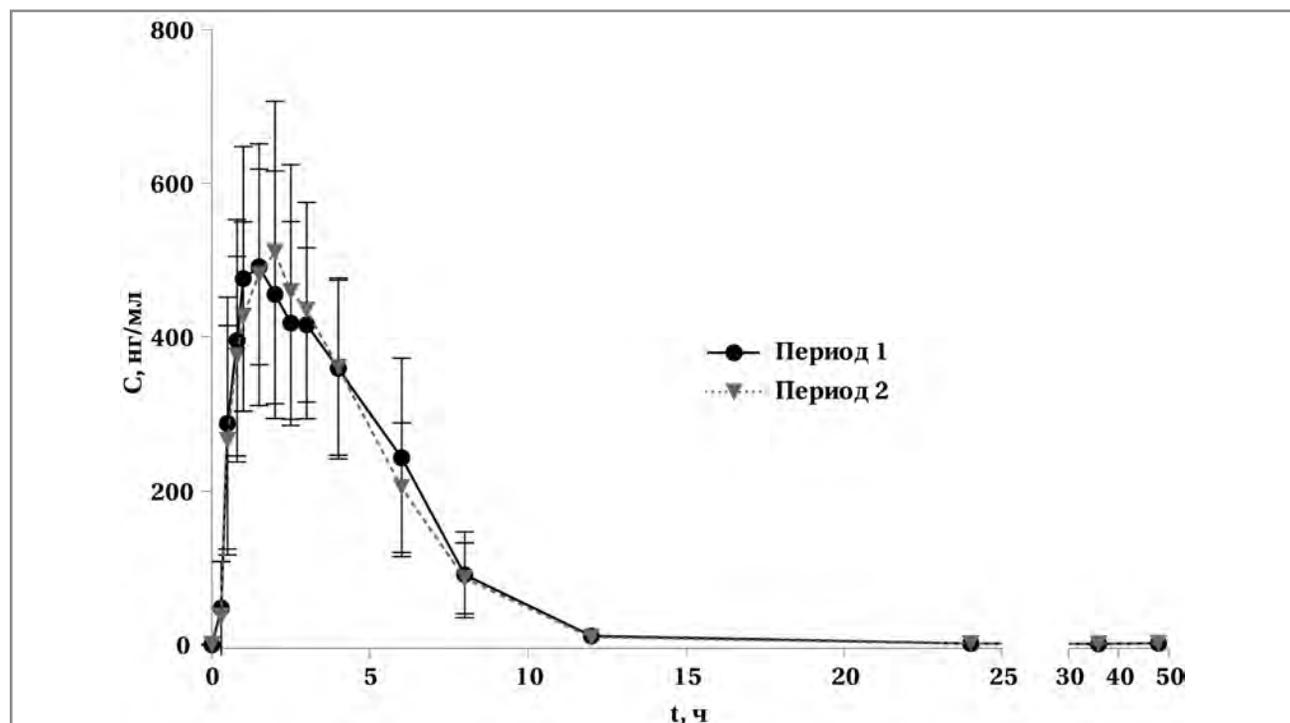


Рис. 2. Усреднённый фармакокинетический профиль имидазолилэтанамид пентандиовой кислоты в плазме
Fig. 2. Average pharmacokinetic profile of pentanedioic acid imidazolyl ethanamide in plasma

Таблица 2. Результаты дисперсионного анализа зависимости фармакокинетических показателей от фармакогенетических факторов**Table 2. Results of dependence variance analysis of pharmacokinetic parameters and pharmacogenetic factors**

Параметр	Гипотеза	F	p
C_{\max}	Взаимодействие факторов	4831,025	$1 \cdot 10^{-15}$
C_{\max}	CYP1A1	2,102747	0,17494277
C_{\max}	CYP2C19	2,28199	0,15906425
C_{\max}	CYP2C9	0,266657	0,61580516
C_{\max}	CYP2D6	0,020322	0,88921983
C_{\max}	Период	0,009122	0,9256284
C_{\max}	Субъект	1,608841	0,23078485
AUC_{0-t}	Взаимодействие факторов	14498,79	0
AUC_{0-t}	CYP1A1	0,495275	0,49621116
AUC_{0-t}	CYP2C19	14,96781	0,002613194
AUC_{0-t}	CYP2C9	0,986185	0,34201944
AUC_{0-t}	CYP2D6	2,611711	0,13437018
AUC_{0-t}	Период	0,287139	0,60272596
AUC_{0-t}	Субъект	2,790332	0,06240761

Примечание. C_{\max} — максимальная концентрация в плазме; AUC_{0-t} — площадь под фармакокинетической кривой «концентрация–время» от начального момента времени до момента последнего измерения; F — фактор гипотезы; p — показатель статистической значимости.

Note. C_{\max} — maximum plasma concentration; AUC_{0-t} — area under the concentration–time pharmacokinetic curve from the initial moment of time to the moment of the last measurement; F is the factor of the hypothesis; P.

мов в генах CYP1A1, CYP2C9 и CYP2D6 в распределение C_{\max} и AUC_{0-t} ИПК не выявили ($p > 0,05$) (табл. 2), в то время как наличие полиморфизмов CYP2C19 влияло на распределение AUC_{0-t} ИПК ($p < 0,05$), не затрагивая распределение C_{\max} ИПК. У одного добровольца был выявлен полиморфизм *3/n по гену CYP2C9, полиморфизм *2/n по гену CYP2C19, ассоциированный со снижением функции кодируемого фермента (CYP2C9 *3 61075T, CYP2C19 *2 681G>A); других случаев выявления мутации гена CYP2C19 не зарегистрировали. Согласно V. M. Pratt [10], встречаемость аллели CYP2C19*2, носительство которой ассоциировано с утратой функциональной активности изофермента и увеличением вероятности побочных реакций при использовании таких лекарственных средств-субстратов CYP2C19, как вориконазол, клопидогрел, трициклические антидепрессанты и селективные ингибиторы обратного захвата серотонина, достигает 12–54% (с более высокими частотами в азиатских популяциях). В то же время, поскольку ИПК практически не подвержен микросомальному окислению и выводится из организма в неизменённом виде, клиническая значимость возможного взаимодействия данного лекарственного средства с изоферментами CYP представляется сомнительной.

В ходе обоих периодов исследования жалоб на состояние здоровья от добровольцев не зарегистрировали; изменения основных показателей жизнедеятельности и отклонения результатов физикального осмотра от нормы отсутствовали. Единственным НЯ, зарегистрированным у 1 добровольца и возможно связанным с приёмом исследуемого препарата, оказа-

лось клинически незначимое снижение уровня лейкоцитов до $3,9 \times 10^9/\text{л}$ (при референтных границах $4,0\text{--}9,0 \times 10^9/\text{л}$), отмеченное в конце второго периода дозирования. Данное НЯ не потребовало медицинского вмешательства и разрешилось самостоятельно без каких-либо последствий. На визите последующего наблюдения отклонений лабораторных параметров от нормы не выявили.

Заключение

В рамках настоящего исследования были изучены фармакокинетические показатели ИПК — действующего вещества лекарственного препарата Ингавирин®, капсулы, 90 мг, у здоровых добровольцев при двукратном применении в дозе 180 мг. ИПК относительно быстро достигал системного кровотока после перорального приёма ($t_{\max} = 2$ ч), а C_{\max} и AUC_{0-t} данного лекарственного средства составили $578,88 \pm 145,21$ нг/мл и $2715,27 \pm 587,31$ ч·нг/мл, соответственно.

Фармакокинетические параметры ИПК не отличались высокой внутрииндивидуальной вариабельностью и не зависели от полиморфизма изоферментов CYP1A1, CYP2C9 и CYP2D6. Выявленный статистически значимый вклад полиморфизма CYP2C19 в распределение AUC_{0-t} ИПК определялся одним субъектом, поэтому однозначный вывод о влиянии мутации гена CYP2C19 на фармакокинетические параметры ИПК сделать нельзя.

Таким образом, взаимодействия ИПК с субстратами и/или ингибиторами основных изоферментов CYP, отвечающих за лекарственные взаимодействия (CYP1A1, CYP2C9, CYP2C19 и CYP2D6)

не ожидаются, что позволяет применять препарат Ингавирин® в свободных комбинациях с другими лекарственными препаратами.

Существенную роль в экскреции ИПК играли почки: в течение 48 ч после приёма исследуемого препарата с мочой в неизменном выводится около половины от принятой дозы ИПК. В то же время, поскольку период полувыведения ($t_{1/2}$) ИПК составлял $1,76 \pm 0,47$ ч, существенной аккумуляции данного лекарственного средства у лиц с нарушениями функции почек не ожидается. Это позволяет заключить, что коррекция дозы или интервала дозирования ИПК подобным пациентам не требуется.

Таким образом, из результатов данного не-сравнительного исследования следует, что препарат Ингавирин®, капсулы, 90 мг (ОАО «Валента Фарм», Россия) у здоровых добровольцев при двукратном применении в дозе 180 мг обладает предсказуемой фармакокинетикой, низкой внутрииндивидуальной вариабельностью фармакокинетических показателей и благоприятным профилем безопасности.

Литература/References

1. Министерство Здравоохранения. Грипп у взрослых. Клинические рекомендации [Electronic resource]. 2017. URL: <http://cr.rosminzdrav.ru/#!/recommend/909> (accessed: 10.02.2021).
2. Zarubaev V.V., Kalinina N. A., Shtro A. A., Belyaevskaya S. V., Slita A. V., Nebolsin V. E., Kiselev O. I. Activity of Ingavirin (6-[2-(1H-Imidazol-4-yl)ethylamino]-5-oxo-hexanoic acid) against human respiratory viruses in in vivo experiments. *Pharmaceuticals* (Basel). 2011; 4 (12): 1518–1534. doi: 10.3390/ph4121518
3. Malik I., Kovac G., Padrtova T., Hudecova L. Ingavirin might be a promising agent to combat Severe Acute Respiratory Coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *Ceska Slov Farm.* 2020; 69 (3): 107–111.
4. Грипп и другие острые респираторные вирусные инфекции: принципы выбора препаратов для лечения (доказательная медицина) и схемы назначения, алгоритмы оказания медицинской помощи больным. Специфическая профилактика гриппа. Методические рекомендации № 64. Москва, 2019. [Electronic resource] // <https://mosgorzdrav.ru/>. URL: <https://mosgorzdrav.ru/ru-RU/science/default/download/507.html>. (accessed: 10.02.2021). [Gripp i drugie ostrye respiratornye virusnye infektsii: printsipy vybora preparatov dlya lecheniya (dokazatel'naya meditsina) i skhemy naznacheniya, algoritmy okazaniya meditsinskoj pomoshchi bol'nym. Spetsificheskaya profilaktika grippa. Metodicheskie rekomendatsii № 64. Moskva, 2019. [Electronic resource] // <https://mosgorzdrav.ru/>. URL: <https://mosgorzdrav.ru/ru-RU/science/default/download/507.html>. (accessed: 10.02.2021). (in Russian)]
5. Колобухина Л.В., Мальшев Н.А., Меркулова Л.Н., Бурцева Е.И., Щелканов М.Ю. Изучение эффективности и безопасности нового противовирусного препарата Ингавирин® при лечении больных гриппом. *РМЖ.* 2008; 16 (22): 1502. [Kolobukhina L.V., Malyshev N.A., Merkulova L.N., Burtseva E.I., Shchelkanov M.Jyu. Izuchenie effektivnosti i bezopasnosti novogo protivovirusnogo preparata Ingavirin® pri lechenii bol'nykh grippom. *RMZh.* 2008; 16 (22): 1502. (in Russian)]
6. Колобухина Л.В., Меркулова Л.Н., Щелканов М.Ю., Бурцева Е.И., Исаева Е.И., Мальшев Н.А., Львов Д.К. Эффективность Ингавирина при лечении гриппа у взрослых. *Клиническая инфектология и парази-*

Информация об авторах

Гордеев Иван Геннадьевич — д. м. н., профессор, зав. отделом организации и проведения клинических исследований ГБУЗ ГКБ №15 им. О. М. Филатова ДЗ г. Москвы, Москва, Россия. ORCID: 0000-0002-4007-9679. eLIBRARY Author ID 301041. Scopus Author ID: 6603979981

Дополнительная информация Информация о финансовой поддержке работы. Работа финансировалась фармацевтической компанией АО «Валента Фарм».

Участие авторов. Гордеев И. Г., Лучинкина Е. Е., Кокорин И. А., Левчук Н. Н., Смолина Т. В. — проведение клинической части исследования, написание и редактирование текста; Казей В. И., Соболев П. Д., Горбачева С. Ю. — разработка и валидация аналитической методики, проведение биоаналитического анализа и написание биоаналитического отчета, написание и редактирование текста; Капашин А. В., Глобенко А. А., Владыкин А. Л., Черенкова А. И., Джайн Е. А. — написание и редактирование текста, финальное утверждение рукописи.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

- тология. 2013; 4 (07): 45–512. [Kolobukhina L.V., Merkulova L.N., Shchelkanov M.Jyu., Burtseva E.I., Isaeva E.I., Malyshev N.A., L'vov D.K. Efficacy of Ingavirin in adults with influenza. 2013; 4 (07): 45–512. (in Russian).
7. Колобухина Л.В., Меркулова Л.Н., Григорян С.С. и др. Эффективность и безопасность препарата Ингавирин® в лечении гриппа и других ОРВИ у взрослых. Справочник поликлинического врача. 2010; 9: 22–27. [Kolobukhina L.V., Merkulova L.N., Grigoryan S.S. i dr. Effektivnost' i bezopasnost' preparata Ingavirin® v lechenii grippa i drugikh ORVI u vzroslykh. *Spravochnik Poliklinicheskogo Vracha.* 2010; 9: 22–27. (in Russian)]
8. Генпе Н.А., Кондюрина Е.Г., Колосова Н.Г., Яблокова Е.А. Клиническая эффективность и безопасность применения имидазолилэтанамид пентандиовой кислоты у пациентов в возрасте 3–6 лет с гриппом и другими острыми респираторными вирусными инфекциями по результатам двойного слепого рандомизированного плацебо-контролируемого многоцентрового исследования. *Российский вестник перинатологии и педиатрии.* 2020; 65 (6): 166–174. doi: 10.21508/1027-4065-2020-65-6-166-174 [Geppe N.A., Kondyurina E.G., Kolosova N.G., Jablokova E.A. Clinical Efficacy and Safety of Pentanedioic Acid Imidazolyl Ethanamide in Patients aged 3 to 6 years with influenza and other acute respiratory viral infections based on the results of double-blind randomized placebo-controlled multicenter study. *Ros Vestn Perinatol i Pediatr.* 2020; 65(6): 166–174 doi: 10.21508/1027-4065-2020-65-6-166-174 (in Russian)]
9. Генпе Н.А., Малахов А.Б., Кондюрина Е.Г. Обоснование выбора противовирусной терапии ОРВИ в педиатрии (мета-анализ клинических исследований эффективности имидазолилэтанамид пентандиовой кислоты у детей разных возрастных групп). *Вопросы практической педиатрии.* 2020; 15 (3): 106–114. doi: 10.20953/1817-7646-2020-3-106-114 [Geppe N.A., Malakhov A.B., Kondyurina E.G. Rationale for the choice of ARVI antiviral therapy in pediatrics (meta-analysis of pentanedioic acid imidazolyl ethanamide clinical studies for ARVI treatment in children of different age groups). *Vopr Prakt Pediatr.* (Clinical Practice in Pediatrics). 2020; 15 (3): 106–114. doi: 10.20953/1817-7646-2020-3-106-114 (In Russian)]
10. Pratt V.M., Del Tredici A. L., Hachad H., Ji Y., Kalman L. V., Scott S. A., Weck K. E. Recommendations for clinical CYP2C19 genotyping allele selection: a report of the association for molecular pathology. *J Mol Diagn.* 2018; 20 (3): 269–276. doi: 10.1016/j.jmoldx.2018.01.011

About the authors

Ivan G. Gordeev — D. Sc. in Medicine, Professor Research Center at the Municipal Clinical Hospital No. 15 named O. M. Filatov, Moscow, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-4007-9679. eLIBRARY Author ID 301041. Scopus Author ID: 6603979981

Казей Василий Игоревич — к. б. н., генеральный директор, лабораторный центр Экзакт Лабс, Москва, Россия. ORCID: 0000-0003-2032-6289

Капашин Алексей Валерьевич — менеджер проектов клинических исследований, АО «Валента Фарм», Москва, Россия. ORCID: 0000-0002-9437-0322

Лучинкина Елена Евгеньевна — к. м. н., доцент, врач-кардиолог отдела организации и проведения клинических исследований ГБУЗ ГКБ №15 им. О. М. Филатова ДЗ г. Москвы, Москва, Россия. ORCID: 0000-0002-9541-995X. eLIBRARY SPIN-код: 1235-0773. Author ID 915800

Глобенко Александр Александрович — к. м. н., Медицинский директор, АО «Валента Фарм», Москва, Россия. ORCID: 0000-0001-9295-2663. Scopus Author ID: 57196475888

Владыкин Александр Львович — к. б. н., руководитель управления по науке, медицинской экспертизе и поддержке бизнеса, АО «Валента Фарм», Москва, Россия. ORCID: 0000-0003-2511-2992

Джайн Екатерина Александровна — руководитель группы доклинических исследований, АО «Валента Фарм», Москва, Россия. ORCID: 0000-0003-0283-8598

Черенкова Анжелика Игоревна — менеджер по контролю качества, АО «Валента Фарм», Москва, Россия. ORCID: 0000-0002-0490-474X

Кокорин Илья Александрович — к. м. н., доцент, врач-кардиолог ГБУЗ ГКБ №15 им. О. М. Филатова ДЗ г. Москвы, Москва, Россия. ORCID: 0000-0002-4651-0685. eLIBRARY SPIN-код: 2606-1681. Author ID 641794. Scopus Author ID: 56052862900

Левчук Нина Николаевна — к. м. н., заведующая клинико-диагностической лабораторией ГБУЗ ГКБ №15 им. О. М. Филатова ДЗ г. Москвы, Москва, Россия. eLIBRARY Author ID 366495

Смолина Татьяна Валентиновна — старшая сестра отдела организации и проведения клинических исследований ГБУЗ ГКБ №15 им. О. М. Филатова ДЗ г. Москвы, Москва, Россия

Соболев Павел Дмитриевич — химик-аналитик, лабораторный центр Экзакт Лабс, Москва, Россия. ORCID: 0000-0003-3634-596X

Горбачева Светлана Юрьевна — химик-аналитик, лабораторный центр Экзакт Лабс, Москва, Россия. ORCID: 0000-0002-8351-8264

Vasily I. Kazey — Ph. D. in Biology, Exacte Labs LLC Bioanalytical laboratory, Moscow, Russian Federation. ORCID: 0000-0003-2032-6289

Aleksey V. Kapashin — JSC Valenta Pharm pharmaceutical company, Moscow, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-9437-0322

Elena E. Luchinkina — Ph. D. in Medicine, Research Center at the Municipal Clinical Hospital No. 15 named O. M. Filatov, Moscow, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-9541-995X. eLIBRARY SPIN-код: 1235-0773. Author ID 915800

Alexander A. Globenko — Ph. D. in Medicine, JSC Valenta Pharm pharmaceutical company, Moscow, Russian Federation. ORCID: 0000-0001-9295-2663. Scopus Author ID: 57196475888

Alexander L. Vladykin — Ph. D. in Biology, JSC Valenta Pharm pharmaceutical company, Moscow, Russian Federation. ORCID: 0000-0003-2511-2992

Ekaterina A. Jain — JSC Valenta Pharm pharmaceutical company, Moscow, Russian Federation. ORCID: 0000-0003-0283-8598

Anzhelika I. Cherenkova — JSC Valenta Pharm pharmaceutical company, Moscow, Russia Federation. ORCID: 0000-0002-0490-474X

Ilya A. Kokorin — Ph. D. in Medicine, Assitant Professor, Municipal Clinical Hospital No. 15 named O. M. Filatov, Moscow, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-4651-0685. eLIBRARY SPIN-код: 2606-1681. Author ID 641794. Scopus Author ID: 56052862900

Nina N. Levchuk — Ph. D. in Medicine, Municipal Clinical Hospital No. 15 named O. M. Filatov, Moscow, Russian Federation. eLIBRARY Author ID 366495

Tatyana V. Smolina — Municipal Clinical Hospital No. 15 named O. M. Filatov, Moscow, Russian Federation

Pavel D. Sobolev — Exacte Labs LLC Bioanalytical laboratory, Moscow, Russian Federation. ORCID: 0000-0003-3634-596X

Svetlana Yu. Gorbacheva — Exacte Labs LLC Bioanalytical laboratory, Moscow, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-8351-8264

Внебольничные пневмонии бактериальной этиологии и спектр чувствительности возбудителей к антибиотикам у коронапозитивных и коронанегативных больных г. Ростова-на-Дону

*Н. В. ПАВЛОВИЧ¹, М. В. ЦИМБАЛИСТОВА¹, Н. В. АРОНОВА¹,
А. С. АНИСИМОВА¹, С. О. ВОДОПЬЯНОВ¹, А. С. ВОДОПЬЯНОВ¹,
Е. Н. ГУДУЕВА¹, М. М. САГАКЯНЦ¹, Е. В. КОВАЛЕВ², А. К. НОСКОВ¹

¹ ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия

² Управление Роспотребнадзора по Ростовской области, Ростов-на-Дону, Россия

Community-Acquired Pneumonia of Bacterial Etiology and the Spectrum of Pathogen Sensitivity to Antibiotics in Corona-Positive and Corona-Negative Patients in Rostov-on-Don

*NATALIA V. PAVLOVICH¹, MARINA V. TSIMBALISTOVA¹, NADEZHDA V. ARONOVA¹,
ANASTASIA S. ANISIMOVA¹, SERGEY O. VODOPYANOV¹, ALEXEY S. VODOPYANOV¹,
ELENA N. GUDUEVA¹, MARGARITA M. SAGAKYANTS¹,
EVGENY V. KOVALEV², ALEXEY K. NOSKOV¹

¹ Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, Rostov-on-Don, Russia

² Rospotrebnadzor Administration for the Rostov Region, Rostov-on-Don, Russia

Резюме

Актуальность. В условиях продолжающейся пандемии коронавирусной инфекции на фоне снижения иммунного статуса организма течение вирусной пневмонии достаточно часто осложняется присоединением бактериальной микрофлоры. Возбудители такой коинфекции могут проявлять множественную лекарственную резистентность, что существенно снижает эффективность этиотропной терапии. В этой связи целесообразным представляется микробиологическое сопровождение пациентов с целью выбора наиболее оптимальных схем лечения.

Цель. Изучение видового состава бактериальных возбудителей внебольничных пневмоний (ВП) у коронапозитивных (Covid-19+) и коронанегативных (Covid-19-) пациентов и определение спектра их чувствительности/устойчивости к антибактериальным препаратам.

Материал и методы. Исследован видовой состав микроорганизмов образцов мокроты от 723 пациентов с ВП, поступивших из ЛПО г. Ростова-на-Дону в августе и декабре 2020 года. Идентификацию выделенных культур проводили с помощью бактериологического и масс-спектрометрического методов. Чувствительность бактерий к антибиотикам определяли диско-диффузионным методом.

Результаты. Показано, что в августе в спектре возбудителей ВП преобладали пневмококки и стафилококки, тогда как в декабре вырос процент выделений *Acinetobacter* spp. и *S. haemolyticus*. Обнаружена высокая степень изоляции различных видов дрожжей р. *Candida*, причём у Cov+ больных выявлена тенденция к большей обсеменённости ($\geq 10^4$ м.кл./мл). Некоторые возбудители (*A. baumannii*, *S. haemolyticus*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia*) характеризуются полиантибиотикорезистентностью, а отдельные штаммы этих видов — панрезистентностью ко всем группам антибиотиков.

Заключение. Полученные данные демонстрируют, что тяжёлые формы внебольничной пневмонии могут быть обусловлены вирусно-бактериальными и вирусно-бактериально-дрожжевыми ассоциациями возбудителей, включая бактерии с узким спектром чувствительности к антибактериальным препаратам.

Ключевые слова: внебольничная пневмония; мокрота; бактериальная микрофлора; антибиотикочувствительность; коронапозитивные (Covid-19+), коронанегативные (Covid-19-) пациенты

Для цитирования: Павлович Н.В., Цимбалистова М.В., Аронова Н.В., Анисимова А.С., Водопьянов С.О., Водопьянов А.С., Гудуева Е.Н., Сагакянц М.М., Ковалев Е.В., Носков А.К. Внебольничные пневмонии бактериальной этиологии и спектр чувствительности возбудителей к антибиотикам у коронапозитивных и коронанегативных больных г. Ростова-на-Дону. *Антибиотики и химиотерапия*. 2021; 66: 1–2: 26–32. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-1-2-26-32.

Summary

Relevance. In the context of the ongoing pandemic of coronavirus infection, the course of viral pneumonia is often complicated by the addition of bacterial microflora due to a decrease in the body's immune status. The causative agents of

such a co-infection can exhibit multiple drug resistance, which significantly reduces the effectiveness of etiotropic therapy. In this regard, it seems expedient to provide microbiological support to patients in order to select the most optimal treatment regimens.

Aim. To study the composition of bacterial pathogens' species, that cause community-acquired pneumonia (CAP) in corona-positive (COVID-19+) and corona-negative (COVID-19-) patients and to determine the spectrum of their sensitivity/resistance to antibacterial drugs.

Material and methods. The species composition of microorganisms in sputum samples from 723 patients with CAP, who were admitted from the healthcare facility in Rostov-on-Don in August and December 2020 were studied. The isolated cultures were identified using bacteriological and mass spectrometric methods. The sensitivity of bacteria to antibiotics was determined by the disk diffusion method.

Results. It was shown that in August pneumococci and staphylococci prevailed in the spectrum of CAP pathogens, while in December the percentage of excretions of *Acinetobacter* spp. and *S. haemolyticus* increased. Various types of *p. Candida* yeast were found with a high degree of isolation, COVID-19 + patients showed a tendency towards greater contamination ($\geq 10^4$ mcl/ml). Some pathogens (*A.baumannii*, *S.haemolyticus*, *Paeruginosa*, *S.maltophilia*) are characterized by polydrug resistance, and some strains of these species are pan-resistant to all groups of antibiotics.

Conclusion. The data obtained demonstrate that severe forms of community-acquired pneumonia can be caused by viral-bacterial and viral-bacterial-yeast combinations of pathogens, including bacteria with a narrow spectrum of sensitivity to antibacterial drugs.

Keywords: community-acquired pneumonia; sputum; bacterial microflora; antibiotic sensitivity; corona-positive (COVID-19+), corona-negative (COVID-19-) patients

For citation: Pavlovich N.V., Tsimbalistova M.V., Aronova N.V., Anisimova A.S., Vodopyanov S.O., Vodopyanov A.S., Gudueva E.N., Sagakyants M.M., Kovalev E.V., Noskov A.K. Community-acquired pneumonia of bacterial etiology and the spectrum of sensitivity of pathogens to antibiotics in corona-positive and corona-negative patients in Rostov-on-Don. *Antibiot i khimioter.* 2021; 66: 1–2: 26–32. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-1-2-26-32.

Введение

В настоящее время внимание всего мира приковано к новой коронавирусной инфекции, которая приобрела характер пандемии и зарегистрирована в большинстве стран мира. По мере накопления знаний и практического опыта борьбы с этой инфекцией уже выяснены многие вопросы эпидемиологии, патогенеза, профилактики и лечения заболевания. Так, установлено, что одними из ведущих симптомов Covid-19 являются резкое снижение иммунного статуса организма (лейкопения, цитокиновый шторм) и вирусное поражение лёгочной ткани (до 30% пациентов) [1–3]. Согласно данным литературы, большинство тяжёлых и летальных случаев связано с развитием вирусной пневмонии и респираторного дистресс-синдрома на фоне сопутствующей патологии. Кроме того, ситуация усугубляется тем, что при нарушении иммунной защиты организма патологически быстро развивается вторичная бактериальная или грибковая пневмония [4, 5]. В свою очередь, подобные осложнения существенно повышают неблагоприятный прогноз заболевания. Например, летальность больных с Covid-19 при развитии у них аспергиллеза лёгких возрастает на 16–25%.

Особого внимания заслуживает и тот факт, что появляется всё больше сообщений, посвящённых бактериальным возбудителям, вызывающим т.н. суперинфекции, которые не поддаются лечению антибактериальными препаратами [1]. Естественно, что при неоправданно широком применении антибиотиков в условиях современной пандемии (терапия отчаяния) в популяции появляются бактериальные клоны, резистентные

к большинству химиопрепаратов [6, 7]. Более того, одной из особенностей пневмоний у Covid-19+ больных являются микстинфекции, обусловленные различными вирусами, бактериями и грибами [8]. В этой связи в настоящее время повышается необходимость постоянного микробиологического сопровождения больного, которое позволит не только установить вид возбудителя, оценить его чувствительность к антибактериальным препаратам, но и определить наиболее адекватную схему этиотропной терапии. На сегодняшний день в распоряжении бактериологов имеются современные методы идентификации микроорганизмов, в частности масс-спектрометрический анализ, различные типы баканализаторов, ПЦР-диагностика и др., позволяющие значительно сократить время и повысить точность проводимого исследования.

В последние годы всё чаще регистрируется выделение от больных полиантибиотикорезистентных инфекционных агентов. Так, репрезентативное исследование, проведённое в период пандемии Covid-19 на базе ФБУН «Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии», показало появление у больных с пневмониями грамположительной и грамотрицательной микрофлоры, устойчивой к большинству цефалоспоринов и фторхинолонов [7]. Данная проблема приобретает глобальный масштаб и диктует необходимость постоянного мониторинга антибиотикорезистентности патогенных или условно-патогенных микроорганизмов с целью предотвращения их дальнейшего распространения. Анализ циркулирующих панрезистентных бактерий позволил выделить наиболее

опасные инфекционные агенты, к которым отнесены *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* [9]. В большинстве случаев эти микроорганизмы являются возбудителями трудно поддающейся лечению нозокомиальной пневмонии. Подобные примеры дают основание некоторым авторам считать, что эра антибиотикотерапии близится к своему завершению [9, 10].

В противоположность внутрибольничной инфекции, у некоторых пациентов, получающих лечение в домашних условиях, может развиваться т.н. внебольничная (негоспитальная) пневмония (ВП), которая возникает вне лечебного учреждения или в первые 48 ч после госпитализации. Как установлено, в роли этиологических агентов при ВП выступают разнообразные бактерии, вирусы, грибки и паразиты. Однако их спектр отличается от возбудителей нозокомиальных пневмоний. Так, наиболее часто из мокроты больных выделяют *Streptococcus pneumoniae* (до 30%) и *Haemophilus influenzae* (до 10%) [11, 12]. Реже встречаются *Klebsiella pneumoniae* (или другие представители семейства Enterobacteriaceae) и *Staphylococcus aureus*.

Цель работы — изучение видового состава бактериальных возбудителей внебольничных пневмоний у коронапозитивных (Covid-19+) и коронанегативных (Covid-19-) пациентов и определение спектра их чувствительности/устойчивости к антибактериальным препаратам.

Материал и методы

В работу включены пробы мокроты от 723 пациентов с диагнозом внебольничная пневмония, поступившие из ЛПО г. Ростова-на-Дону в августе ($n=420$) и декабре ($n=303$) 2020 года. Образцы доставляли не позднее 24 ч с момента забора материала от больных с различными сроками заболевания.

Бактериологическую работу выполняли в соответствии с МУК 4.2.3115-13 «Лабораторная диагностика внебольничных пневмоний», МР 4.2.0114-16 «Лабораторная диагностика внебольничной пневмонии пневмококковой этиологии», а также согласно [13–16].

Параллельно у этих же пациентов проводили ПЦР-диагностику мазков из носоглотки на наличие РНК вируса SARS-Cov-2. Для выявления РНК коронавируса использовали наборы для выделения РНК «РИБО-преп» и наборы для постановки ПЦР «Амплиценс Cov-Bat-FL» производства ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора РФ. Реакцию и учёт результатов проводили согласно рекомендациям производителя.

Для оценки видового состава микрофлоры мокроты проводили высевы из разведений 10^{-6} и 10^{-7} на различные дифференциально-диагностические среды (МПА, среды Эндо и Сабуро, шоко-

ладный и кровяной агары). За диагностические титры для бактериальных культур принимали количества $\geq 10^5$ м. к.л./мл, для грибов рода *Candida* $\geq 10^4$ м. к.л./мл [17]. В случае выявления этиологически значимых микроорганизмов в меньших количествах определяли степень контаминации проб микрофлорой носоглотки с помощью микроскопии нативных мазков с окраской по Граму. При наличии в мазках большого количества клеток слизистой с адгезированными грамположительными и грамотрицательными кокковыми бактериями результаты оценивали как сомнительные.

Идентификацию чистых культур патогенов проводили традиционными микробиологическими методами (окраска по Граму, морфология колоний, биохимическая активность) и белковым профилированием с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии. Получение спектров исследованных культур выполняли с использованием масс-спектрометра Autoflex speed III Bruker Daltonics (Германия) и программного обеспечения Flex Control, идентификацию — с помощью программы Biotyper. Достоверность идентификации оценивали при Score $\geq 2,3$.

Чувствительность выделенных культур к антибактериальным препаратам определяли диско-диффузионным методом. Результаты учитывали в соответствии с МУК 4.2.1890-04 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам» [18].

Наличие у бактерий β -лактамаз расширенного спектра оценивали с помощью дисков с нитроцефином (хромогенным цефалоспорином), согласно рекомендациям фирмы-производителя (BD, Becton, Dickinson and Company, USA).

Результаты и обсуждение

Из общего количества исследованных в августе 2020 г. ($n=420$) число коронапозитивных пациентов составило 69% (291 человек) и коронанегативных — 31% (129 человек). В декабре 2020 г. ($n=303$) эти показатели составляли 35,6% (108 человек) коронапозитивных и 64,4% (195 человек) коронанегативных больных.

Общее количество изолированных этиологически значимых возбудителей в диагностических титрах в августе и декабре имели сопоставимые значения, однако выявлена тенденция к более частому обнаружению патогенной бактериальной микрофлоры у пациентов с Covid-19 (табл. 1).

Видовой состав культур, изолированных и идентифицированных с помощью бактериологического и масс-спектрометрического методов, представлен в табл. 2.

Как видно из данных табл. 2, спектр изолированных микроорганизмов в обеих группах включал разнообразную грамположительную и грамотрицательную микрофлору. Полученные результаты свидетельствуют в пользу того, что в большинстве случаев возбудителями бактериаль-

Таблица 1. Количественные показатели выделения этиологически значимых микроорганизмов
Table 1. Quantitative indicators of isolation of etiologically significant microorganisms

Этап исследования, общее количество проб	Общее количество выделенных культур	Количество изолированных культур по группам пациентов	
		Covid-19+ ($n=291$)	Covid-19- ($n=129$)
Август 2020 г. ($n=420$)	212 (50,5%)	156 (54%)	56 (43%)
Декабрь 2020 г. ($n=303$)	209 (69%)	92 (85%)	117 (60%)

Таблица 2. Спектр и частота выявления этиологически значимых микроорганизмов у коронапозитивных и коронанегативных больных с внебольничными пневмониями

Table 2. Spectrum and frequency of detection of etiologically significant microorganisms in corona-positive and corona-negative patients with community-acquired pneumonia

Виды микроорганизмов	% выявляемости микроорганизмов (n=420)			% выявляемости микроорганизмов (n=303)		
	август 2020 г.			декабрь 2020 г.		
	Общее кол-во абс., %	Covid-19+ (n=291)	Covid-19- (n=129)	Общее кол-во абс., %	Covid-19+ (n=108)	Covid-19- (n=195)
<i>Candida</i> spp.	111 (26,4%)	87 (30%)	24 (19%)	118 (39%)	40 (37%)	78 (40%)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	19 (4,5%)	13 (4,5%)	6 (4,6%)	2 (0,7%)	0	2 (1%)
<i>S.aureus</i>	22 (5,2%)	17 (5,8%)	5 (3,9%)	30 (10%)	15 (14%)	15 (7,7%)
<i>Enterococcus</i> spp.	15 (3,6%)	12 (4%)	3 (2,3%)	5 (1,7%)	3 (2,8%)	2 (1%)
<i>E.coli</i>	6 (1,4%)	3 (1%)	3 (2,3%)	6 (2%)	3 (2,8%)	3 (1,5%)
<i>Pseudomonas</i> spp.	8 (1,9%)	5 (1,7%)	3 (2,3%)	4 (1,3%)	3 (2,8%)	1 (0,5%)
<i>Klebsiella</i> spp.	9 (2,1%)	4 (1,4%)	5 (3,9%)	6 (2%)	4 (3,7%)	2 (1%)
<i>Stenotrophomonas</i>	8 (2%)	5 (1,7%)	3 (2,3%)	1 (0,3%)	0	1 (0,5%)
<i>Acinetobacter</i> spp.	6 (1,4%)	5 (1,7%)	1 (0,8%)	6 (2%)	3 (2,8%)	3 (1,5%)
<i>Enterobacter</i> spp.	5 (1,2%)	4 (1,4%)	1 (0,8%)	3 (1%)	2 (1,8%)	1 (0,5%)
<i>S.haemolyticus</i>	2 (0,5%)	1 (0,3%)	1 (0,8%)	8 (2,6%)	3 (2,8%)	5 (2,5%)
<i>Chryseobacterium</i>	1 (0,2%)	0	1 (0,8%)	2 (0,7%)	2 (1,9%)	0

Таблица 3. Частота выявления кандидоносительства ($\leq 10^3$ м. кл./мл) и микотического поражения лёгких ($\geq 10^4$ м. кл./мл) дрожжами р. *Candida* у коронапозитивных и коронанегативных больных с внебольничной пневмонией

Table 3. Frequency of detection of candidiasis ($\leq 10^3$ mcl/ml) and mycotic lung damage ($\geq 10^4$ mcl/ml) caused by *Candida* yeast in corona-positive and corona-negative patients with community-acquired pneumonia

Группы пациентов	% выявления		Группы пациентов	% выявления	
	август 2020 г. (n=420)			декабрь 2020 г. (n=303)	
	$\leq 5 \cdot 10^3$ м. кл./мл	$\geq 10^4$ м. кл./мл		$\leq 5 \cdot 10^3$ м. кл./мл	$\geq 10^4$ м. кл./мл
Covid-19+ (n=291)	22	30	Covid-19+ (n=108)	14,8	37
Covid-19- (n=129)	31	19	Covid-19- (n=195)	13,8	40

ной пневмонии в августе являлись пневмококки и стафилококки, что согласуется с известными данными литературы [11, 12]. Однако в декабре дизайн микроорганизмов несколько изменился. Так, в обеих исследуемых группах вырос процент выявления *Acinetobacter* (преимущественно *baumannii*), *S.aureus* и *S.haemolyticus*. Общий спектр других этиологически значимых микроорганизмов, изолированных из мокроты больных ВП, был представлен грамотрицательными бактериями, включая *Stenotrophomonas maltophilia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*. Более того, именно у коронапозитивных пациентов в декабре прослеживается тенденция к увеличению выявления бактериальных агентов, известных как возбудители нозокомиальных инфекций, например, *A.baumannii*, *Paeruginosa*, *S.aureus*, *K.pneumoniae* и др. [16].

Характерной особенностью двух этапов исследования (август, декабрь) является достаточно высокий процент выделения из мокроты дрожжей р. *Candida*. При этом, если в августе было зарегистрировано большее количество случаев грибкового поражения лёгких ($\geq 10^4$ м. кл./мл) у Covid-19+ больных (30% против 19% у Covid-19-), то в декабре высокий показатель выявлен уже в обеих группах – у Covid-19+ и Covid-19- пациентов (37% и 40%, соответственно) (табл. 3). Особого внимания заслуживает тот факт, что, помимо об-

наружения в мокроте дрожжей в диагностических количествах, в большом количестве случаев (14–31%) мы определили у больных наличие грибов на уровне кандидоносительства ($\leq 5 \times 10^3$ м. кл./мл). По мнению ряда авторов, присутствие дрожжей в незначительных количествах не играет этиологической роли в патогенезе пневмоний, а является показателем контаминации образца микрофлорой ротовой полости. Однако нельзя исключить, что на фоне пандемии столь частое обнаружение дрожжевых клеток в мокроте (или ротовой полости) обусловлено как снижением иммунного статуса организма, так и использованием кортикостероидных препаратов и антибиотиков широкого спектра действия. На этом фоне явление кандидоносительства создаёт предпосылку для дальнейшего размножения кандид с переходом из стадии носительства к системному поражению верхних дыхательных путей. Необходимо отметить также, что видовой состав дрожжей характеризовался разнообразием в обеих группах и, помимо *C.albicans*, включал инвазивные виды (например, *C.krusei*, *C.glabrata*, *C.tropicalis* и *Geotrichum capitatum*).

Особый научный интерес и практическое значение имеет изучение спектра чувствительности/устойчивости возбудителей, изолированных от больных. Результаты исследования суммированы в табл. 4.

Таблица 4. Маркеры устойчивости этиологически значимых возбудителей внебольничных пневмоний (август, декабрь 2020 г.)

Table 4. Markers of resistance of etiologically significant pathogens of community-acquired pneumonia (August, December 2020)

Виды микроорганизмов	Кол-во штаммов	% устойчивых штаммов											
		Амп	Амо	Цеф	Г	Ами	Д	Ази	Кли	Цип	Лев	Ф	Ц/с
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	21	5	5	43	67	—	95	14	—	43	—	—	
<i>S. aureus</i>	52	40	17	13,5	6	—	38	15	2	4	13,5	36,5	0
<i>Klebsiella</i> spp.	15	100	67	40	13	13	100	100	100	33	47	80	20
<i>Acinetobacter</i> spp.	12	100	100	83	83	83	100	75	100	83	92	100	75
<i>S. haemolyticus</i>	10	70	50	60	50	40	80	90	10	90	60	—	—
<i>Pseudomonas</i> spp.	12	100	100	83	100	42	100	100	100	42	83	100	33
<i>Stenotrophomonas</i>	9	100	100	100	56	44	100	100	100	56	56	100	56
<i>Enterobacter</i> spp.	8	100	88	50	0	0	100	100	100	25	25	63	—

Примечание. Амп — ампициллин; Амо — амоксицилин; Цеф — цефотаксим; Г — гентамицин; Ами — амикацин; Д — доксицилин; Ази — азитромицин; Кли — клиндамицин; Цип — ципрофлоксацин; Лев — левомицетин; Ф — фуразолидон; Ц/с — цефоперазон/сульбактам; «—» — не определяли.

Note. «—» — Was not determined.

Как установлено, наиболее часто встречающиеся возбудители ВП (пневмококк и золотистый стафилококк) характеризовались достаточно широким спектром чувствительности к антибактериальным препаратам, в частности большинство штаммов *S. pneumoniae* (до 95%) сохраняют высокую чувствительность к β -лактамам (ампициллин, амоксицилин) и пенициллиназозащищённым препаратам (амоксицилин). 40% штаммов *S. aureus* проявляли устойчивость к ампициллину, но многие препараты (амоксицилин, цефотаксим, гентамицин, азитромицин, клиндамицин, фторхинолоны и левомицетин) обладали выраженным антибактериальным действием в отношении большинства клинических изолятов (до 80%). В противоположность этому, *S. haemolyticus* был устойчив к большинству антибиотиков (пенициллины, цефалоспорины, аминогликозиды, макролиды, тетрациклины, фторхинолоны и др.), сохраняя чувствительность только к клиндамицину.

По результатам нашего исследования, с сожалением приходится констатировать, что выделенные из мокроты грамотрицательные бактерии характеризовались множественной антибиотикоустойчивостью, имея по 3 и более маркеров резистентности. Например, большинство изолятов *A. baumannii* (70–100%), *S. maltophilia* (56–100%) были устойчивы ко всем группам антибиотиков. До 40% штаммов *Pseudomonas aeruginosa* утратили чувствительность к амикацину, фторхинолонам и цефоперазону/сульбактаму.

Изучение механизмов устойчивости к бета-лактамам антибиотикам (пенициллинам и цефалоспорином) у полиантибиотикорезистентных штаммов с помощью дисков с нитроцефином показало, что все культуры (*A. baumannii*, *S. maltophilia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *S. haemolyticus*, *Klebsiella* spp.), проявляющие устойчивость к этим препаратам, синтезируют β -лактамазу расширенного спектра действия. В противоположность им, пневмококки и энтерококки не обладали фер-

ментативной активностью и сохраняли чувствительность к пенициллинам.

Таким образом, проведённое исследование показало, что достаточно часто на фоне снижения иммунного статуса и ковидного вирусного поражения лёгких у больных развиваются вторичные бактериальные или грибковые пневмонии. Это может осложнять течение инфекционного процесса и диктует необходимость проведения индивидуального микробиологического исследования для выбора наиболее адекватных и эффективных схем лечения больного.

Заключение

Проблема антибиотикорезистентности бактериальных возбудителей инфекционных заболеваний человека в последние годы приобретает всё большую актуальность в связи появлением бактерий с множественной лекарственной устойчивостью и снижением эффективности этиотропной терапии. В настоящее время ситуация усугубляется из-за появления новой коронавирусной инфекции, которая приобрела характер пандемии. Патогенетические особенности Covid-19 (поражение лёгочной ткани, резкое снижение иммунного статуса организма), мощная терапия антибиотиками широкого спектра действия и кортикостероидами создаёт предпосылки для вторичных осложнений и, в частности, для развития коинфекций бактериальной или грибковой этиологии. На этом неблагоприятном фоне наиболее серьёзную проблему представляют штаммы, не поддающиеся лечению рекомендованными лекарственными препаратами. Согласно последнему руководству Американского общества по инфекционным болезням, максимальный риск представляют *A. baumannii*, *S. maltophilia*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, присоединение которых к ковидной пневмонии повышает вероятность неблагоприятного исхода заболевания. Поэтому

возрастает роль проведения микробиологического исследования (микробиологическое сопровождение больного) с целью выделения инфекционного агента и определения наиболее эффективной антибиотикотерапии с привлечением всего арсенала антимикробных препаратов.

Согласно результатам настоящего исследования, возбудители внебольничных пневмоний у коронапозитивных и коронанегативных больных г. Ростова-на-Дону включают разнообразную грамположительную и грамотрицательную микрофлору. При этом в достаточно большом числе случаев были изолированы в диагностических количествах культуры (*A.baumannii*, *S.maltophilia*, *Paeruginosa*, *K.pneumoniae*, *S.haemolyticus*), которые характеризовались узким спектром чувствительности к антибактериальным препаратам. Более того, некоторые штаммы этих видов проявляли панрезистентность ко всем изученным антибиотикам всех групп, что позволяет предполагать их госпитальное происхождение. Все изученные виды бактерий, проявляющие устойчивость к пенициллинам и цефалоспорином, синтезировали β-лактамазу расширенного спектра.

Известно, что дрожжи редко являются возбудителями пневмоний, однако в качестве ассо-

циантов при вирусной или бактериальной инфекции их присутствие осложняет течение заболевания и затрудняет лечение пациентов. Поэтому, особого внимания заслуживает тот факт, что у более 30–40% обследованных пациентов в образцах мокроты были обнаружены в больших количествах различные виды дрожжей р. *Candida*. Нельзя не отметить, что у многих больных ВП присутствуют дрожжи в незначительных количествах, однако неблагоприятный фон (антибиотикотерапия, кортикостероиды) создают предпосылки для их беспрепятственного размножения.

Таким образом, полученные данные демонстрируют, что тяжёлые формы пневмонии при новой коронавирусной инфекции могут быть обусловлены вирусно-бактериальными и вирусно-бактериально-дрожжевыми ассоциациями возбудителей. В случае внебольничных пневмоний даже при отрицательных результатах на наличие РНК SARS-Cov-2 нельзя исключить, что выделение от пациентов госпитальных бактериальных штаммов в ассоциации с дрожжами существенно снижает эффективность этиотропной терапии и требует разработки индивидуальных схем лечения с включением противогрибковых препаратов.

Литература/References

- Zaitsev A.A., Sinopalnikov A.I. «Трудная» пневмония. М.: 2020. [Zaitsev A.A., Sinopalnikov A.I. «Trudnaya» pneumoniya. Moscow: 2020. (in Russian)]
- Golubkova A.A., Platunova T.A., Sklyar M.S., Vorob'ev A.V., Makarochkina N.G., Karbovnichaya E.A. и др. Структурный анализ заболеваемости COVID-19 персонала крупного многопрофильного медицинского центра. Сборник тезисов VIII Конгресса с международным участием «Контроль и профилактика инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП-2020)»; Ноябрь 25–27, 2020; Москва. Под ред. академика РАН В.Г.Акимкина. М.: ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, 2020. — С. 29–30. / Golubkova A.A., Platunova T.A., Sklyar M.S., Vorob'ev A.V., Makarochkina N.G., Karbovnichaya E.A. et al. Strukturniy analiz zaboлеваemosti COVID-19 personala крупного mnogoprofil'nogo meditsinskogo tsentra. Sbornik tezisev VIII Kongressa s mezhdunarodnym uchastiem «Kontrol' i profilaktika infektsii, svyazannykh s okazaniem meditsinskoi pomoshchi (ISMP-2020)»; Noyabr' 25–27, 2020; Moscow. Pod red. akademika RAN V.G.Akimkina. Moscow: FBUN TsNII Epidemiologii Rospotrebнадзора, 2020; 29–30. (in Russian)]
- Tay M.Z., Poh C.M., Rénia L., MacAry P.A., Ng L.E.P. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. Nat Rev Immunol. 2020; 20: 363–374. doi: 10.1038/s41577-020-0311-8
- Chen N., Zhou M., Dong X., Qu J, Gong F, Han Y. et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. Lancet. 2020; 395: 507–513. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7
- Arastehfar A., Carvalho A., van de Veerdonk F.L., Jeray D, Jenks, Koehler P, Krause R. et al. COVID-19 Associated Pulmonary Aspergillosis (CAPA) — from immunology to treatment. J Fungi. 2020; 6 (2): 91. doi: 10.3390/jof6020091
- Chatterjee M., Anju C.P., Biswas L., Kumar V.A., Mohan C.G., Biswas R. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and alternative therapeutic options. Int J Med Microbiol. 2016; 306 (1): 48–58. doi: 10.1016/j.ijmm.2015.11.004
- Bondarenko A.P., Шмыленко В.А., Троценко О.Е., Котова В.О., Бутакова Л.В., Базыкина Е.А. Характеристика бактериальной микрофлоры, выделенной из проб мокроты больных пневмонией в Хабаровске и Хабаровском крае в начальный период пандемии Covid-19 (май–июнь 2020 г.). Проблемы ООИ. 2020; 3: 43–49. doi: 10.21055/0370-1069-2020-3-43-49. [Bondarenko A.P., Shmylenko V.A., Trotsenko O.E., Kotova V.O., Butakova L.V., Bazykina E.A. Characteristics of Bacterial Microflora Isolated from Sputum of Patients with Pneumonia Registered in Khabarovsk City and Khabarovsk Territory in the Initial Period of COVID-19 Pandemic in May–June, 2020. Problems of Particularly Dangerous Infections. 2020; 3: 43–49. doi: 10.21055/0370-1069-2020-3-43-49 (in Russian)]
- Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Носков А.К., Ковалев Е.В., Чемисова О.С. и др. Особенности этиологии внебольничных пневмоний, ассоциированных с COVID-19. Проблемы ООИ. 2020; 4: 99–105. doi: 10.21055/0370-1069-2020-4-99-105. [Popova A.Y., Ezhlova E.B., Demina Y.V., Noskov A.K., Kovalev E.V., Chemisova O.S. et al. Features of Etiology of Community-Acquired Pneumonia Associated with COVID-19. Problems of Particularly Dangerous Infections. 2020; 4: 99–105. doi: 10.21055/0370-1069-2020-4-99-105 (in Russian)]
- Aitken S.L., Clancy C.J. Guidance on the treatment of antimicrobial resistant gram-negative infections. Contagion. 2020; 5 (6): 22–23.
- Lee C-R., Cho H., Jeong B.C., Lee C.H. Strategies to minimize antibiotic resistance. Int J Environ Res Public Health. 2013; 10 (9): 4274–4305. doi: 10.3390/ijerph10094274
- Zaitsev A.A. Внебольничная пневмония: возможности диагностики, лечения и вакцинопрофилактики в условиях пандемии COVID-19. Практическая пульмонология. 2020; 1: 14–21. [Zaitsev A.A. Vnebol'nichnaya pnevmoniya: vozmozhnosti diagnostiki, lecheniya i vaksinoprofilaktiki v usloviyakh pandemii COVID-19. Prakticheskaya Pul'monologiya. 2020; 1: 14–21. (in Russian)]
- Sattar S.B.A., Sharma S. Bacterial Pneumonia. 2020. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513321/>
- Лабораторная диагностика внебольничных пневмоний: Методические указания МУК 4.2.3115-13. М.: 2013. [Laboratornaya diagnostika vnebol'nichnykh pnevmonii: Metodicheskie ukazaniya MUK 4.2.3115-13. Moscow: 2013. (in Russian)]
- Лабораторная диагностика внебольничной пневмонии пневмококковой этиологии: Методические рекомендации МР 4.2.0114-16. М.: 2016. [Laboratornaya diagnostika vnebol'nichnoi pnevmonii pneumokokkovoi etiologii: Metodicheskie rekomendatsii MR 4.2.0114-16. Moscow: 2016. (in Russian)]
- Клинические рекомендации МЗ РФ. Кистозный фиброз (муковисцидоз): микробиологическая диагностика хронической респираторной инфекции. 2018. [Klinicheskie rekomendatsii MZ RF. Kistochny fibroz (mukovistsidoz): mikrobiologicheskaya diagnostika khronicheskoi respiratornoi infektsii, 2018. (in Russian)]

16. Нозокомиальная пневмония у взрослых: Российские национальные рекомендации. Под ред. Б.Р. Гельфанда; отв. ред. Д.Н. Протченко, Б.З. Белоцерковский. 2-е изд., перераб. и доп. М.: ООО «Издательство «Медицинское информационное агентство», 2016. [Nozokomial'naya pnevmoniya u vzroslykh: Rossiiskie natsional'nye rekomendatsii. Pod red. B.R. Gel'fanda; отв. red. D.N. Protsenko, B.Z. Belotserkovskii. 2 izd., pererab. i dop. Moscow: ООО «Izdatel'stvo «Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo», 2016. (in Russian)]
17. Мороз А.Ф., Снегирёва А.Е. Грибы рода *Candida* (Методы выделения, идентификации на видовом уровне и определение чувствительности к противогрибковым препаратам). Методические рекомендации. М.: НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи РАМН, 2009. [Moroz A.F., Snegireva A.E. Griby roda *Candida* (Metody vydeleniya, identifikatsii na vidovom уровне i opredelenie chuvstvitel'nosti k protivogribkovym preparatam). Metodicheskie rekomendatsii. Moscow: NIEM im. N. F. Gamalei RAMN, 2009. (in Russian)]
18. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: Методические указания МУК 4.2.1890-04. М.: 2004. [Opredelenie chuvstvitel'nosti mikroorganizmov k antibakterial'nym preparatam: Metodicheskie ukazaniya MUK 4.2.1890-04. Moscow: 2004. (in Russian)]

Информация об авторах

Павлович Наталья Владимировна — д. м. н., главный научный сотрудник, и. о. заведующей лабораторией туляремии ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия

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

Аронова Надежда Валентиновна — к. б. н., старший научный сотрудник лаборатории туляремии ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия

Анисимова Анастасия Сергеевна — младший научный сотрудник лаборатории туляремии ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия

Водопьянов Сергей Олегович — д. м. н., главный научный сотрудник, и. о. заведующего лабораторией биохимии ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия

Водопьянов Алексей Сергеевич — к. м. н., старший научный сотрудник лаборатории диагностики ООИ, ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия

Гудуева Елена Николаевна — младший научный сотрудник музея живых культур с центром патогенных вибрионов ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия

Сагакянц Маргарита Мардиросовна — научный сотрудник музея живых культур с центром патогенных вибрионов ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия

Ковалев Евгений Владимирович — руководитель Управления Роспотребнадзора по Ростовской области, Ростов-на-Дону, Россия

Носков Алексей Кимович — директор ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия

About the authors

Natalia V. Pavlovich — D.Sc. in medicine, Chief Researcher, Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, Rostov-on-Don, Russia

Marina V. Tsybalistova — Ph.D. in medicine, Senior Researcher, Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, Rostov-on-Don, Russia

Nadezhda V. Aronova — Ph.D. in biology, Senior Researcher, Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, Rostov-on-Don, Russia

Anastasia S. Anisimova — Junior Researcher, Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, Rostov-on-Don, Russia

Sergey O. Vodopyanov — D.Sc. in medicine, Chief Researcher, Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, Rostov-on-Don, Russia

Alexey S. Vodopyanov — Ph.D. in medicine, Senior Researcher, Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, Rostov-on-Don, Russia

Elena N. Gudueva — Junior Researcher, Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, Rostov-on-Don, Russia

Margarita M. Sagakyants — Researcher, Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, Rostov-on-Don, Russia

Evgeny V. Kovalev — Head of the Department of Rosпотребнадзор for the Rostov Region, Rostov-on-Don, Russia

Alexsey K. Noskov — Director of Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, Rostov-on-Don, Russia

Эффективность и безопасность применения препарата Риамиловир в лечении пациентов с COVID-19

А. У. САБИТОВ¹, *П. В. СОРОКИН², С. Ю. ДАШУТИНА³

¹ ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет Минздрава России, Екатеринбург, Россия

² ООО «Азол Фарма», Новоуральск, Свердловская область, Россия

³ МАУ «Городская клиническая больница № 14», Екатеринбург, Россия

The Efficacy and Safety of Riamilovir in the Treatment of Patients with COVID-19

ALEBAY U. SABITOV¹, *PAVEL V. SOROKIN², SVETLANA U. DASHUTINA³

¹ Ural State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Yekaterinburg, Russian Federation

² ООО «Azol Pharma», Novouralsk, Sverdlovsk region, Russian Federation

³ City Clinical Hospital No. 14, Yekaterinburg, Russian Federation

Резюме

Цель. Оценка эффективности, безопасности и переносимости препарата Риамиловир (торговое наименование «Триазавирин®») у пациентов с лёгкой формой COVID-19.

Материалы и методы. В рандомизированное открытое исследование включено 120 пациентов с клинико-эпидемиологическими проявлениями коронавирусной инфекции и её лабораторным (ПЦР) подтверждением.

Результаты. Установлена эффективность, безопасность и хорошая переносимость препарата Риамиловир при лечении новой коронавирусной инфекции (COVID-19).

Заключение. Полученные результаты исследования эффективности, безопасности и переносимости применения препарата Риамиловир позволяют рекомендовать его в качестве средства этиотропной терапии новой коронавирусной инфекции (COVID-19).

Ключевые слова: COVID-19; риамиловир; лечение; эффективность.

Для цитирования: Сабитов А.У., Сорокин П.В., Дашутина С.Ю. Эффективность и безопасность применения препарата Риамиловир в лечении пациентов с COVID-19. *Антибиотики и химиотерапия.* 2021; 66: 1–2: 33–37. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-1-2-33-37.

Abstract

Aim. Evaluation of the efficacy, safety, and tolerability of Riamilovir (trade name «Triazavirin®») in patients with mild COVID-19.

Materials and methods. The randomized open-label study included 120 patients with clinical and epidemiological manifestations of coronavirus infection and its laboratory (PCR) confirmation.

Results. The efficacy, safety, as well as good tolerability of Riamilovir in the treatment of new coronavirus infection (COVID-19) have been established.

Conclusion. The results of the study on the efficacy, safety, and tolerability of Riamilovir allow us to recommend it as a means of etiotropic therapy of the new coronavirus infection (COVID-19).

Keywords: COVID-19; Riamilovir; treatment, efficacy.

For citation: Sabitov A.U., Sorokin P.V., Dashutina S.Yu. The efficacy and safety of Riamilovir in the treatment of patients with COVID-19. *Antibiotiki i Khimioter.* 2021; 66: 1–2: 33–37. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-1-2-33-37.

Введение

В настоящее время активно изучаются клинические и эпидемиологические особенности COVID-19, осуществляется поиск и разработка новых средств профилактики и лечения инфекции.

Разработка эффективных вакцин и начало массовой вакцинации безусловно должны снять

основную угрозу широкого распространения вируса SARS-CoV2, но учитывая появление новых штаммов, более заразных и, вероятно, приводящих к более тяжёлому течению заболевания, а также постепенное снятие ограничений, приводящих к массовым перемещениям населения, задача по разработке и исследованию активности/эффективности химиотерапевтиче-

© Коллектив авторов, 2021

*Адрес для корреспонденции:
pavel.sorokin@azolpharma.com

© Team of Authors, 2021

*Correspondence to:
pavel.sorokin@azolpharma.com

ских препаратов в отношении SARS-CoV2 снова выходит на первый план.

В отношении этиотропной терапии во временных методических рекомендациях Министерства здравоохранения Российской Федерации, 10 версия [1], выделено пять препаратов, которые могут быть использованы при лечении COVID-19, но с оговоркой о том, что для некоторых препаратов имеющиеся на сегодня сведения о результатах терапии не позволяют сделать однозначный вывод об их эффективности или неэффективности, в связи с чем их применение допустимо по решению врачебной комиссии в установленном порядке, в случае если потенциальная польза для пациента превысит риск их применения. По имеющимся протоколам лечения, основной акцент делается на применении нуклеозидного аналога фавипиравира — селективном ингибиторе РНК-полимеразы, активном в отношении РНК-содержащих вирусов. Отмечается, что в ряде исследований было продемонстрировано, что фавипиравир эффективно ингибирует SARS-CoV-2. Сдерживающими факторами широкого применения указанного препарата является выраженные побочные явления со стороны крови и лимфатической системы, обмена веществ, дыхательной, иммунной и пищеварительной системы, тератогенность и перечень противопоказаний к применению.

В настоящей работе представлен опыт применения другого нуклеозидного аналога — препарата риамиловир (торговое наименование Триазавирин®). Проведённые ранее полномасштабные клинические исследования II и III фаз по расширению показаний к применению препарата риамиловир в отношении ОРВИ, показали эффективность, безопасность и хорошую переносимость препарата риамиловир в качестве средства терапии острых респираторных вирусных инфекций [2, 3]. Полученные результаты позволили предположить наличие противовирусной активности в отношении новой коронавирусной инфекции (COVID-19).

Первые мультицентровые рандомизированные двойные слепые клинические исследования препарата риамиловир в терапии новой коронавирусной инфекции (COVID-19) были проведены на территории Китайской народной республики в провинции Хэйлунцзян (г. Харбин), под руководством академика Яна Баофэна. В результате проведённых исследований было установлено, что риамиловир сокращает продолжительность основных клинических симптомов (лихорадка и респираторные симптомы), снижает частоту возникновения осложнений и позволяет сократить назначение лекарственных средств. Кроме того, риамиловир показал защитный эффект у пациентов, болеющих COVID-19, сокращая срок их

лечения в целом. Препарат улучшает реакции на воспаление и гиперкоагуляцию у пациентов, уменьшает возникновение осложнений, сокращает потребность в использовании глюкокортикоидов и кислородных ингаляций, приводит к более высокой скорости восстановления аномальных уровней билирубина в сыворотке крови, непрямого билирубина, общего белка, альбумина и мочевой кислоты, а также к меньшему использованию растворов электролитов и диуретиков, что приводит к меньшему повреждению функций печени и почек. Также положительный эффект препарата был проявлен в меньшем использовании антиагрегантных препаратов и антикоагулянтов [4, 5].

В России препарат риамиловир также продемонстрировал клиническую эффективность и безопасность в терапии пациентов с инфекцией, вызванной SARS-CoV-2 средней степени тяжести [6, 7].

В текущих условиях распространения новой коронавирусной инфекции и ограниченности доказательной базы по лечению COVID-19, необходимо наращивать объём использования препаратов в режиме «off-label» для оказания медицинской помощи пациентам с COVID-19, но с чётким соблюдением законодательных и этических норм. На территории Российской Федерации с началом распространения новой коронавирусной инфекции действует Постановление Правительства Российской Федерации от 03.04.2020 № 441 [8], позволяющее оперативно провести исследования эффективности и безопасности лекарственных средств в отношении новой коронавирусной инфекции (COVID-19), наработать практический опыт и быстро получить ответ — работает ли препарат или нет.

В рамках указанного Постановления было проведено рандомизированное исследование по подтверждению эффективности, безопасности и переносимости препарата риамиловир у пациентов с новой коронавирусной инфекцией на базе городской клинической больницы №14 города Екатеринбурга.

Материал и методы

В исследование включено 120 пациентов в возрасте от 18 до 65 лет, с клинико-эпидемиологическими проявлениями коронавирусной инфекции и её лабораторным (ПЦР) подтверждением. В скрининг были включены пациенты с типичными для COVID-19 проявлениями лёгкой формы болезни. После подписания информированного согласия и процедуры рандомизации (использован метод конвертов) пациенты получали препарат риамиловир (Триазавирин®) по 1 капсуле 3 раза в день в течение 7 дней в качестве монотерапии.

Анализ ПЦР на SARS-CoV2 проводился на 10-, 12-й день после начала лечения. Общий и биохимический анализ крови, лейкоцитарная формула, тромбоциты, общий анализ мочи, СРБ, ЭКГ проводились до начала лечения (на старте) и на 10-й день лечения.

Критерии включения в исследование:

- пациенты от 18 до 65 лет обоего пола;
- диагноз COVID-19, подтверждённый методом ПЦР;
- лёгкая форма заболевания по критериям, указанным во временных методических рекомендациях [1];
- отсутствие беременности;
- подписанное информированное согласие.

Критериями невключения являлись:

- возраст младше 18 и старше 65 лет;
- наличие хронических заболеваний в стадии декомпенсации;
- пациенты с тяжёлыми формами COVID-19;
- пациенты с подозрением на ОРВИ (пневмонию) другой этиологии;
- наличие беременности;
- указание на аллергические реакции на препарат риамилловир в анамнезе;
- участие в других клинических исследованиях в течение последних 3 мес.;
- приём в течение последнего месяца противовирусных и иммуномодулирующих препаратов.

В качестве критериев исключения применялись следующие: отказ пациента следовать требованиям протокола, нежелательные реакции на принимаемый препарат, желание пациента досрочно завершить исследование, применение противовирусных препаратов (кроме препарата риамилловир), иммуномодуляторов/иммуностимуляторов.

Эффективность лечения оценивалась по следующим критериям:

- доля пациентов с положительной клинической динамикой через 3, 10 (12) дней от начала терапии;
- средняя длительность симптомов (от момента включения в исследование до выздоровления);
- доля пациентов с отрицательным результатом ПЦР на SARS-CoV2 на 10-, 12-й день от начала лечения;
- доля пациентов с клиническим прогрессированием заболевания;
- доля пациентов с нежелательными реакциями.

Для оценки безопасности регистрировалась частота и характер нежелательных явлений, а также доля лиц с отклонениями в показателях лабораторных анализов. Критериями хорошей переносимости были отсутствие симптомов со стороны внутренних органов и статистически значимых отклонений в общих анализах крови, мочи, биохимических показателях. Критериями удовлетворительной переносимости были статистически значимые, но незначительные по степени тяжести, побочные реакции, не причиняющие серьёзных проблем пациенту и не требующие отмены препарата. Неудовлетворительный показатель переносимости ставился, когда имели место серьёзные побочные эффекты, оказывающие значительное влияние на состояние пациентов, требующие немедленной отмены препарата и применения дополнительных медицинских мероприятий для снятия (нивелирования) негативного влияния используемого препарата.

Длительность наблюдения составляла 14 дней, визиты распределялись следующим образом: визит 1 — на 1-й день, визит 2 — на 3-й день, визит 3 — на 10-й день, визит 4 — на 12-й день, визит 5 — на 14-й день.

Статистическая обработка проводилась с использованием программного обеспечения SAS 9.4.

Результаты и обсуждение

Среди 120 пациентов с лабораторно подтверждённым диагнозом новая коронавирусная инфекция (COVID-19) большую часть (68,33%) составили женщины. Средний возраст пациентов был 39,83±0,04 лет (табл. 1).

Среди включённых в исследование 16% пациентов имели сопутствующие заболевания, такие как гипертоническая болезнь, мочекаменная болезнь, гастрит и др. (табл. 2)

Давность заболевания COVID-19 на начало лечения у большей части пациентов (76,67%) была свыше 3 дней. В среднем длительность заболевания пациентов составила 11,5±0,37 дней. Продолжительность отдельных симптомов болезни отражена в табл. 3.

Положительная клиническая динамика COVID-19 на фоне приёма препарата риамилловир после 3 дня наблюдения выявлялась у 21 человека (17,5%), после 10 дня — у 117 человек (97,5%).

Доля пациентов с отрицательным результатом ПЦР на COVID-19 на 3-м визите (10 день) составила 88,4%, а на 4-м визите (12 день) — 97,5%. Пациентов с прогрессированием симптомов COVID-19 и с возникновением осложнений после 2-го визита (3-й день лечения) выявлено не было.

В результате проведённого исследования установлена безопасность и эффективность применения препарата риамилловир при лечении новой коронавирусной инфекции (COVID-19) на уровне 97,50%. Показатели эффективности и переносимости лечения приведены в табл. 4, 5.

Таблица 1. Возрастно-половая характеристика
Table 1. Age and sex characteristics

Показатель	Мужчины	Женщины
Пол, абс./ %	38/31,67%	82/68,33%
Возраст, лет	37,02±1,60	41,12±1,17

Таблица 2. Сопутствующие заболевания пациентов
Table 2. Patients' comorbid conditions

Заболевания	Частота	Процент
Гипертоническая болезнь	9	7,50
Гипотиреоз	3	2,50
Мочекаменная болезнь	1	0,83
Бронхоэктатическая болезнь	1	0,83
Сахарный диабет	1	0,83
ИБС	1	0,83
Эпилепсия	1	0,83
Хронический гастрит	1	0,83
Язва 12-перстной кишки	1	0,83

Таблица 3. Продолжительность симптомов на фоне лечения
Table 3. The duration of symptoms during treatment

Показатель	Среднее значение (дни)
Температура выше 37,0°C	1,0±0,02
Температура выше 37,8°C	0,2±0,07
Головная боль	5,4±0,36
Миалгии	3,2±0,35
Слабость	4,5±0,41
Боли/рези в глазных яблоках	1,5±0,29
Кашель	3,0±0,40
Боли/першение в горле	2,5±0,38
Потеря обоняния	5,0±0,36
Потеря вкуса	4,5±0,39

Таблица 4. Оценка эффективности и переносимости препарата на отдельных визитах

Table 4. Evaluation of the efficacy and tolerability of the drug at separate visits

Показатель	2-й визит, абс./%	3-й визит, абс./%	4-й визит, абс./%
Оценка эффективности препарата врачом			
1 — Полное выздоровление	1/0,83	31/25,83	115/95,84
2 — Состояние улучшилось значительно	58/48,33	81/67,5	2/0,16
3 — Состояние существенно не изменилось	60/60,0	8/6,67	3/2,5
4 — Состояние ухудшилось	1/0,83	—	—
Переносимость препарата			
1 — Хорошая	110/91,67	113/94,17	117/97,5
2 — Удовлетворительная	10/8,33	7/5,83	3/2,5
Регистрация осложнений основного заболевания			
1 — нет	119/99,17	120/100	120/100
2 — да	1/0,83 (пневмония)	—	—

Таблица 5. Результаты ПЦР-исследования на Covid-19 по визитам

Table 5. Results of the PCR COVID-19 test by visit

Показатель	2-й визит, абс./%	3-й визит, абс./%	4-й визит, абс./%
Отрицательный	—	106/ 88,33	117/ 97,5
Положительный	120/ 100	14/ 11,67	3/ 2,5

Таблица 6. Показатели общего анализа крови в динамике

Table 6. General blood test indicators in dynamics

Показатель	Срок анализа	Среднее значение (M±m)
Гемоглобин (г/л)	На старте	138,99±1,39
	Через 10 дней	138,23±1,36
Эритроциты (10 ¹²)	На старте	4,75±0,04
	Через 10 дней	4,70±0,04
Лейкоциты (10 ⁹)	На старте	6,31±0,18
	Через 10 дней	6,80±0,17
Тромбоциты (10 ⁹)	На старте	268,89±5,71
	Через 10 дней	284,47±6,20
Эозинофилы (%)	На старте	1,59±0,14
	Через 10 дней	2,14±0,15
Базофилы (%)	На старте	0,47±0,02
	Через 10 дней	0,51±0,02
Нейтрофилы (%)	На старте	52,70±10,30
	Через 10 дней	59,26±4,14
Лимфоциты (%)	На старте	34,59±1,14
	Через 10 дней	33,27±1,33
Моноциты (%)	На старте	8,38±0,39
	Через 10 дней	7,55±0,24
СОЭ	На старте	11,54±0,66
	Через 10 дней	11,63±0,72

В динамике на фоне проведённой терапии статистически значимых изменений в лабораторных показателях выявлено не было (табл. 6, 7). Уровень печёночных ферментов оставался нормальным, что является важным фактом подтверждения безопасности лечения.

Заключение

В результате исследования, проведённого в рамках Постановления Правительства России № 441, установлена клиническая эффективность препарата риамилловир при лечении новой коронавирусной инфекции (COVID-19) на уровне 97,50%. Отмечена хорошая переносимость препарата и не выявлено значимых нежелательных явлений и побочных реакций, как в виде появления тех или иных клинических симптомов, так и в виде изменения лабораторных показателей на фоне применения препарата. Полученные результаты позволяют рекомендо-

Таблица 7. Показатели биохимического анализа крови в динамике

Table 7. Biochemical blood test indicators in dynamics

Показатель	Срок анализа	Среднее значение (M±m)
Общий белок (г/л)	До начала применения	70,55±0,87
	На 10-й день применения	69,21±0,73
Альбумин (г/л)	До начала применения	43,01±2,21
	На 10-й день применения	45,51±0,39
Билирубин прямой (мкмоль/л)	До начала применения	3,34±0,16
	На 10-й день применения	3,67±0,19
Билирубин общий (мкмоль/л)	До начала применения	8,04±0,45
	На 10-й день применения	9,21±0,42
АЛТ (ед.)	До начала применения	20,78±1,44
	На 10-й день применения	21,89±1,50
АСТ (ед.)	До начала применения	21,26±1,17
	На 10-й день применения	21,28±0,86
СРП (мг/л)	До начала применения	3,48±0,66
	На 10-й день применения	3,15±0,68
Мочевина (ммоль/л)	До начала применения	3,99±0,11
	На 10-й день применения	4,26±0,12
Креатинин (мкмоль/л)	До начала применения	67,01±1,38
	На 10-й день применения	64,10±1,53

вать использование препарата риамилловир в качестве этиотропного средства первой линии лечения пациентов с новой коронавирусной инфекцией.

Благодаря накопленному практическому опыту применения препарат риамилловир вошёл в клинический протокол лечения больных новой коронавирусной инфекцией COVID-19, находя-

щихся на амбулаторном и стационарном лечении в медицинских организациях государственной системы здравоохранения города Москвы [9].

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Литература/References

1. Временные методические рекомендации Министерства здравоохранения России «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)», версия 10, 08.02.2021. [Vremennye metodicheskie rekomendatsii Ministerstva zdavookhraneniya Rossii «Profilaktika, diagnostika i lechenie novoy koronavirusnoj infektsii (COVID-19)», versiya 10, 08.02.2021. (in Russian)]
2. Токин И.И., Зубкова Т.Г., Дроздова Ю.В., Лиознов Д.А. Опыт этиотропной терапии ОРВИ отечественным противовирусным препаратом. Инфекционные болезни. 2019; 17 (4): 13–17. doi: 10.20953/1729-9225-2019-4-13-17 [Tokin I.I., Zubkova T.G., Drozdova Yu.V., Lioznov D.A. Opyt etiotropnoj terapii ORVI otechestvennym protivovirusnym preparatom. Infektsionnye Bolezni. 2019; 17 (4): 13–17. doi: 10.20953/1729-9225-2019-4-13-17 (in Russian)]
3. Лиознов Д.А., Токин И.И., Зубкова Т.Г., Сорокин П.В. Практика применения отечественного противовирусного препарата в этиотропной терапии острой респираторной вирусной инфекции. Терапевтический архив. 2020; 92 (12): 59–63. doi: 10.26442/00403660.2020.12.200427 [Lioznov D.A., Tokin I.I., Zubkova T.G., Sorokin P.V. Praktika primeneniya otechestvennogo protivovirusnogo preparata v etiotropnoj terapii ostroj respiratornoj virusnoj infektsii. Terapevticheskij arkhiv. 2020; 92 (12): 59–63. doi: 10.26442/00403660.2020.12.200427 (in Russian)]
4. Xiaoke Wu, et al. The Efficacy and Safety of Triazavirin for COVID-19: A trial protocol. Engineering, 07, 2020.
5. Xiaoke Wu, et al. Efficacy and Safety of Triazavirin therapy for Coronavirus disease 2019: a pilot randomized controlled trial, 09, 2020.
6. Сабитов А.У., Белоусов В.В., Един А.С., Олейниченко Е.В., Гладунова Е.П., Тихонова Е.П., Кузьмина Т.Ю., Калинин Ю.С., Сорокин П.В. Практический опыт применения препарата Риамилловир в лечении пациентов с COVID-19 средней степени тяжести. Антибиотики и химиотер. 2020; 65 (7–8): 27–30. doi: 10.37489/0235-2990-2020-65-7-8-27-30 [Sabitov A.U., Belousov V.V., Edin A.S., Olejnichenko E.V., Gladunova E.P., Tikhonova E.P., Kuz'mina T.Jyu., Kalinina Jyu.S., Sorokin P.V. Prakticheskij opyt primeneniya preparata Riamilovir v lechenii patsientov s COVID-19 srednej stepeni tyazhesti. Antibiotiki i Khimioter. 2020; 65 (7–8): 27–30. doi: 10.37489/0235-2990-2020-65-7-8-27-30 (in Russian)]
7. Касьяненко К.В., Мальцев О.В., Козлов К.В., Лапиков И.И., Львов Н.И., Сукачев В.С., Жданов К.В., Сорокин П.В., Ратникова А.К. Клиническая эффективность и безопасность применения Риамилловира при лечении пациентов с инфекцией, вызванной SARS-CoV-2. Антибиотики и химиотер. 2020; 65: (11–12): 16–21. doi: 10.37489/0235-2990-2020-65-11-12-16-21 [Kas'yanenko K.V., Mal'tsev O.V., Kozlov K.V., Lapikov I.I., L'vov N.I., Sukachev V.S., Zhdanov K.V., Sorokin P.V., Ratnikova A.K. Klinicheskaya effektivnost' i bezopasnost' primeneniya Riamilovira pri lechenii patsientov s infektsiej, vyzvannoj SARS-CoV-2. Antibiotiki i khimioter. 2020; 65: (11–12): 16–21. doi: 10.37489/0235-2990-2020-65-11-12-16-21 (in Russian)]
8. Постановление Правительства Российской Федерации от 03.04.2020 № 441 «Об особенностях обращения лекарственных препаратов для медицинского применения, которые предназначены для применения в условиях угрозы возникновения и ликвидации чрезвычайной ситуации и для организации оказания медицинской помощи лицам, пострадавшим в результате чрезвычайных ситуаций, предупреждения чрезвычайных ситуаций, профилактики и лечения заболеваний, представляющих опасность для окружающих, заболеваний и поражений, полученных в результате воздействия неблагоприятных химических, биологических, радиационных факторов». [Postanovlenie Pravitel'stva Rossijskoj Federatsii ot 03.04.2020 № 441 «Ob osobennostyakh obrashcheniya lekarstvennykh preparatov dlya meditsinskogo primeneniya, kotorye prednaznacheny dlya primeneniya v usloviyakh угрозы возникновения и ликвидации чрезвычайной ситуации и для организационного оказания медицинской помощи лицам, пострадавшим в результате чрезвычайных ситуаций, предупреждения чрезвычайных ситуаций, профилактики и лечения заболеваний, представляющих опасность для окружающих, заболеваний и поражений, полученных в результате воздействия неблагоприятных химических, биологических, радиационных факторов». (in Russian)]
9. Клинический протокол лечения больных новой коронавирусной инфекцией COVID-19, находящихся на стационарном лечении в медицинских организациях государственной системы здравоохранения города Москвы (<https://mosgorzdrav.ru/professional/covid-19>). [Klinicheskij protokol lecheniya bol'nykh novoy koronavirusnoj infektsiej COVID-19, nakhodyashchikhsya na stacionarnom lechenii v meditsinskikh organizatsiyakh gosudarstvennoj sistemy zdavookhraneniya goroda Moskvy (<https://mosgorzdrav.ru/professional/covid-19>). (in Russian)]

Информация об авторах

Сабитов Алейбай Усманович — д. м. н., профессор, заведующий кафедрой инфекционных болезней и клинической иммунологии ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет Минздрава России, Екатеринбург. ORCID:0000-0003-0858-9529

Сорокин Павел Владимирович — к. фарм. н., генеральный директор ООО «Азол Фарма», Свердловская область, Новоуральск. ORCID: 0000-0002-1477-8521

Дашутина Светлана Юрьевна — к. м. н., заместитель руководителя по амбулаторно-поликлинической службе, Муниципальное автономное учреждение «Городская клиническая больница № 14», Екатеринбург

About the authors

Alebay U. Sabitov — D. Sci. in Medicine, professor, Ural State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Yekaterinburg, Russian Federation. ORCID: 0000-0003-0858-9529

Pavel V. Sorokin, — Ph. D. in Pharmacy, ООО «Azol Pharma», Novouralsk, Sverdlovsk region, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-1477-8521

Svetlana U. Dashutina — Ph. D. in Medicine, City Clinical Hospital No. 14, Yekaterinburg, Russian Federation.

Продолжительность жизни радикально оперированных больных немелкоклеточным раком лёгкого: по результатам 8-летнего наблюдения в онкологическом научном центре им. Н. Н. Блохина

*Т. А. БОГУШ¹, Е. А. РУКАВИШНИКОВА^{1,2}, А. А. БАШАРИНА¹,
Е. А. БОГУШ^{1,3}, В. Ю. КИРСАНОВ³, С. Д. КОЛОМИЙЦЕВ¹,
А. Б. РАВЧЕЕВА¹, Н. О. ВИХЛЯНЦЕВА¹, В. С. КОСОРУКОВ¹

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

² ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова», Москва, Россия

³ ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Россия

Survival Outcomes in Patients after Radical Surgery for Non-Small Lung Cancer: an 8-year Study at N. N. Blokhin Cancer Research Center

*TATYANA A. BOGUSH¹, EKATERINA A. RUKAVISHNIKOVA^{1,2}, ANNA A. BASHARINA¹,
ELENA A. BOGUSH^{1,3}, VLADISLAV E. KIRSANOV³, SERGEY D. KOLOMIYTSEV¹,
ANNA B. RAVCHEEVA¹, NADEZHDA O. VIKHLYANTSEVA¹, VYACHESLAV S. KOSORUKOV¹

¹ N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

² Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

³ I. M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

Резюме

При исследовании 125 радикально оперированных больных немелкоклеточным раком лёгкого (НМРЛ) выявлены характерные для этого заболевания клинико-anamnestические характеристики. Основную долю больных НМРЛ составили курильщики (73%), при этом мужчины болели значительно чаще, чем женщины (80% vs 20%). Пациенты разного пола различались по гистологическому типу опухоли: плоскоклеточный рак характерен для пациентов мужского пола (70%), тогда как у женщин преобладала аденокарцинома (80%). Заключают, что описанные структура и ассоциация болезни с клинически значимыми характеристиками НМРЛ сопоставимы с данными литературы, что указывает на отсутствие значимых изменений и новых закономерностей за последние 8 лет. Показатели выживаемости радикально оперированных больных с НМРЛ также оказались близкими к выявленным ранее в других исследованиях. Установлены различия в выживаемости больных в зависимости от стадии заболевания, статуса курения и гистологического типа опухоли: более благоприятный прогноз при меньшей распространённости болезни, у некурящих пациентов по сравнению с курильщиками и при аденокарциноме по сравнению с плоскоклеточным НМРЛ. Показана гетерогенность группы больных, переживших 5 лет после хирургического лечения, которая включала не только пациентов с начальной I стадией болезни, но и с распространённой II и даже III стадией заболевания. И наконец, продемонстрировано отсутствие гендерных различий в общей выживаемости больных с НМРЛ, что отличается от данных литературы о лучшей выживаемости пациенток женского пола по сравнению с мужчинами. Авторы предполагают, что этот результат может указывать на появление в российской популяции факторов, улучшающих течение болезни у мужчин или неблагоприятно влияющих на заболевание у женщин.

Ключевые слова: немелкоклеточный рак лёгкого; статус курения; гендерные различия; гистологический тип; выживаемость

Для цитирования: Богущ Т.А., Рукавишникова Е.А., Башарина А.А., Богущ Е.А., Кирсанов В.Ю., Коломийцев С.Д., Равчеева А.Б., Вихлянцев Н.О., Косоруков В.С. Продолжительность жизни радикально оперированных больных немелкоклеточным раком лёгкого: по результатам 8-летнего наблюдения в онкологическом научном центре им. Н. Н. Блохина. *Антибиотики и химиотерапия.* 2021; 66: 1–2: 38–46. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-1-2-38-46.

Abstract

In the study of 125 patients after radical surgery for non-small cell lung cancer (NSCLC), distinctive clinicopathological parameters of this disease were found. Thus, the majority of patients with NSCLC were smokers (73%), men had significantly higher rate of the disease than women (80% vs 20%). Patients of different sex varied by the tumor histological type: squamous cell carcinoma was characteristic of male patients (70%), while adenocarcinoma predominated in women (80%). Authors conclude that the described incidence patterns and the association of NSCLC with significant clinical features are comparable with the literature data, which indicates the absence of significant changes over the past 8 years. Survival rates of the patients after radical surgery for NSCLC also coincided with results of the previous studies. Overall survival rate varied by the stage of the disease, smoking status, and the tumor histological type: patients with earlier stage at diagnosis, never-smokers and patients with adenocarcinoma rather than squamous cell carcinoma were associated with a more favorable prognosis. The heterogeneity of the patients who survived 5 years after surgical treatment was shown: the group included patients not only with stage I of the disease, but also with more advanced II and even III stages of the disease. Finally, the absence of gender differences in the overall survival of the patients with NSCLC was demonstrated; this fact differs from the literature data on the better survival of female patients compared to men. The authors suggest that the result may indicate the emergence of factors in the Russian population that improve the course of disease in men or adversely affect the disease in women.

Keywords: non-small cell lung cancer; smoking status; gender differences; histological type; survival rate

For citation: Bogush T.A., Rukavishnikova E.A., Basharina A.A., Bogush E.A., Kirsanov V.E., Kolomyitsev S.D., Ravcheeva A.B., Vikhlyantseva N.O., Kosorukov V.S. Survival outcomes in patients after radical surgery for non-small lung cancer: an 8-year study at N. N. Blokhin Cancer Research Center. *Antibiot i Khimioter.* 2021; 66: 1–2: 38–46. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-1-2-38-46.

Введение

В 2020 г. в мире было зарегистрировано более 2,2 млн (2 206 771) новых случаев рака лёгкого. Данное заболевание заняло второе после рака молочной железы место по распространённости среди злокачественных новообразований. Стандартизированные по возрасту показатели заболеваемости составили 31,5 и 14,6 на 100 тыс. населения для мужчин и женщин, соответственно [1].

Заболеваемость раком лёгкого сильно варьирует в различных регионах мира, и разница в показателях может достигать 20 раз [2]. Особенности заболеваемости наиболее вероятно отражают фазу так называемой «табачной эпидемии» в разных странах [3, 4]. Несмотря на глобальный рост заболеваемости и смертности от рака лёгкого, в ряде стран Северной Америки и Европы отмечается стабильное снижение показателей среди мужского населения [2]. В отличие от тенденции к снижению, наблюдаемой у мужчин, женская заболеваемость раком лёгкого в большинстве Европейских стран продолжает расти [5]. Стабильное уменьшение заболеваемости среди женского населения наблюдается лишь в США [6].

Тренды по заболеваемости раком лёгкого в России в целом соответствуют таковым в развитых странах и характеризуются снижением как среди мужского, так и среди женского населения [7, 8]. Стоит отметить, что распространённость курения и употребления табака в России в последние годы также уменьшается [9].

Наиболее распространённой формой рака лёгкого является немелкоклеточный рак (НМРЛ) [10]. Это тяжёлое, агрессивное, часто непредсказуемое по течению заболевание, результаты лечения которого нельзя признать удовлетворительными [11]. Хирургическое лечение остаётся важнейшим первым и часто наиболее эффектив-

ным методом лечения НМРЛ, и хирургическая техника в большинстве ведущих клиник мира достигла своих вершин не только в смысле виртуозности хирургов, но и их технической оснащённости [12].

Наряду с этим, как и при других онкологических заболеваниях, развивается консервативное лечение НМРЛ. Это — лучевая терапия, классические цитостатики, таргетные препараты, а также их комбинации. Интенсивно развивается молекулярное фенотипирование опухолей, направленное на персонализацию лекарственной терапии каждого больного [13, 14]. И это путь, который проходят врачи и учёные всего мира.

Тем не менее, результаты лечения НМРЛ по-прежнему часто остаются неудовлетворительными и правильность движения вперед, как нам кажется, необходимо контролировать путём популяционного мониторинга конечного результата — продолжительности жизни пациентов. Это, наряду с качеством жизни, является конечной оценочной точкой эффективности лечения пациентов с любым онкологическим заболеванием.

Для такого рода исследования НМРЛ является адекватной нозологической формой, так как наряду с глубокими эпидемиологическими знаниями о заболеваемости, широкая распространённость НМРЛ делает возможным формирование достаточных для проведения анализа групп сравнения. Что касается влияния клинико-анамнестических характеристик на агрессивность течения НМРЛ — это хорошо известные и общепризнанные факты.

Учитывая сказанное, целью настоящего исследования явилась оценка продолжительности жизни радикально оперированных больных НМРЛ, проходивших лечение в онкологическом научном центре им. Н. Н. Блохина Министерства Здравоохранения Российской Федерации в течение 8 лет.

Материал и методы

В исследование были включены 125 больных с верифицированным диагнозом немелкоклеточного рака лёгкого (НМРЛ), радикально оперированных в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России с 2008 по 2018 гг. Изучены истории болезни и амбулаторные карты больных. Все пациенты получили адъювантное лечение — лучевую терапию и/или химиотерапию с использованием классических цитостатиков или таргетных препаратов, а также разные комбинации этих методов лечения.

Статистический анализ результатов проведён с помощью программы GraphPad Prism 7.0 (GraphPad Software, San Diego CA, USA). Критерий хи-квадрат использовали для оценки статистической значимости различий в категориальных переменных, таких как статус курения, гистологический тип опухоли и пол. Корреляция между различными клинико-анамнестическими характеристиками и общей выживаемостью оценена с помощью кривых выживаемости Каплана–Майера (логранк тест и обобщённый тест Вилкоксона–Гехана) и регрессионной модели Кокса. Статистически значимыми считали различия при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

На основании анализа данных историй болезни все пациенты, включённые в исследование, были охарактеризованы по возрасту, полу, статусу курения, стадии заболевания, гистологическому типу и степени дифференцировки опухоли. Полученные клинико-анамнестические характеристики приведены в табл. 1.

Средний возраст пациентов по группе в целом составил 60 лет (разброс — от 35 до 82 лет), при этом средний возраст пациентов мужского и женского пола был приблизительно одинаковым — 61 год (разброс — от 35 до 82 лет) и 58 лет (разброс — от 37 до 73 лет), соответственно.

В исследованной когорте пациенты мужского пола встречались в четыре раза чаще, чем женского: 100 мужчин vs 25 женщин (соответственно, 80% vs 20%).

Статус курения удалось установить для 104 пациентов. Среди них 76 человек (73,1%) оказались курильщиками, а 28 (26,9%) — не курили.

Из 125 включённых в исследование больных 26 человек (20,8%) составили группу с I стадией заболевания, 51 больной (40,8%) — со II стадией, 42 (33,6%) — с III стадией и у 6 пациентов (4,8%) была диагностирована IV стадия НМРЛ.

Преобладающей гистологической формой НМРЛ оказался плоскоклеточный рак, частота диагностирования которого была в полтора раза выше по сравнению с аденокарциномой: 75 vs 50 случаев (соответственно, 60% vs 40%).

Морфологическая дифференцировка опухоли диагностирована у 103 из 125 включённых в исследование больных. По степени морфологической дифференцировки опухоли больные распределились следующим образом: высоко- и умереннодифференцированные (G1 и G2, соответственно) опухоли выявлены у 63 больных (51,6%), а низкодифференцированные и недифференцированные (G3/G4) новообразования — у 36 пациентов (28,8%).

Частота встречаемости плоскоклеточного НМРЛ у пациентов мужского пола в 3,5 раза превысила аналогичный показатель у женщин (70% vs 20%), а аденокарцинома лёгкого, наоборот, у пациенток женского пола диагностирована в 2,7 раза чаще ($p < 0,001$).

Гендерные различия выявлены и в статусе курения больных НМРЛ. Доля курильщиков

Таблица 1. Клинические характеристики больных НМРЛ, включённых в исследование
Table 1. Clinical characteristics of NSCLC patients included in the study

Группы сравнения	Вся выборка (n=125)	Мужчины (n=100)	Женщины (n=25)
Средний возраст (годы)	60 [35–82] ¹	61 [35–82] ¹	58 [37–73] ¹
Статус курения²			
Курильщики	76 (73,1%)	73 (86,9%)	3 (15,0%)
Не курят	28 (26,9%)	11 (13,1%)	17 (85,0%)
Стадия заболевания			
I	26 (20,8%)	21 (21,0%)	5 (20,0%)
II	51 (40,8%)	39 (39,0%)	12 (48,0%)
III	42 (33,6%)	37 (37,0%)	5 (20,0%)
IV	6 (4,8%)	3 (3,0%)	3 (12,0%)
Гистологический тип опухоли			
Аденокарцинома	50 (40,0%)	30 (30,0%)	20 (80,0%)
Плоскоклеточный рак	75 (60,0%)	70 (70,0%)	5 (20,0%)
Степень морфологической дифференцировки опухоли³			
G1/G2	65 (63,1%)	56 (62,2%)	9 (69,2%)
G3/G4	38 (36,9%)	34 (37,8%)	4 (30,8%)

Примечание. n — число больных в группах; ¹ — в квадратных скобках указан разброс значений; ² — статус курения установлен для 104 пациентов; ³ — морфологическая дифференцировка определена у 103 пациентов: G1/G2 — высокодифференцированные и умереннодифференцированные опухоли, G3/G4 — низкодифференцированные и недифференцированные опухоли.

Note. n — number of patients; ¹ — range of values is indicated in square brackets; ² — smoking status was determined for 104 patients; ³ — histological grade was determined for 103 patients: G1/G2 — well-differentiated and moderately differentiated tumors, G3/G4 — poorly differentiated and undifferentiated tumors.

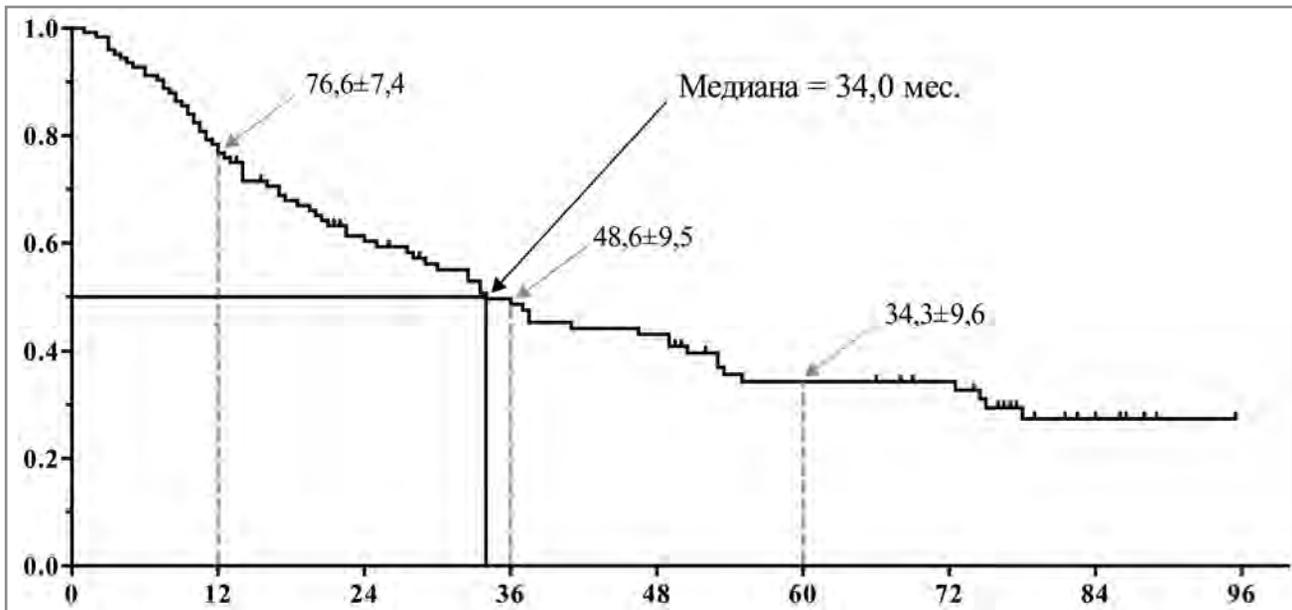


Рис. 1. Кривая выживаемости радикально оперированных больных НМРЛ по результатам 8-летнего наблюдения в онкологическом научном центре им. Н. Н. Блохина ($n=125$).

Примечание. По оси абсцисс — время наблюдения (мес.). По оси ординат — доля выживших пациентов. Цифрами на рисунке обозначены показатели однолетней, трёхлетней и пятилетней выживаемости.

Fig. 1. Overall survival of patients after radical surgery for NSCLC, based on the results of an 8-year follow-up at N.N. Blokhin Cancer Research Center of Russian Federation ($n=125$).

Note. Horizontal axis — follow-up time (in months). Vertical axis — proportion of patients who survived. Numbers in the figure indicate one-year, three-year and five-year survival rates.

среди мужчин была почти в шесть раз выше, чем у женщин: 86,9% vs 15,0%, соответственно ($p<0,001$).

Таким образом, согласно полученным результатам, среди пациентов с НМРЛ прослеживаются основные закономерности, неоднократно отмеченные для этого заболевания во многих исследованиях [6, 15–17].

Это, прежде всего, неодинаковая распространённость заболевания среди женщин и мужчин. Мужчины болеют НМРЛ значительно чаще по сравнению с женщинами (в соотношении 4:1). Среди больных НМРЛ основную долю составили курильщики (в соотношении с некурящими 2,7:1). Курящими пациентами с диагнозом НМРЛ в подавляющем большинстве случаев оказались мужчины (в соотношении с женщинами 24,3:1).

И наконец, выявлена характерная для НМРЛ частота встречаемости разных гистологических форм опухоли с чёткими гендерными различиями. В исследованной выборке плоскоклеточный НМРЛ встречался чаще, чем аденокарцинома (в соотношении 1,5:1), и преимущественно у мужчин (в соотношении с пациентками женского пола 3,5:1).

Проведённый анализ продемонстрировал также, что по-прежнему НМРЛ у подавляющего числа заболевших (более чем в 70% случаев) выявляется на распространённых стадиях заболевания — на II и III стадиях.

Сказанное позволяет заключить, что структура НМРЛ и ассоциация болезни с разными клинико-анамнестическими характеристиками сопоставимы с данными литературы в России и мире [6, 8, 11, 17].

Анализ выживаемости пациентов, радикально оперированных по поводу немелкоклеточного рака лёгкого (НМРЛ)

Согласно данным 8-летнего наблюдения, медиана общей выживаемости радикально оперированных больных НМРЛ составила 34,0 мес., однолетняя выживаемость — 76,6±7,4%, трёхлетняя — 48,6±9,5%, пятилетняя — 34,3±9,6% (рис. 1).

Общая пятилетняя выживаемость в исследованной группе пациентов оказалась близкой к описанной ранее в других российских исследованиях, где данный показатель составил 42,0% [16, 18].

К концу 5-летнего наблюдения после хирургической операции из 125 пациентов, включённых в исследование, живы оказались 25 человек. Среди них I, II и III стадии заболевания были диагностированы, соответственно, у 8, 10 и 7 пациентов. Иными словами, эта группа больных с благоприятным прогнозом была разнородной и включала не только пациентов с начальной I стадией болезни, но и распространённую II и даже III стадии заболевания. Данное наблюдение свидетельствует о необходимости не только клинического, но и молекулярного прогнозирования агрессивности течения болезни.

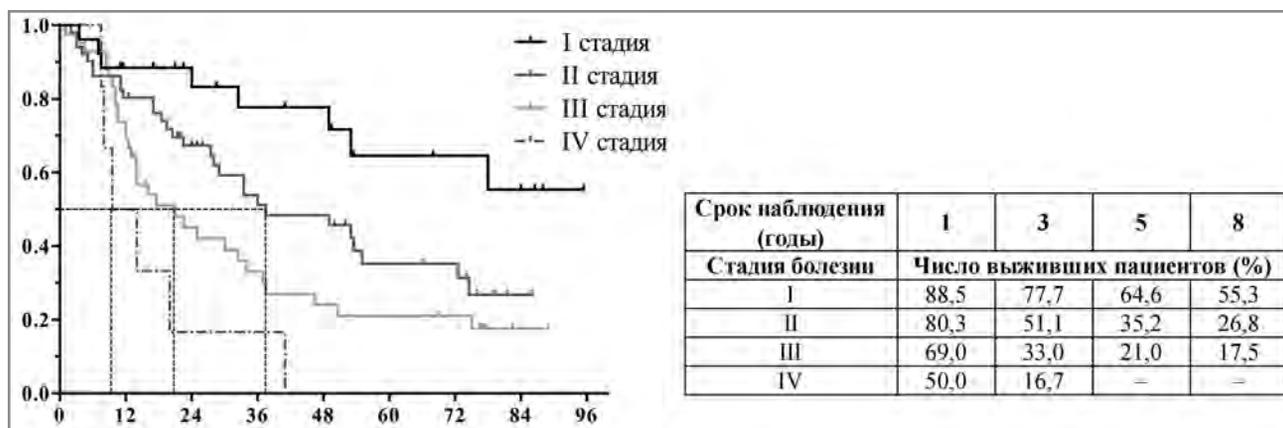


Рис. 2. Кривые выживаемости больных НМРЛ при разных стадиях болезни.

Примечание. По оси абсцисс — время наблюдения после хирургической операции (мес.). По оси ординат — доля выживших пациентов. Пунктирные линии на рисунке — медианы продолжительности жизни при сроке наблюдения 96 мес. В таблице представлено число выживших больных на разные сроки наблюдения.

Fig. 2. Overall survival curves of NSCLC patients at different stages of the disease.

Note. Horizontal axis – follow-up time after surgery (in months). Vertical axis – proportion of patients who survived. Dotted lines indicate median survival times at 96 month of the follow-up. The table demonstrates number of patients surviving at different follow-up periods.

При подгрупповом анализе выживаемости больных НМРЛ в зависимости от стадии заболевания получены следующие результаты (рис. 2).

Пятилетняя выживаемость среди больных с I стадией болезни составила $64,6 \pm 22,3\%$, со II стадией — $35,2 \pm 15,7\%$ и с III стадией — $21,0 \pm 13,5\%$. Прогностически крайне неблагоприятную группу составили больные с IV стадией заболевания, все из которых умерли к 41 мес. наблюдения.

Медианы выживаемости пациентов при II, III и IV стадиях заболевания составили 37,5; 21,0 и 11,8 мес., соответственно. К концу срока наблюдения в группе пациентов с I стадией болезни медиана выживаемости не достигнута.

Парное сравнение кривых выживаемости больных при разных стадиях болезни (табл. 2) показало, что общая выживаемость больных с I стадией была статистически значимо выше, чем при распространённых II ($p=0,032$) и III ($p<0,001$) стадиях болезни. Группы пациентов при II и IV стадиях заболевания также статистически значимо различались по выживаемости ($p=0,004$). Несмотря на то, что при сравнении общей выживаемости между пациентами при II vs III, а также при III vs IV стадиях болезни статистическая значимость различий не достигнута, на рис. 2 видно, что после 12 мес. после хирургической операции кривые выживаемости не пересекаются на протяжении всего срока наблюдения.

Различия между подгруппами подтверждают данные, приведённые в таблице на рис.2: на все сроки наблюдения количество выживших пациентов уменьшается при увеличении стадии болезни в ряду I>II>III>IV. Различия в выживаемости при разных стадиях болезни отчётливо видны уже через год после хирургического лечения, а с

увеличением срока наблюдения они становятся всё более очевидными.

Так, трёхлетняя выживаемость при I стадии НМРЛ оказалась выше, чем при II стадии в 1,5 раза, и в 2,4 раза выше, чем при III стадии болезни. К концу 8-летнего срока наблюдения выживаемость при I стадии была выше данного показателя при II стадии НМРЛ уже в 2 раза, а разница между показателями выживаемости при I и III стадиях болезни увеличилась до 3,2 раз.

Полученные данные соответствуют многочисленным исследованиям, доказывающим значимость стадии опухолевого процесса в качестве прогностического фактора выживаемости больных НМРЛ [19, 20]. В целом, при меньшей распространённости заболевания прогноз, оцененный по продолжительности общей выживаемости, более благоприятный.

Помимо стадии заболевания, к прогностическим факторам выживаемости относится также курение [21–23]. В нашем исследовании (рис. 3, а) из 104 пациентов, для которых установлен статус курения, некурящие пациенты ($n=28$) продемонстрировали лучшие показатели выживаемости, по сравнению с курящими (табл. 2). Медиана выживаемости в группе никогда не куривших больных не достигнута, а у курящих показатель составил 33,5 мес. (рис. 3, а). Несмотря на то что различие между группами реализуется только на уровне тенденции ($p=0,064$), кривые на рис. 3, а отчетливо демонстрируют, что различие реально существует, так как на всех сроках наблюдения кривые стабильно расходятся. Если согласиться с такой трактовкой, можно утверждать, что вероятность умереть в группе курящих более чем в полтора раза выше по сравнению с некурящими

Таблица 2. Результаты анализа общей выживаемости больных НМРЛ при разных стадиях болезни
Table 2. Results of overall survival of NSCLC patients at different stages of the disease

Группы сравнения	Статистические показатели различий в общей выживаемости больных при разных стадиях НМРЛ	
	<i>p</i> *	HR**
I vs II	0,032	0,44; 95% CI 0,25–0,93
I vs III	<0,001	0,28; 95% CI 0,17–0,59
I vs IV	<0,001	0,16; 95% CI 0,01–0,16
II vs III	0,059	0,63; 95% CI 0,36–1,01
II vs IV	0,004	0,30; 95% CI 0,03–0,48
III vs IV	0,094	0,49; 95% CI 0,12–1,16

Примечание. *p** — статистическая значимость, рассчитанная логранк тестом (полужирным шрифтом выделены значения, достигшие статистической значимости); HR** — соотношение рисков смерти в группах сравнения; CI — доверительный интервал.

Note. * *p* — statistical significance determined by the log-rank test (bold text indicates statistically significant *p*-values); ** HR — the ratio of the estimated mortality rates in comparison groups; CI — confidence interval.

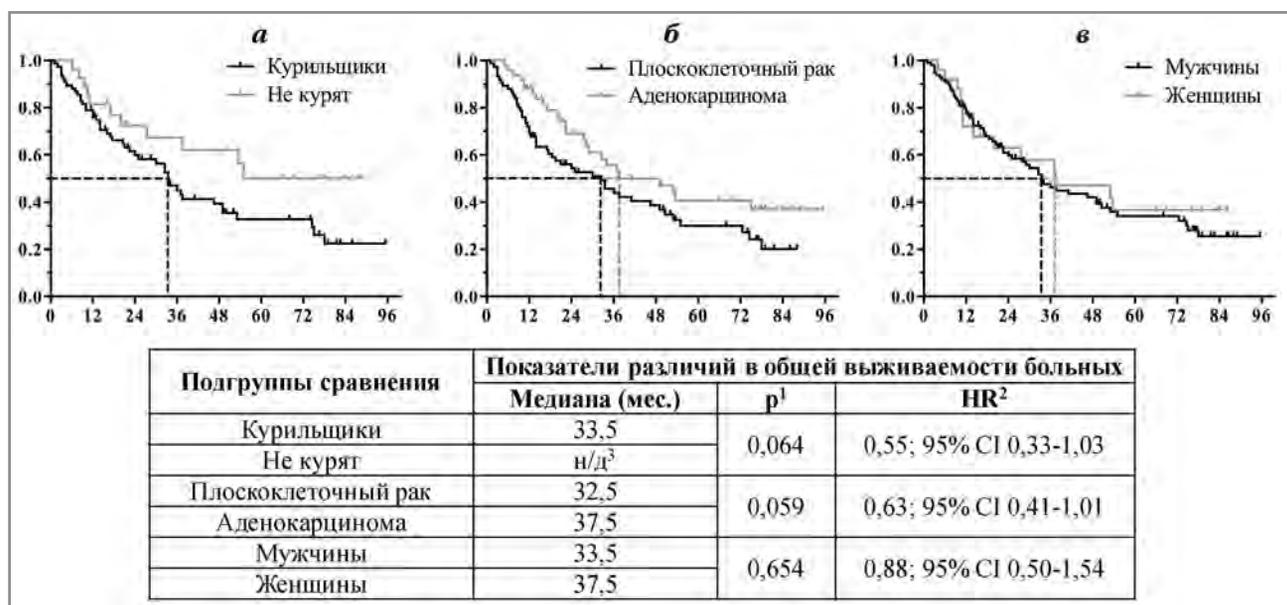


Рис. 3. Кривые общей выживаемости больных НМРЛ в подгруппах, различающихся по статусу курения (а), гистологическому типу опухоли (б) и полу (в).

Примечание. По оси абсцисс — время наблюдения после хирургической операции (мес.). По оси ординат — доля выживших пациентов. Пунктирными линиями на графиках обозначены медианы выживаемости для каждой кривой. ¹ — значимость различий, рассчитанная логранк тестом; ² — соотношение рисков смерти и 95% доверительный интервал (CI); ³ — не достигнута.

Fig. 3. Overall survival curves of NSCLC patients according to smoking status (a), histological type of a tumor (b), and sex (c).

Note. Horizontal axis — follow-up time after surgery (in months). Vertical axis — proportion of patients who survived. Dotted lines indicate median survival times for each curve. ¹ — significance of the difference determined by the log-rank test; ² — ratio of the estimated mortality rates and 95% confidence interval; ³ — median survival not reached.

пациентами (HR=0,58; 95% CI 0,40–1,01). Иными словами, по результатам проведённого анализа курение является неблагоприятным фактором, прогнозирующим меньшую продолжительность жизни больных с НМРЛ по сравнению с некурящими пациентами.

Гистологический тип опухоли также относится к прогностическим характеристикам агрессивности НМРЛ, хотя в некоторых работах и выявляется независимость этих параметров

[24]. В нашем исследовании при сравнении кривых выживаемости в зависимости от гистологического типа опухоли показано, что медиана общей выживаемости пациентов с аденокарциномой (*n*=50) выше, чем у больных с плоскоклеточным раком (*n*=75) — 37,5 vs 32,5 мес., соответственно (рис. 3, б). При анализе результатов логранк тестом различия выявлены на уровне тенденции (*p*=0,059), при этом вероятность умереть у пациентов с аденокарциномой оказалась

в полтора раза ниже, чем у больных с плоскоклеточным НМРЛ (HR=0,64; 95% CI 0,41–1,01). Однако важно заметить, что проверка различий в общей выживаемости между больными с аденокарциномой и плоскоклеточным НМРЛ с использованием обобщённого теста Вилкоксона–Гехана, в котором вес смерти от заболевания выше на начальных этапах наблюдения, различия достигли статистической значимости ($p=0,034$).

При оценке гендерной значимости в прогнозе НМРЛ состав выборки включённых в исследование больных не позволил сформировать подгруппы сравнения, различающиеся только по полу пациентов. Во-первых, число мужчин в четыре раза превысило число женщин в исследованной когорте, что согласуется с хорошо известной гендерной структурой НМРЛ. Во-вторых, среди женщин в исследованной когорте пациентов отмечено преобладание характеристик, относящихся к благоприятным прогностическим факторам: большинство пациенток (85,0%) не курили, у большинства (80,0%) — диагностирована аденокарцинома.

Однако, несмотря на преобладание благоприятных прогностических факторов у женщин, анализ кривых выживаемости показал, что пациенты мужского и женского пола не отличаются по общей выживаемости (рис. 3, в): медианы выживаемости составили, соответственно, 33,5 и 37,5 мес. ($p=0,65$; HR=0,88; 95% CI 0,50–1,54). Этот факт отличается от описанных в литературе данных о том, что больные женского пола с диагнозом НМРЛ характеризуются лучшими показателями выживаемости по сравнению с мужчинами [25].

Заключение

Суммировать полученные результаты можно следующим образом. При исследовании 125 радикально оперированных больных немелкоклеточным раком лёгкого нам удалось выявить характерные для этого заболевания закономерности в распространённости определённых клинико-анамнестических характеристик. Так, основную долю больных НМРЛ составили курильщики, при этом мужчины болели значительно чаще, чем женщины. Пациенты разного пола различались по гистологическому типу опухоли: плоскоклеточный рак характерен для пациентов мужского пола, тогда как у женщин преобладала аденокарцинома. Сказанное позволяет заключить, что описанные в настоящем исследовании структура НМРЛ и ассоциация болезни с клинически значимыми характеристиками заболевания сопоставимы с данными литературы в России и мире [6, 8, 11, 17] и констатировать отсутствие значимых изменений и новых закономерностей за последние 8 лет.

При анализе выживаемости радикально оперированных больных с НМРЛ показано, что показатели также оказались близкими к выявленным ранее в других исследованиях [15, 17]. Установлены различия в выживаемости больных НМРЛ в зависимости от стадии заболевания, статуса курения и гистологического типа опухоли. Конкретно, по показателю продолжительности общей выживаемости прогноз более благоприятный при меньшей распространённости заболевания, у некурящих пациентов по сравнению с курильщиками и при аденокарциноме по сравнению с плоскоклеточным НМРЛ.

Интерес вызывают данные о гетерогенности группы больных, переживших 5 лет после хирургического лечения, которая включала не только пациентов с начальной I стадией болезни, но и с распространённой — II и даже III стадией заболевания. Это важное наблюдение подчёркивает необходимость не только клинического, но и молекулярного прогнозирования агрессивности течения болезни. Более того, считаем, что опухоли «долгожителей», переживших по крайней мере 5 лет после хирургического вмешательства, должны быть «объектом» наиболее тщательного многопараметрического молекулярного фенотипирования, в том числе с привлечением полногеномного секвенирования.

И наконец, важным представляется выявленное в настоящем исследовании отсутствие гендерных различий в общей выживаемости больных с НМРЛ. Как упоминалось выше, это наблюдение отличается от описанных в литературе данных о том, что больные женского пола с диагнозом НМРЛ характеризуются лучшими показателями выживаемости по сравнению с мужчинами [25]. Дать однозначную трактовку этому факту на данном этапе трудно. Возможно, это отражает некую особенность случайной выборки больных, включённых в настоящее исследование. Но, с другой стороны, этот неожиданный результат может быть указанием, что в российской популяции в «игру» вступили какие-то пока неизвестные факторы, которые могут или способствовать улучшению течения болезни у мужчин, или неблагоприятно влиять на заболевание у женщин. Надеемся, что первое предположение более реалистично. В любом случае, это и может являться причиной почти идентичности общей выживаемости больных НМРЛ мужского и женского пола, продемонстрированной в настоящем исследовании.

Исследование выполнено в рамках темы НИР: «Разработка и оценка клинической значимости новой технологии молекулярного прогнозирования резистентности и агрессивности сблдных эпителиальных новообразований» (Пер. № АААА-А20-120020500021-1).

Т. А. Богуш, Е. А. Рукавишников — авторы внесли равный вклад в опубликованную статью.

T. A. Bogush, E. A. Rukavishnikova — contributed equally to this work.

Литература/References

- World Health Organization [Internet]. Cancer fact sheets, lung cancer. 2020 [cited 2021 Jan 11]. Available from: <http://gco.iarc.fr/today/fact-sheets-cancers>.
- Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel R.L., Torre L.A., Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2018; 68 (6): 394–424. doi:10.3322/caac.21492
- Alberg A.J., Brock M.V., Ford J.G., Samet J.M., Spiwack S.D. Epidemiology of lung cancer: Diagnosis and management of lung cancer, 3rd ed: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines. *Chest*. 2013; 143 (5 Suppl): e1S–e29S. doi:10.1378/chest.12-2345
- Thun M., Peto R., Boreham J., Lopez A.D. Stages of the cigarette epidemic on entering its second century. *Tob Control*. 2012; 21 (2): 96–101. doi:10.1136/tobaccocontrol-2011-050294
- Lortet-Tieulent J., Renteria E., Sharp L., Weiderpass E., Comber H., Baas P., Bray F., Coebergh J.W., Soerjomataram I. Convergence of decreasing male and increasing female incidence rates in major tobacco-related cancers in Europe in 1988–2010. *Eur J Cancer*. 2015; 51 (9): 1144–1163. doi:10.1016/j.ejca.2013.10.014
- Bade B.C., Dela Cruz C.S. Lung Cancer 2020: Epidemiology, Etiology, and Prevention. *Clin Chest Med*. 2020; 41 (1): 1–24. doi:10.1016/j.ccm.2019.10.001
- Carioli G., Malvezzi M., Bertuccio P., Levi F., Boffetta P., Negri E., La Vecchia C. Cancer mortality and predictions for 2018 in selected Australasian countries and Russia. *Ann Oncol*. 2019; 30 (1): 132–142. doi:10.1093/annonc/ndy489
- Мукерия А.Ф., Заридзе Д.Г. Эпидемиология и профилактика рака лёгкого. Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. 2010; 21: 3: 3–13. [Mukeria A.F., Zaridze D.G. Lung cancer epidemiology and prevention. *Vestnik RONTs im. NN Blokhina RAMN*. 2010; 21 (3): 3–13. (in Russian)]
- Сахарова Г.М., Антонов Н.С., Салагай О.О. Глобальный опрос взрослого населения о потреблении табака в Российской Федерации: GATS 2009 и GATS 2016. Наркология. 2017; 16: 7: 8–12. [Sakharova G.M., Antonov N.S., Salagay O.O. Global survey of the adult population on tobacco consumption in the Russian Federation: GATS 2009 and GATS 2016. *Narkologiya*. 2017; 16 (7): 8–12. (in Russian)]
- Zheng M. Classification and Pathology of Lung Cancer. *Surg Oncol Clin N Am*. 2016; 25 (3): 447–468. doi:10.1016/j.soc.2016.02.003
- Duma N., Santana-Davila R., Molina J.R. Non-Small Cell Lung Cancer: Epidemiology, Screening, Diagnosis, and Treatment. *Mayo Clin Proc*. 2019; 94 (8): 1623–1640. doi:10.1016/j.mayocp.2019.01.013
- Tandberg D.J., Tong B.C., Ackerson B.G., Kelsey C.R. Surgery versus stereotactic body radiation therapy for stage I non-small cell lung cancer: A comprehensive review. *Cancer*. 2018; 124 (4): 667–678. doi:10.1002/cnrc.31196
- Herbst R.S., Morgensztern D., Boshoff C. The biology and management of non-small cell lung cancer. *Nature*. 2018; 553 (7689): 446–454. doi:10.1038/nature25183
- Brainard J., Farver C. The diagnosis of non-small cell lung cancer in the molecular era. *Mod Pathol*. 2019; 32 (Suppl 1): 16–26. doi:10.1038/s41379-018-0156-x
- Cheng T.Y., Cramb S.M., Baade P.D., Youlten D.R., Nwogu C., Reid M.E. The international epidemiology of lung cancer: latest trends, disparities,

Информация об авторах

Богуш Татьяна Анатольевна — д. б. н., профессор, руководитель группы молекулярных маркёров опухолей лаборатории экспериментальной диагностики и биотерапии опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия. ORCID: 0000-0002-7673-4284. Researcher ID: A-6522-2013. eLIBRARY SPIN-код: 4050-0061. Scopus Author ID: 7006161773

Рукавишников Екатерина Александровна — студентка факультета фундаментальной медицины МГУ им. М. В. Ломоносова, лаборант-исследователь группы молекулярных маркёров опухолей лаборатории экспериментальной ди-

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

- and tumor characteristics. *J Thorac Oncol*. 2016; 11 (10): 1653–1671. doi:10.1016/j.jtho.2016.05.021
- Трахтенберг А.Х., Колбанов К.И., Седых С.А. Особенности диагностики и лечения рака лёгкого. Пульмонология. 2008; 4: 5–17. [Trakhtenberg A.M., Kolbanov K.I., Sedykh S.A. Character features of diagnosis and treatment of lung carcinoma. *Pul'monologiya* 2008; (4): 5–17. (in Russian)]
 - Аксель Е.М., Давыдов М.И. Заболеваемость злокачественными новообразованиями населения России и стран СНГ в 2008 г. Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. 2011; 22 (3s): 54–92. [Aksel' E.M., Davydov M.I. Zabolevaemost' zlokachestvennymi novoobrazovaniyami naseleniya Rossii i stran SNG v 2008 g. *Vestnik RONTs im. NN Blokhina RAMN* 2011; 22 (3s): 54–92. (in Russian)]
 - Колбанов К.И., Трахтенберг А.Х., Пикин О.В., Рябов А.Б., Глушко В.А. Хирургическое лечение больных резектабельным немелкоклеточным раком лёгкого. Исследования и практика в медицине. 2014; 1: 1: 16–23. [Kolbanov K.I., Trakhtenberg A.Kh., Pikin O.V., Glushko V.A., Ryabov A.B. Surgical treatment of patients with resectable non-small cell lung cancer. *Research'n Practical Medicine Journal* 2014; 1 (1): 16–23. (in Russian)]
 - Лактионов К.К., Давыдов М.И., Полоцкий Б.Е., Зборовская И.Б., Богатырев В.Н., Никуличев Л.А., Степанова Е.В., Аллахвердиев А.К., Ардзинба М.С. Прогностические и предсказывающие факторы у больных немелкоклеточным раком лёгкого. Практическая онкология. 2006; 7: 3: 145–153. [Laktionov K.K., Davydov M.I., Polotskii B.E., Zborovskaya I.B., Bogatyrev V.N., Nikulichev L.A., Stepanova E.V., Allahverdiev A.K., Ardzinba M.S. Prognosticheskie i predskazyvayushchie faktory u bol'nykh nemelkokletochnym rakom legkogo. *Prakticheskaya onkologiya*. 2006; 7 (3): 145–153. (in Russian)]
 - Rami-Porta R., Bolejack V., Crowley J., Ball D., Kim J., Lyons G., Rice T., Suzuki K., Thomas C.F. Jr., Travis W.D., Wu Y.L.; IASLC Staging and Prognostic Factors Committee, Advisory Boards and Participating Institutions. The IASLC lung cancer staging project: proposals for the revisions of the t descriptors in the forthcoming eighth edition of the tnm classification for lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2015; 10 (7): 990–1003. doi:10.1097/JTO.0000000000000559
 - Avci N., Hayar M., Altmisdortoglu O., Tanriverdi O., Deligonul A., Ordu C., Evrensel T. Smoking habits are an independent prognostic factor in patients with lung cancer. *Clin Respir J*. 2017; 11 (5): 579–584. doi:10.1111/crj.12386
 - Lee S.J., Lee J., Park Y.S., Lee C.H., Lee S.M., Yim J.J., Yoo C.G., Han S.K., Kim Y.W. Impact of smoking on mortality of patients with non-small cell lung cancer. *Thorac Cancer*. 2014; 5 (1): 43–49. doi:10.1111/1759-7714.12051
 - Maeda R., Yoshida J., Ishii G., Hishida T., Nishimura M., Nagai K. The prognostic impact of cigarette smoking on patients with non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2011; 6 (4): 735–742. doi:10.1097/JTO.0b013e318208e963
 - Hirsch F.R., Spreafico A., Novello S., Wood M.D., Simms L., Papotti M. The prognostic and predictive role of histology in advanced non-small cell lung cancer: a literature review. *J Thorac Oncol*. 2008; 3 (12): 1468–1481. doi:10.1097/JTO.0b013e318189f551
 - Yoshida Y., Murayama T., Sato Y., Suzuki Y., Saito H., Nomura Y. Gender differences in long-term survival after surgery for non-small cell lung cancer. *Thorac Cardiovasc Surg*. 2016; 64 (6): 507–514. doi:10.1055/s-0035-1558995

About the authors

Tatyana A. Bogush — D.Sc. in biology, Professor, N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. ORCID: 0000-0002-7673-4284. Researcher ID: A-6522-2013. eLIBRARY SPIN: 4050-0061. Scopus Author ID: 7006161773.

Ekaterina A. Rukavishnikova — student at Lomonosov Moscow State University, research laboratory assistant at N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow,

агностики и биотерапии опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия. ORCID: 0000-0002-6732-0899. Researcher ID: AAB-1628-2021

Башарина Анна Александровна — научный сотрудник группы молекулярных маркеров опухолей лаборатории экспериментальной диагностики и биотерапии опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия. ORCID: 0000-0002-4739-7733. Researcher ID: A-6571-2019. eLIBRARY SPIN-код: 7472-6530. Scopus Author ID: 57194059873

Богуш Елена Александровна — к. м. н., ассистент кафедры онкологии Института клинической медицины им. Н. В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия. ORCID: 0000-0001-5601-3669. Researcher ID: S-1415-2019. Scopus Author ID: 6602587330

Кирсанов Владислав Юрьевич — к. м. н., доцент кафедры онкологии Института клинической медицины им. Н. В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия. ORCID: 0000-0003-1034-4432

Коломийцев Сергей Дмитриевич — научный сотрудник группы молекулярных маркеров опухолей лаборатории экспериментальной диагностики и биотерапии опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия. ORCID: 0000-0003-2167-5114. Researcher ID: R-9087-2019. eLIBRARY SPIN-код: 4575-3313

Равчиева Анна Борисовна — к. б. н., младший научный сотрудник группы молекулярных маркеров лаборатории экспериментальной диагностики и биотерапии опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия. ORCID: 0000-0001-5969-0219. Researcher ID: R-9724-2019. Scopus Author ID: 7801332514

Вихлянцева Надежда Олеговна — младший научный сотрудник группы молекулярных маркеров лаборатории экспериментальной диагностики и биотерапии опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия. ORCID: 0000-0002-1372-2980. Researcher ID: S-1111-2019. Scopus Author ID: 6504200920

Косоруков Вячеслав Станиславович — к. б. н., заведующий лабораторией трансгенных препаратов ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия. ORCID: 0000-0002-8462-2178. Researcher ID: A-3901-2014. eLIBRARY SPIN-код: 3656-4029. Scopus Author ID: 6505962801

Russia. ORCID: 0000-0002-6732-0899. Researcher ID: AAB-1628-2021.

Anna A. Basharina — researcher at the N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. ORCID: 0000-0002-4739-7733. Researcher ID: A-6571-2019. eLIBRARY SPIN: 7472-6530. Scopus Author ID: 57194059873.

Elena A. Bogush — Ph.D. in medicine, I. M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. ORCID: 0000-0001-5601-3669. Researcher ID: S-1415-2019. Scopus Author ID: 6602587330.

Vladislav Yu. Kirsanov — Ph.D. in medicine, I. M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. ORCID: 0000-0003-1034-4432.

Sergey D. Kolomytsev — N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. ORCID: 0000-0003-2167-5114. Researcher ID: R-9087-2019. eLIBRARY SPIN: 4575-3313.

Anna B. Ravcheeva — Ph. D. in biology, N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. ORCID: 0000-0001-5969-0219. Researcher ID: R-9724-2019. Scopus Author ID: 7801332514.

Nadezhda O. Vikhlyantseva — N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. ORCID: 0000-0002-1372-2980. Researcher ID: S-1111-2019. Scopus Author ID: 6504200920.

Vyacheslav S. Kosorukov — Ph. D. in biology, N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. ORCID: 0000-0002-8462-2178. Researcher ID: A-3901-2014. eLIBRARY SPIN: 3656-4029. Scopus Author ID: 6505962801.

Барицитиниб в лечении пациентов с COVID-19: обзор международных данных и анализ результатов опыта клинического применения в российской популяции

*А. И. ЗАГРЕБНЕВА^{1,2}, Е.А. БАРЯХ¹, Е. И. ЖЕЛНОВА¹, Н.Г. ПОТЕШКИНА^{1,2}, И. П. БЕЛОГЛАЗОВА¹, З. Ю. МУТОВИНА^{1,3}, И. В. САМСОНОВА¹, Е. А. КОВАЛЕВСКАЯ¹, В. В. ПАРШИН¹, В. В. ПШЕНИЧНИКОВА¹, Д. С. ФОМИНА^{1,2}, Т. С. КРУГЛОВА¹, М. А. ЛЫСЕНКО^{1,2}, М. А. ДРАНИЦЫНА⁴

¹ ГБУЗ «Городская клиническая больница № 52» ДЗМ, Москва, Россия

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

³ ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента Российской Федерации, Москва, Россия

⁴ ООО «Центр научного консультирования», Москва, Россия

Baricitinib in the Treatment of Patients with COVID-19: A Review of International Data and Analysis of Clinical Results in the Russian Population

*ALENA I. ZAGREBNEVA^{1,2}, ELENA A. BARYAKH¹, EVGENIA I. ZHELNOVA¹, NATALIA G. POTESHKINA^{1,2}, IRINA P. BELOGLAZOVA¹, ZINAIDA YU. MUTOVINA^{1,3}, INNA V. SAMSONOVA¹, ELENA A. KOVALEVSKAYA¹, VASILY V. PARSHIN¹, VERA V. PSHENICHNIKOVA¹, DARIA S. FOMINA^{1,2}, TATYANA S. KRUGLOVA¹, MARYANA A. LYSSENKO^{1,2}, MARGARITA A. DRANITSYNA⁴

¹ City Clinical Hospital No. 52, Moscow, Russia

² Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

³ Central State Medical Academy, Moscow, Russia

⁴ Center of Scientific Advice LLC, Moscow, Russia

Резюме

Эффекты барицитиниба, селективного обратимого ингибитора Янус-киназы 1 и 2, в лечении COVID-19 связаны с разными аспектами патогенеза — препятствование вирусному эндоцитозу, снижение чрезмерного воспалительного ответа и ограничение сосудистого и лёгочного повреждения, что является веским обоснованием использования барицитиниба для лечения пациентов с COVID-19. В период с апреля по май 2020 года в ГБУЗ «ГКБ № 52 ДЗМ» был получен опыт клинического применения барицитиниба в терапии 113 пациентов с COVID-19: 58 (51%) женщин и 55 (49%) мужчин, средний возраст которых составлял 57±12,6 лет. Анализ результатов опыта применения барицитиниба показал, что терапия барицитинибом на фоне стандартной патогенетической терапии была признана эффективной у 95 (84%) субъектов и неэффективной — у 18 (16%). Были показаны значимые положительные изменения по сравнению с исходным уровнем следующих показателей: температура тела (с 37,2±0,8°С до 36±0,68°С, $p=0,000$), насыщение крови кислородом (с 95,5±3,0% до 96,5±2,2%, $p=0,011$), С-реактивный белок (с 46,1±48,0 мг/л до 33,5±43,7 мг/л, $p=0,010$), баллы по Национальной шкале раннего предупреждения (National Early Warning Score, NEWS) (с 1,7±1,3 до 1,1±1,2, $p=0,001$). С точки зрения безопасности у пациентов отмечалось небольшое снижение среднего значения числа нейтрофилов — с $(3,1±1,4) \times 10^9$ до $(3,0±2,0) \times 10^9$ и лимфоцитов — с $(1,8±0,9) \times 10^9$ до $(1,7±0,9) \times 10^9$, а также минимальные разнонаправленные изменения средних значений активности трансаминаз: аланинаминотрансфераза изменялась с 33,9±23,6 Ед/л до 34,9±47,5 Ед/л, аспартатаминотрансфераза — с 40,6±49,0 Ед/л до 38,5±25,5 Ед/л. В целом результаты, полученные в рамках опыта клинического применения барицитиниба у 113 российских пациентов с COVID-19, согласуются с доступными данными зарубежных клинических исследований и подтверждают эффективность и безопасность барицитиниба.

Ключевые слова: COVID-19, пневмония, терапия, барицитиниб.

Для цитирования: Загребнева А. И., Барях Е.А., Желнова Е. И., Потешкина Н.Г., Белоглазова И. П., Мутовина З. Ю., Самсонова И. В., Ковалевская Е. А., Паршин В. В., Пшеничникова В. В., Фомина Д. С., Круглова Т. С., Лысенко М. А., Драницына М. А. Барицитиниб в лечении пациентов с COVID-19: обзор международных данных и анализ результатов

Abstract

The effects of baricitinib, a selective reversible inhibitor of Janus kinase 1 and 2, in the treatment of COVID-19 are associated with different aspects of pathogenesis — inhibition of viral endocytosis, reduction of excessive inflammatory response, and mitigation of vascular and pulmonary damage, which is a strong rationale for using baricitinib to treat patients with COVID-19. In the period from April to May 2020, City Clinical Hospital No. 52 obtained clinical experience of baricitinib clinical use in the therapy of 113 patients with COVID-19: 58 (51%) women and 55 (49%) men, whose average age was 57 ± 12.6 years old. Analysis of the results of using baricitinib showed that therapy with baricitinib against the background of standard pathogenetic therapy was found to be effective in 95 (84%) patients and ineffective in 18 (16%). Significant positive changes were shown in comparison with the baseline level of the following indicators: body temperature (from $37.2 \pm 0.8^\circ\text{C}$ to $36, \pm 0.68^\circ\text{C}$, $P=0.000$), blood oxygen saturation (from $95.5 \pm 3.0\%$ to $96.5 \pm 2.2\%$, $P=0.011$), C-reactive protein (from 46.1 ± 48.0 mg/L to 33.5 ± 43.7 mg/L, $P=0.010$), National Early Warning Score (NEWS) (from 1.7 ± 1.3 to 1.1 ± 1.2 , $p=0.001$). From the safety point of view, patients showed a slight decrease in the average value of the number of neutrophils — from $(3.1 \pm 1.4) \times 10^9$ to $(3.0 \pm 2.0) \times 10^9$ and lymphocytes — from $(1.8 \pm 0.9) \times 10^9$ to $(1.7 \pm 0.9) \times 10^9$, as well as minimal multidirectional changes in the mean values of transaminase activity — alanine aminotransferase changed from 33.9 ± 23.6 U/L to 34.9 ± 47.5 U/L, aspartate aminotransferase — from 40.6 ± 49.0 U/L to 38.5 ± 25.5 U/L. In general, the results obtained within the experience of the clinical use of baricitinib in 113 Russian patients with COVID-19 are consistent with the available data from foreign clinical studies and confirm the efficacy and safety of baricitinib.

Keywords: COVID-19, pneumonia, therapy, baricitinib.

For citation: Zagrebneva A. I., Baryakh E. A., Zhelnova E. I., Poteschkina N. G., Beloglazova I. P., Mutovina Z. Yu., Samsonova I. V., Kovalevskaya E. A., Parshin V. V., Pshenichnikova V. V., Fomina D. S., Kruglova T. S., Lysenko M. A., Dranitsyna M. A. Baricitinib in the Treatment of Patients with COVID-19: A Review of International Data and Analysis of Clinical Results in the Russian Population. *Antibiotiki i khimioterapiya*. 2021; 66: 1–2: 47–56. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-1-2-47-56.

Введение

Первое сообщение о вирусном заболевании COVID-19 (от COronaVIrus Disease 19) поступило из китайского города Ухань в декабре 2019 г. Вирус SARS-CoV-2 (Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2) принадлежит семейству *Coronaviridae* и является оболочечным вирусом, генетический материал которого представлен цепью (+)РНК. Вирус SARS-CoV-2 быстро распространился по всему миру и в конце марта 2020 г. Всемирная организация здравоохранения объявила пандемию COVID-19 [1].

Передача вируса от человека к человеку может происходить воздушно-капельным и, возможно, фекально-оральным путями [2–4]. Большинство людей, инфицированных SARS-CoV-2, переносят заболевание бессимптомно или в лёгкой форме [5], однако примерно у 20% пациентов заболевание характеризуется тяжёлым или крайне тяжёлым течением с нарушениями дыхания вплоть до развития дыхательной недостаточности, а также с гипоксией, поражением >50% лёгких в течение 24–48 ч, развитием полиорганной недостаточности или шока [6].

Заболевание, вызванное SARS-CoV-2, характеризуется очень сложным патогенезом. Мишенями вируса являются эпителиальные клетки респираторного тракта, воздействие на которые приводит к диффузному повреждению альвеол и тяжёлому поражению лёгких [7]. Проникновение в восприимчивые клетки посредством связывания с рецептором (ангиотензинпревращающий фермент 2 человека — АПФ2) является первым этапом патогенеза [8]. Второй этап патогенеза характеризуется поражением лёгких, сборкой новых вирусных частиц и локализованным воспалением в лёг-

ких [9]. Через 7–8 сут после возникновения симптомов у части пациентов может начаться цитокиновый шторм, характеризующийся выраженным и неконтролируемым высвобождением провоспалительных цитокинов, что может привести к развитию вирусного сепсиса и воспалительного повреждения лёгочной ткани и, как следствие, пневмонии, острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС), дыхательной недостаточности, а также шока, полиорганной недостаточности и смерти. Синдром внелёгочного системного гипервоспаления, дыхательная недостаточность, шок, сердечно-лёгочная недостаточность определяют третью стадию патогенеза COVID-19 [5, 9].

Ключевую роль в реакции на инфекцию SARS-CoV-2 могут играть как врождённый, так и приобретённый иммунный ответ [9]. Активная репликация вируса способствует образованию интерферона I типа (ИФН) и привлечению нейтрофилов и макрофагов, являющихся основным источником провоспалительных цитокинов, а также к активации и дисрегуляции Т-клеток [10, 11]. У пациентов с тяжёлым течением более выражены: увеличение общего числа нейтрофилов, лимфопения, селективное снижение числа CD4+ Т-клеток, CD8+ Т-клеток и NK-клеток, чрезмерная активация Т-клеток (определяемая по CD38+ и HLA-DR+) и высокая экспрессия молекул, ингибирующих Т-клетки (например, PD-1). Повышаются уровни провоспалительных цитокинов и хемокинов, которые могут приводить к активации Т-хелперов 1, при этом у таких пациентов наблюдается повышение противовоспалительных интерлейкинов — ИЛ-4 и ИЛ-10 [12]. Некоторые цитокины могут влиять на тяжесть течения COVID-19: у пациентов с ОРДС повышенный уро-

вень ИЛ-6, ИЛ-17 ассоциирован с высокой вирусной нагрузкой и тяжестью заболевания [13–15]. ИЛ-17 приводит к активации цитокиновых и хемокиновых каскадов — ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-21, фактор некроза опухоли- β и моноцитарный хемоатрактантный белок-1 (MCP-1) [9, 16].

Барицитиниб как терапевтическая опция

Механизм действия. Барицитиниб является селективным и обратимым ингибитором Янус-киназы 1 и 2 (JAK1 и JAK2). JAK представляют собой ферменты, которые трансдуцируют внутриклеточные сигналы от клеточных рецепторов ряда цитокинов и факторов роста, участвующих в процессах гемопоэза, воспаления и иммунного ответа. В рамках внутриклеточного сигнального пути Янус-киназы фосфорилируют и активируют STAT (signal transducers and activators of transcription — транспортёры сигнала и активаторы транскрипции), которые в свою очередь активируют экспрессию гена в клетке. Барицитиниб модулирует эти сигнальные каскады реакций, частично ингибируя ферментативную активность JAK1 и JAK2, тем самым уменьшая фосфорилирование и активацию STAT [17]. Согласно актуальной версии инструкции по медицинскому применению препарата Олумиант, таблетки, покрытые плёночной оболочкой, (редакция от 24.11.2020), барицитиниб предназначен для лечения активного ревматоидного артрита умеренной или тяжёлой степени у взрослых пациентов с непереносимостью или отсутствием адекватного ответа на лечение одним или несколькими базисными противоревматическими препаратами в виде монотерапии или в комбинации с метотрексатом [17].

С использованием алгоритмов искусственного интеллекта была выдвинута гипотеза о пользе барицитиниба у пациентов с COVID-19. Предполагается, что механизм действия барицитиниба при COVID-19 связан с ингибированием двух представителей семейства киназ: AP2-ассоциированная протеинкиназа 1 (AAK1) и циклин G-ассоциированная киназа (GAK). Так, AAK1 является основным регулятором клатрин-опосредованного эндоцитоза, вовлечённого в процесс проникновения вируса в лёгкие, таким образом, барицитиниб может препятствовать вирусному эндоцитозу в клетки лёгких [18, 19]. Было показано, что барицитиниб ингибирует активированную ИЛ-6 выработку MCP-1 в мононуклеарах периферической крови [20].

Имеются данные о том, что опосредованная ИФН активация пути JAK/STAT необходима для индукции многих ИФН-регулируемых генов, играющих ключевую роль во врождённом раннем иммунитете к вирусным инфекциям. Поэтому ингибирование сигналинга JAK/STAT потенциально может привести к нарушению ИФН звена противовирусного ответа и усилению тяжести течения

инфекции SARS-CoV-2. Тем не менее, эффекты барицитиниба связаны с разными аспектами патогенеза COVID-19 — препятствование вирусному эндоцитозу, снижение чрезмерного воспалительного ответа и ограничение сосудистого и лёгочного повреждения, что является веским обоснованием использования барицитиниба для лечения пациентов с COVID-19, однако требуются дополнительные сведения для оценки соотношения положительных и отрицательных аспектов ингибирования сигналинга JAK/STAT (16).

Нежелательные явления и нежелательные реакции барицитиниба. В клинических исследованиях были выявлены следующие потенциальные нежелательные реакции: нейтропения и анемия (потенциально могут ухудшить исход в тяжёлых случаях COVID-19), повышение активности креатинкиназы (чаще у пациентов в отделении интенсивной терапии и у тяжелобольных). В некоторых исследованиях сообщается о повышении частоты инфекций дыхательных путей и других локализаций. Отмечается повышенный риск активации латентных инфекций, таких как туберкулёз, гепатит В, ветряная оспа, простой герпес и инфекционный мононуклеоз [17, 21, 22]. Также опасения в отношении применения барицитиниба у пациентов с COVID-19 связаны с повышением риска вторичных инфекций, ингибированием только отдельных звеньев патогенеза инфекции SARS-CoV-2, но не всего каскада воспалительных реакций [23].

Краткий обзор клинических исследований барицитиниба при COVID-19. К настоящему времени доступны результаты нескольких небольших исследований эффективности применения барицитиниба у пациентов с COVID-19. Далее кратко описаны результаты двух исследований добавления барицитиниба к стандартной на момент исследования схеме лечения пневмонии COVID-19 лёгкой и умеренной степени тяжести.

В пилотном открытом нерандомизированном исследовании, проведённом в Италии на 12 взрослых пациентах (2 (17%) женщины и 10 (83%) мужчин, медианный возраст составлял 63,5 (межквартильный размах (МКР) — 57,7–72,2)) с COVID-19 пневмонией лёгкой и умеренной степени тяжести, оценивали безопасность и клинические эффекты терапии барицитинибом в дополнение к лопинавиру и ритонавиру. Пациенты, последовательно госпитализированные в период 16–30 марта, в течение 2 нед. получали комбинацию барицитиниба, таблетки, покрытые плёночной оболочкой, в дозе 4 мг/сут и ритонавир/лопинавир. Дополнительно, пациенты, последовательно госпитализированные до даты первого введения барицитиниба и получавшие стандартную терапию (лопинавир/ритонавир, таблетки, в дозе 250 мг 2 раза в сутки и гидроксихлорохин в дозе 400 мг/сут

в течение 2 нед.), образовали контрольную группу. В этом исследовании барицитиниб хорошо переносился, серьёзных нежелательных явлений (НЯ) не наблюдалось. У 1 пациента через 10 сут лечения терапия была прекращена по причине повышения активности трансаминаз (АСТ — 267 Ед/л; АЛТ — 298 Ед/л), что вероятно было связано с противовирусной терапией. В целом в группе введения барицитиниба наблюдалось значимое улучшение клинических характеристик и показателей дыхательной функции по сравнению с исходным уровнем. Наблюдалось значимое снижение С-реактивного белка (СРБ). В контрольной группе на 2-й неделе не было зарегистрировано значимых изменений по сравнению с исходным уровнем. Значимые улучшения по сравнению с контрольной группой наблюдались в отношении следующих показателей: лихорадка ($p=0,000$), насыщение крови кислородом SpO_2 ($p=0,000$), индекс оксигенации PaO_2/FiO_2 ($p=0,017$), СРБ ($p=0,023$) и баллы по Национальной шкале раннего предупреждения (National Early Warning Score, NEWS) ($p=0,016$). Перевод в отделение интенсивной терапии потребовался 33% (4/12) пациентам контрольной группы и не потребовался пациентам из группы барицитиниба ($p=0,093$). На 2-й неделе были выписаны 58% (7/12) пациентов из группы барицитиниба, и 8% (1/12) из контрольной группы ($p=0,027$). В момент выписки у 57% (4/7) пациентов, которым вводили барицитиниб, мазки из носовой и ротовой полостей были отрицательными [24].

В другом наблюдательном ретроспективном многоцентровом исследовании, проведённом в Италии на 113 взрослых пациентах (40 (35,4%) женщин и 73 (64,6%) мужчин, медианный возраст составлял 68 (межквартильный размах (МКР) — 57–76)) с COVID-19-пневмонией умеренной степени тяжести, оценивали безопасность и эффективность барицитиниба в дополнение к лопинавиру и ритонавиру. В группу введения барицитиниба в дозе 4 мг/сут и ритонавира/лопинавира в дозе 250 мг 2 раза в сутки в течение 2 нед. включали пациентов, последовательно госпитализированных в период 15 марта — 5 мая. Дополнительно в контрольную группу включили 78 пациентов, последовательно госпитализированных в период 20 февраля — 15 марта и получавших лопинавир/ритонавир и гидроксихлорохин. В группе введения барицитиниба было зарегистрировано 7 НЯ, не потребовавших прекращения терапии, включая повышение активности трансаминаз у 4 (3,5%) пациентов, носовое кровотечение вследствие передозировки гепарина у 1 пациента, инфекцию мочевыводящих путей у 1 пациента, кандидоз полости рта у 1 пациента. В группе введения барицитиниба наблюдалось значимое улучшение, по сравнению с исходным уровнем, всех клинических, лабораторных параметров и показателей ды-

хательной функции, за исключением агевзии/аносмии. Так, в течение терапии отмечались значимые изменения по сравнению с исходным уровнем в отношении насыщения крови кислородом SpO_2 ($p=0,0018$ на 2-й неделе), индекса оксигенации PaO_2/FiO_2 ($p=-0,0016$ и $p<0,0001$ на 1-й и 2-й неделе, соответственно), СРБ ($p=-0,003$ и $p<0,0001$ на 1-й и 2-й неделе, соответственно) и ИЛ-6 ($p=-0,001$ и $p<0,0001$ на 1-й и 2-й неделе, соответственно). Значимые улучшения по сравнению с контрольной группой наблюдались в отношении следующих показателей: насыщение крови кислородом SpO_2 ($p=-0,0001$ и $p<0,0001$ на 1-й и 2-й неделе, соответственно), индекс оксигенации PaO_2/FiO_2 ($p=-0,001$ и $p<0,0001$ на 1-й и 2-й неделе, соответственно), СРБ ($p=0,023$) и ИЛ-6 ($p=0,016$). 2-недельная летальность была значимо ниже в группе введения барицитиниба по сравнению с контрольной группой: 0% (0/113) против 6,4% (5/78) ($p=0,010$; 95% ДИ 0,0000–0,4569)]. Перевод в отделение интенсивной терапии потребовался 17,9% (14/78) пациентам контрольной группы и 0,88% (1/113) пациентам из группы барицитиниба ($p<0,0001$; 95% ДИ 0,0038–0,2624). Пациентов из группы введения барицитиниба чаще выписывали: 77,8% (88/113) пациентов в группе барицитиниба и 12,8% (10/78) в контрольной группе ($p<0,0001$; 95% ДИ 10,79–51,74) на 2-й неделе. В момент выписки доли пациентов с положительными мазками составляли 12,5% (11/88) в группе введения барицитиниба и 40% (4/10) в контрольной группе ($p=0,043$; 95% ДИ 0,06044–0,7737) [25].

Таким образом, в этих двух исследованиях барицитиниб проявлял эффективность и безопасность при применении у пациентов с COVID-19-пневмонией лёгкой и умеренной степени тяжести, однако эти данные могут расцениваться как поисковые, а не опорные, что связано с ограничениями этих исследований. Ограничения, в частности, обусловлены открытым нерандомизированным дизайном, выбранным контролем и в целом малым масштабом этих исследований.

С учётом предварительных клинических результатов, предполагающих положительное влияние барицитиниба на течение пневмонии COVID-19, в настоящее время проводятся масштабные клинические исследования, по результатам которых, как ожидается, можно будет сделать обоснованные выводы о пользе и рисках применения барицитиниба в составе комплексной терапии пациентов с COVID-19 различной степени тяжести.

Согласно сведениям реестра клинических исследований Национальных институтов здоровья США <https://clinicaltrials.gov/> в настоящее время (доступ 19.12.2020) проводится несколько масштабных исследований применения барицитиниба у пациентов с COVID-19. Основные характеристики этих исследований резюмированы в табл. 1.

Таблица 1. Характеристики исследований по применению барицитиниба у пациентов с COVID-19
 Table 1. Characteristics of studies on bicitinib use in patients with COVID-19

Номер по порядку	Номер NCT	Название	Заболевание	Вмешательство	Фаза	Масштаб	Дизайн исследования
1	NCT04340232	Безопасность и эффективность Барицитиниба при COVID-19	COVID-19	Барицитиниб	Фаза 2/3	80	Открытое исследование в одной группе
2	NCT04421027 ¹	Исследование Барицитиниба (LU3009104) у субъектов с COVID-19	COVID-19	Барицитиниб Плацебо	Фаза 3	1400	Рандомизированное двойное слепое исследование в параллельных группах
3	NCT04373044	Барицитиниб, плацебо и противовирусная терапия для лечения пациентов с умеренным и тяжёлым течением COVID-19	COVID-19 с симптомами и лабораторным подтверждением	Барицитиниб Гидрохлорохин Плацебо	Фаза 2	144	Рандомизированное двойное слепое исследование в параллельных группах
4	NCT04362943	Клинико-эпидемиологическая характеристика COVID-19 среди госпитализированных взрослых пациентов	COVID-19	Барицитиниб Анакинра		576	Ретроспективное исследование
5	NCT04358614	Лечение COVID-19 барицитинибом	COVID Пневмония	Барицитиниб	Фаза 2/3	12	Нерандомизированное перекрестное открытое исследование
6	NCT04346147	Клиническое исследование эффективности 3 типов лечения пациентов с пневмонией COVID-19	Пневмония COVID-19	Иматиниб Барицитиниб Поддерживающая терапия	Фаза 2	165	Рандомизированное открытое исследование в параллельных группах
7	NCT04393051	Барицитиниб в сравнении со стандартной терапией у пациентов с COVID-19	COVID-19 SARS-CoV 2 SARS-пневмония	Барицитиниб	Фаза 2	126	Рандомизированное открытое исследование в параллельных группах
8	NCT04401579	Адаптивное исследование терапии COVID-19 2 (ACTT-2)	COVID-19	Плацебо Ремдесивир Барицитиниб	Фаза 3	1034	Рандомизированное двойное слепое исследование в параллельных группах
9	NCT04640168	Адаптивное исследование терапии COVID-19 4 (ACTT-4)	COVID-19	Барицитиниб Дексаметазон Плацебо Ремдесивир	Фаза 3	1500	Рандомизированное двойное слепое исследование в параллельных группах
10	NCT04321993	Лечение госпитализированных пациентов с умеренным и тяжёлым течением коронавирусной инфекции (COVID-19)	COVID-19	Барицитиниб	Фаза 2	800	Рандомизированное открытое исследование в параллельных группах
11	NCT04390464	Многогрупповое терапевтическое исследование у пациентов с COVID-19 в условиях до поступления в отделения интенсивной терапии — перенатальные лекарства (TACTIC-R)	COVID19	Раулизумаб Барицитиниб Стандартное лечение	Фаза 4	1167	Рандомизированное открытое исследование в параллельных группах
12	NCT04320277	Барицитиниб у симптоматических пациентов с COVID-19: открытое пилотное исследование	COVID-19	Барицитиниб	Фаза 2/3	200	Нерандомизированное перекрестное открытое исследование

¹ Исследование предполагает включение когорты российских пациентов с COVID-19 из нескольких клинических центров.

Продолжение таблицы 1. Характеристики исследований по применению барицитиниба у пациентов с COVID-19
Table 1. Characteristics of studies on bicitinib use in patients with COVID-19

Номер по порядку	Номер NCT	Название	Заболевание	Вмешательство	Фаза	Масштаб	Дизайн исследования
13	NCT04399798	Барицитиниб для коронавирусной пневмонии (COVID-19): терапевтическое исследование	Коронавирусная инфекция	Барицитиниб	Фаза 2	13	Открытое исследование в одной группе
14	NCT04366206	Факторы, ассоциированные с клиническими исходами у пациентов, госпитализированных с COVID-19 в Groupements hospitaliers de territoires-93 Est	COVID SARS-CoV 2	Гидрохлорохин, азитромицин, лопинавир/ритонавир, тоцилизумаб, барицитиниб, сарилумаб, кортикостероиды и системные антибиотики (список открытый)		143	Наблюдательное когортное исследование
15	NCT04365764	Эффекты вмешательства у пациентов, госпитализированных с тяжёлой пневмонией COVID-19: много-центровое когортное исследование	COVID-19 ОРДС Пневмония	Гидрохлорохин, азитромицин, ремдесивир, барицитиниб, тоцилизумаб, сарилумаб, лопинавир/ритонавир и осельтамивир (список открытый)		400	Наблюдательное исследование случай-контроль

Материал и методы

Описание результатов применения барицитиниба в российской популяции. В период с апреля по май 2020 г. в ГКБ №52 был получен опыт клинического применения барицитиниба в терапии у 113 пациентов COVID-19.

Барицитиниб использовали в лечении пациентов, у которых по результатам компьютерной томографии органов грудной клетки диагностировали поражение лёгочной ткани, соответствующее КТ 1, 2, 3 (согласно федеральным рекомендациям) и обнаружены любые два признака из нижеперечисленных (критерии включения):

- лихорадка >38 °С в течение 5 дней;
- число лейкоцитов <4,0×10⁹/л;
- число лимфоцитов <1,2×10⁹/л;
- концентрация СРБ более 18 мг/л;
- снижение SpO₂<97;
- число тромбоцитов <150×10⁹/л.

К критериям исключения из терапии барицитинибом относили:

- гиперчувствительность к препарату;
- скорость клубочковой фильтрации <30 мл/мин;
- печёночная недостаточность тяжёлой стадии;
- возраст пациента >75 лет;
- активные хронические инфекции, включая вирусные гепатиты;
- онкологические заболевания, в том числе онкогематологические;
- дегенеративные заболевания нервной системы;
- снижение нейтрофилов <1×10⁹/л;
- снижение лимфоцитов <0,7×10⁹/л;
- снижение гемоглобина <8 г/дл;
- тромбоцитопения <50×10⁹/л;
- факторы риска тромбоэмболии лёгочной артерии и тромбоза глубоких вен;
- опоясывающий лишай;
- сопутствующее лечение иммунодепрессантами (азатиоприн, такролимус, циклоспорин, циклофосфамид, микофенолата мофетил);
- беременность, лактация.

Пациентам, соответствующим этим критериям включения при отсутствии критериев исключения, назначали барицитиниб в дозе 4 мг 1–2 раза в сутки в течение 5 дней с продлением курса терапии до 7–10 дней при необходимости. В день первого введения барицитиниба выполнялись следующие процедуры: заполнение симптоматического опросника пациента, протокол оценки тяжести состояния по шкале NEWS, компьютерная томография (КТ) органов грудной клетки, лабораторный контроль. Пациентам также проводили стандартное патогенетическое лечение, включая низкомолекулярные гепарины и по показаниям антибактериальные препараты. В качестве вариантов этиотропной терапии назначали гидрохлорохин 400 мг 2 раза/сут в течение двух дней, а далее по 200 мг 2 раза/сут части пациентов — лопинавир+ритонавир в дозе 400 + 100 мг 2 раза/сут (терапия назначалась согласно Временным методическим рекомендациям «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» Минздрава России в редакции, действующей в период лечения (версии 4–7)). Далее в 1-й, 2-й и 3-й дни терапии барицитинибом выполнялась оценка тяжести состояния по шкале NEWS и проводился ЭКГ-контроль, проводилась сопутствующая терапия. На 4-й и 5-й дни терапии барицитинибом в дополнение к процедурам предыдущих трёх дней (за исключением ЭКГ) заполняли симптоматический опросник пациента, проводили оценку тяжести состояния по шкале NEWS, контрольную КТ органов грудной клетки, лабораторный контроль, а также продолжали сопутствующую терапию в соответствующем объёме.

В результате за период с апреля по май 2020 г. были получены клинические данные от 113 пациентов, среди них 58 женщин (51%) и 55 мужчин (49%), средний возраст пациен-

Таблица 2. Исходные данные пациентов российской популяции. Дополнительно представлены данные из исследования в итальянской популяции

Table 2. Initial data on patients in the Russian population. Additional data from a study in the Italian population

Показатель	Российская популяция				Итальянская популяция исследования [25], субъекты из группы введения барицитиниба	
	среднее	СО	медiana	МКР	медiana	МКР
Число пациентов	113				113	
Число пациентов мужского/женского пола (%)	55/58 (49/51)				73/40 (64.6/35.4)	
Возраст, лет	57	12,6	56	48,50–63,00	68	57–76
День заболевания	7,54	3,3	7,00	5–9	7	5–10
Температура тела, °С	37,2	0,8	36,8	36,6–37,8	37,9	36,7–38,3
Насыщение крови кислородом, %	95,5	3,0	96,0	95,0–98,0	95	92–98
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	5,2	1,7	5,1	4,0–6,3	6,5	4,9–8,3
Нейтрофилы, $\times 10^9/\text{л}$	3,1	1,4	2,8	2,1–4,2	4,7	3,5–6,5
Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	1,8	0,9	1,6	1,1–2,2	0,93	0,7–1,2
Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$	176,0	57,5	167,0	138,0–204,0	213	167–308
АЛТ, Ед/л	33,9	23,6	27,1	19,6–39,4	29	19–49
АСТ, Ед/л	40,6	49,0	31,1	25,3–40,9	34	25–51
Креатинин, мкмоль/л	91,8	24,4	89,3	77,0–99,9	80	62–89
СРБ, мг/л	46,1	48,0	24,3	13,2–62,7	82	41–145
Фибриноген, г/л	6,1	1,4	6,1	5,0–7,2	—	—
NEWS, балл	1,7	1,3	2	1–3	—	—
КТ ОГК	2,13	0,390	2	2–2	—	—

Примечание. СО — стандартное отклонение; МКР — межквартильный размах; ОГК — органы грудной клетки.
Note. СО — standard deviation; МКР — interquartile range; ОГК — thoracic organs.

тов составлял $57 \pm 12,6$ лет. По отношению к началу терапии барицитинибом пациенты были госпитализированы за 0 дней — 21 пациент (18,6%), 1 день — 58 (51,3%), 2 дня — 21 (18,6%), 3 и более дней — 13 (11,5%). По дню болезни на момент начала терапии барицитинибом включённые пациенты распределялись следующим образом: до 5 дней включительно 34 (30%) пациента, на 6–7 день — 29 (26%), на 8–9 день — 25 (22%), на ≥ 10 -й день болезни — 25 (22%).

Терапия признавалась эффективной по совокупности изменений клинических, лабораторных признаков и результатов КТ. Клиническое улучшение предполагало снижение счёта по шкале NEWS на 2–3 день терапии, нормализацию температуры тела на 3–5 сут, восстановление SpO_2 на 2–3 день для пациентов с поражением до 50% лёгочной ткани и на 7–10 день с поражением 50–75% лёгочной ткани. Улучшение лабораторных признаков предполагало увеличение числа лейкоцитов, лимфоцитов и тромбоцитов до нормальных значений на 3–5 сут терапии, а также нормализацию содержания СРБ и фибриногена на 4–7 сут терапии. По результатам КТ предполагалось, что на 5–7 сут происходило закономерное течение процесса без появления новых очагов и увеличения площади поражения.

По результатам лечения 113 пациентов по совокупности клинических и лабораторных признаков и результатов КТ органов грудной клетки терапия барицитинибом на фоне стандартной патогенетической терапии была признана эффективной у 95 (84%) субъектов и неэффективной — у 18 (16%).

В рамках клинического применения барицитиниба в популяции российских пациентов были показаны значимые положительные изменения по сравнению с исходным уровнем следующих показателей: температура тела (с $37,2 \pm 0,8^\circ\text{C}$ до $36,8 \pm 0,6^\circ\text{C}$, $p=0,000$), насыщение крови кислородом (с $95,5 \pm 3,0\%$ до $96,5 \pm 2,2\%$, $p=0,011$), СРБ (с $46,1 \pm 48,0$ мг/л до $33,5 \pm 43,7$ мг/л, $p=0,010$), тромбоциты (с $176,0 \pm 57,5$ до $250,6 \pm 86,5$; $p=0,000$), балл по шкале NEWS (с $1,7 \pm 1,3$ до $1,1 \pm 1,2$, $p=0,001$). Обнаруженные изменения свидетельствуют о снижении выраженности системного воспаления и улучшении состояния пациентов.

Принимая во внимание ретроспективные сведения о безопасности применения барицитиниба и нежелательных реак-

циях, следует отметить, что в ходе лечения барицитинибом наблюдалось небольшое снижение среднего значения числа нейтрофилов — с $(3,1 \pm 1,4) \times 10^9$ до $(3,0 \pm 2,0) \times 10^9$ и лимфоцитов — с $(1,8 \pm 0,9) \times 10^9$ до $(1,7 \pm 0,9) \times 10^9$, а также минимальные разнонаправленные изменения средних значений активности трансаминаз — АЛТ изменялась с $33,9 \pm 23,6$ Ед/л до $34,9 \pm 47,5$ Ед/л, АСТ изменялась с $40,6 \pm 49,0$ Ед/л до $38,5 \pm 25,5$ Ед/л.

В рамках рассматриваемого опыта применения барицитиниба было зарегистрировано 2 случая присоединения бактериальной инфекции, что согласуется с доступными сведениями о безопасности [17].

Обсуждение и заключение

При сопоставлении результатов анализа опыта применения барицитиниба в российской популяции пациентов с COVID-19 с данным проведённого ранее наблюдательного ретроспективного исследования в итальянской популяции [25] можно утверждать, что для лечения барицитинибом включались субъекты, состояние которых было менее тяжёлым по сравнению с популяцией итальянского исследования (табл. 2). Ожидается, что в этих условиях эффект вмешательства будет менее выраженным, поскольку существует меньше возможности для улучшения значений изменённых показателей, что обусловлено механизмом действия препаратов. Динамика изменений показателей эффективности в российской популяции согласуется с опубликованными данными наблюдательного ретроспективного многоцентрового клинического исследования в итальянской популяции, в котором также удалось достичь ста-

Таблица 3. Результаты анализа опыта клинического применения. Дополнительно представлены данные из исследования в итальянской популяции.

Table 3. Analysis results of the clinical use. Additional data from a study in the Italian population

Показатель	Российская популяция				p	Итальянская популяция исследования [25], субъекты из группы введения барицитиниба		
	исходный уровень	финальная оценка	исходный уровень	финальная оценка		исходный уровень	финальная оценка	p
	среднее (СО)	среднее (СО)	медиана (МКР)	медиана (МКР)		медиана (МКР)	медиана (МКР)	
Температура тела, °С	37,2 (0,8)	36,8 (0,6)	36,8 36,6–37,8	36,6 36,6–36,7	0,000***	37,9 36,7–38,3	36 36–36,1	0,001**
Насыщение крови кислородом, %	95,5 (3,0)	96,5 (2,2)	96,0 95,0–98,0	97,0 95,0–98,0	0,011*** 0,008**	95 92–98	97 96–98	0,0018**
Лейкоциты, ×10 ⁹ /л	5,2 (1,7)	5,1 (2,0)	5,1 4,0–6,3	4,8 3,8–6,2	0,476*** 0,486**	6,5 4,9–8,3	7,0 5,8–8,6	0,225**
Нейтрофилы, ×10 ⁹ /л	3,1 (1,4)	3,0 (2,0)	2,8 2,1–4,2	2,5 1,5–4,2	0,836*** 0,601**	4,7 3,5–6,5	4,4 3,2–6,9	0,876**
Лимфоциты, ×10 ⁹ /л	1,8 (0,9)	1,7 (0,9)	1,6 1,1–2,2	1,6 1,1–2,2	0,215*** 0,303**	0,93 0,7–1,2	1,3 1–2,1	0,0017**
Тромбоциты, ×10 ⁹ /л	176,0 (57,5)	250,6 (86,5)	167,0 138,0–204,0	239,0 194,0–300,0	0,000*** 0,000**	213 167–308	284 205–419	0,189**
АЛТ, Ед/л	33,9 (23,6)	34,9 (47,5)	27,1 19,6–39,4	23,5 16,5–41,9	0,626*** 0,175**	29 19–49	45 26,7–71	0,076**
АСТ, Ед/л	40,6 (49,0)	38,5 (25,5)	31,1 25,3–40,9	30,4 22,5–45,3	0,441*** 0,850**	34 25–51	30 23–43,5	0,764**
Креатинин, мкмоль/л	91,8 (24,4)	91,1 (34,6)	89,3 77,0–99,9	84,7 71,8–98,8	0,582*** 0,798**	80 62–89	78 62–88,5	0,934**
СРБ, мг/л	46,1 (48,0)	33,5 (43,7)	24,3 13,2–62,7	18,7 7,9–36,0	0,010*** 0,005**	82 41–145	3 (1,3–8,8)	0,000**
NEWS, балл	1,7 (1,3)	1,1 (1,2)	2 1–3	1 0–1	0,001**	—	—	
КТ ОГК	2,14 (0,390)	2,00 (0,703)	2 2–2	2 2–2	0,078*** 0,086**	—	—	

Примечание. СО — стандартное отклонение; МКР — межквартильный размах; СРБ — С-реактивный белок, ОГК — органы грудной клетки. ** — критерий Уилкоксона; *** — *t*-критерий Стьюдента

Note. CO — standard deviation; МКР – interquartile range; СРБ — C-reactive protein; ОГК — thoracic organs. ** — Wilcoxon's test; *** — Student's *t*-test.

статистической значимости различий по отношению к исходному уровню для показателей температуры тела, насыщения крови кислородом, СРБ; переменная NEWS не оценивалась (табл. 3).

Кратковременность курса применения барицитиниба у пациентов с COVID-19 — 5 дней с продлением до 7–10 дней – может способствовать большей безопасности его применения по сравнению с длительным лечением при ревматоидном артрите.

Барицитиниб включён во Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» Минздрава России, версия 9 (26.10.2020). На основании анализа результатов Адаптивного исследования терапии COVID-19 2 (АСТТ-2) и опыта применения у целевых групп пациентов с ревматоидным артритом с сопутствующей инфекцией COVID-19 Администрацией по продуктам питания и лекарствам США (U.S. Food and Drug Administration) были сделаны предвари-

тельные выводы о благоприятном влиянии применения барицитиниба на течение COVID-19. Такие предварительные выводы стали основанием для выдачи 19 ноября 2020 г. экстренного разрешения на применение (Emergency Use Authorization) в США барицитиниба в комбинации с ремдесивиром для лечения подозреваемой или лабораторно подтверждённой инфекции COVID-19 у госпитализированных взрослых пациентов и детей старше 2 лет, которым дополнительно требуется подача кислорода, искусственная вентиляция лёгких или экстракорпоральная мембранная оксигенация [26, 27].

В целом результаты, полученные в рамках опыта клинического применения барицитиниба у 113 российских пациентов с COVID-19, согласуются с доступными данными зарубежных клинических исследований и поддерживают эффективность и безопасность барицитиниба при лечении инфекции COVID-19.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Литература/References

- WHO. Coronavirus 2019. <https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020> Доступ 18.11.2020.
- van Doremalen N., Bushmaker T., Morris D.H., Holbrook M.G., Gamble A., Williamson B.N., Tamin A., Harcourt J.L., Thornburg N.J., Gerber S.I., Lloyd-Smith J.O., de Wit E., Munster V.J. Aerosol and surface stability of SARS-CoV-2 as compared with SARS-CoV-1. *N Engl J Med.* 2020; 382 (16): 1564–1567. doi: 10.1056/nejmc2004973
- Zhang R., Li Y., Zhang A.L., Wang Y., Molina M.J. Identifying airborne transmission as the dominant route for the spread of COVID-19. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2020; 117 (26): 14857–14863. doi: 10.1073/pnas.2009637117.
- Xu Y., Li X., Zhu B., Liang H., Fang C., Gong Y., Guo Q., Sun X., Zhao D., Shen J., Zhang H., Liu H., Xia H., Tang J., Zhang K., Gong S. Characteristics of pediatric SARS-CoV-2 infection and potential evidence for persistent fecal viral shedding. *Nat Med.* 2020; 26 (4): 502–505. doi: 10.1038/s41591-020-0817-4
- Siddiqi H.K., Mehra M.R. COVID-19 illness in native and immunosuppressed states: a clinical-therapeutic staging proposal. *J Heart Lung Transplant.* 2020; 39 (5): 405–407. doi: 10.1016/j.healun.2020.03.012
- Wu Z., McGoogan J.M. Characteristics of and important lessons from the coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak in China: summary of a report of 72 314 cases from the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA.* 2020 Apr 7; 323 (13): 1239–1242. doi: 10.1001/jama.2020.2648
- Kumar P., Sah A.K., Tripathi G., Kashyap A., Tripathi A., Rao R., Mishra P.C., Mallick K., Husain A., Kashyap M.K. Role of ACE2 receptor and the landscape of treatment options from convalescent plasma therapy to the drug repurposing in COVID-19 [published online ahead of print, 2020 Oct 7]. *Mol Cell Biochem.* 2020; 1–22. doi: 10.1007/s11010-020-03924-2
- Ziegler C.G.K., Allon S.J., Nyquist S.K., Mbanjo I.M., Miao V.N., Tzouanas C.N. et al. SARS-CoV-2 receptor ACE2 is an interferon-stimulated gene in human airway epithelial cells and is detected in specific cell subsets across tissues. *Cell.* 2020; 181 (5): 1016–1035. e19. doi: 10.1016/j.cell.2020.04.035
- Cantini E., Goletti D., Petrone L., Najafi Fard S., Niccoli L., Foti R. Immune Therapy, or Antiviral Therapy, or Both for COVID-19: A Systematic Review [published online ahead of print, 2020 Oct 17]. *Drugs.* 2020; 1–18. doi:10.1007/s40265-020-01421-w
- Promptchara E., Ketloy C., Tanapat Palaga T. Immune responses in COVID-19 and potential vaccines: lessons learned from SARS and MERS epidemic. *Asian Pac J Allergy Immunol.* 2020; 38 (1): 1–9. doi: 10.12932/ap-200220-0772
- Cossarizza A., De Biasi S., Guaraldi G., Girardis M., Mussini C. Modena Covid-19 Working Group SARS-CoV-2, the virus that causes COVID-19: cytometry and the new challenge for global health. *Cytometry A.* 2020; 97 (4): 340–343. doi: 10.1002/cyto.a.24002
- Huang C., Wang Y., Li X., Ren L., Zhao J., Hu Y. et al. Clinical characteristics of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet.* 2020; 395: 497–506. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5
- Qin C., Zhou L., Hu Z., Zhang S., Yang S., Tao Y., Xie C., Ma K., Shang K., Wang W., Tian D-S. Dysregulation of immune response in patients with COVID-19 in Wuhan, China. *Clin Infect Dis.* 2020 Jul 28; 71 (15): 762–768. doi: 10.1093/cid/ciaa248
- Quartuccio L., Sonaglia A., Pecori D., Peghin M., Fabris M., Tascini C., De Vita S. Higher levels of IL-6 early after tocilizumab distinguish survivors from nonsurvivors in COVID-19 pneumonia: a possible indication for deeper targeting of IL-6. *J Med Virol.* 2020 Nov, 92 (11): 2852–2856. doi: 10.1002/jmv.26149
- Pacha O., Sallman M.A., Evans S.E. COVID-19: a case for inhibiting IL-17? *Nat Rev Immunol.* 2020; 20 (6): 345–346. doi: 10.1038/s41577-020-0328-z
- Catanzaro M., Fagiani F., Racchi M., Corsini E., Govoni S., Lanni C. Immune response in COVID-19: addressing a pharmacological challenge by targeting pathways triggered by SARS-CoV-2. *Signal Transduct Target Ther.* 2020; 5 (1): 84. Published 2020 May 29. doi: 10.1038/s41392-020-0191-1
- Государственный реестр лекарственных средств, инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Олумиант: http://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=326e58c6-63c8-43ca-bc82-66ea578c9aed&t=Dostup 18.11.2020. [Gosudarstvennyj reestr lekarstvennykh sredstv, instruktsiya po meditsinskomu primeneniyu lekarstvennogo preparata Olumiant: http://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=326e58c6-63c8-43ca-bc82-66ea578c9aed&t=Dostup 18.11.2020. (in Russian)]
- Low Z.Y., Farouk I.A., Lal S.K. Drug repositioning: new approaches and future prospects for life-debilitating diseases and the COVID-19 Pandemic Outbreak. *Viruses.* 2020; 12 (9): 1058. Published 2020 Sep 22. doi:10.3390/v12091058
- Sorrell F.J., Szklarz M., Abdul Azeez K.R., Elkins J.M., Knapp S. Family-wide structural analysis of human numb-associated protein kinases. *Struct Lond Engl.* 2016; 24: 401–411. doi: 10.1016/j.str.2015.12.015
- Stebbing J., Krishnan V., de Bono S., Ottaviani S., Casalini G., Richardson P.J., Monteil V., Lauschke V.M., Mirazimi A., Youhanna S., Tan Y-J., Baldanti F., Sarasini A., Terres J.A.R., Nickoloff B.J., Higgs R.E., Rocha G., Byers N.L., Schlichting D.E., Nirula A., Cardoso A., Corbellino M., Sacco Baricitinib Study Group. Mechanism of baricitinib supports artificial intelligence-predicted testing in COVID-19 patients. *EMBO Mol Med.* 2020; 12 (8): e12697. doi: 10.15252/emmm.202012697
- Pujari R., Thommana M.V., Ruiz Mercedes B., Serwat A. Therapeutic Options for COVID-19: A Review. *Cureus.* 2020; 12 (9): e10480. Published 2020 Sep 16. doi: 10.7759/cureus.10480
- Praveen D., Puuvada R.C., M V.A. Janus kinase inhibitor baricitinib is not an ideal option for management of COVID-19. *Int J Antimicrob Agents.* 2020; 55: 105967. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105967
- Zhang W., Zhao Y., Zhang F., Wang O., Li T., Liu Z., Wang J., Qin Y. Zhang X., Yan X., Zeng X., Zhang S. The use of anti-inflammatory drugs in the treatment of people with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19): the perspectives of clinical immunologists from China. *Clin Immunol.* 2020; 214: 108393. doi: 10.1016/j.clim.2020.108393
- Cantini E., Niccoli L., Matarrese D., Nicastrì E., Stobbione P., Goletti D. Baricitinib therapy in COVID-19: A pilot study on safety and clinical impact. *J Infect.* 2020; 81 (2): 318–356. doi: 10.1016/j.jinf.2020.04.017
- Cantini E., Niccoli L., Nannini C., Matarrese D., Di Natale M.E., Lotti P., Aquilini D., Landini G., Cimolato B., Di Pietro M.A., Trezzi M., Stobbione P., Frausini G., Navarra A., Nicastrì E., Sotgiu G., Goletti D. Beneficial impact of Baricitinib in COVID-19 moderate pneumonia; multicentre study. *J Infect.* 2020; 81 (4): 647–679. doi:10.1016/j.jinf.2020.06.052
- U.S. Food & Drug Administration. Letter on the Emergency Use Authorization in the US. Official web site of the U.S. Food & Drug Administration. 19 November 2020 r. <https://www.fda.gov/media/143822/download> Доступ 30.11.2020.
- U.S. Food & Drug Administration. Letter on the Emergency Use Authorization in the US. Official web site of the U.S. Food & Drug Administration. 19 November 2020 r. <https://www.fda.gov/media/143822/download> Доступ 30.11.2020.

Информация об авторах

Зagrebnaya Elena Igorevna — к. м. н., заведующая консультативно-диагностическим отделением № 2 Государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Городская клиническая больница № 52» Департамента здравоохранения города Москвы; доцент кафедры общей терапии факультета дополнительного профессионального образования Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

About the authors

Alena I. Zagrebneva — Ph.D. in medicine, City Clinical Hospital No. 52, Pirogov Russian National Research Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

Elena A. Baryakh — D.Sc. in medicine, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, City Clinical Hospital No. 52, Moscow, Russia

Evgenia I. Zhelnova — Ph.D. in medicine, City Clinical Hospital No. 52, Moscow, Russia

Барях Елена Александровна — д. м. н., профессор кафедры гематологии и трансфузиологии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России; врач-гематолог, заведующая отделением гематологии и химиотерапии Государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Городская клиническая больница № 52» Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Россия

Желнова Евгения Ивановна — к. м. н., врач-гематолог, заведующая отделением высокодозной химиотерапии и трансплантации костного мозга Государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Городская клиническая больница № 52» Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Россия

Потешкина Наталия Георгиевна — д. м. н., профессор, руководитель университетской клиники Государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Городская клиническая больница № 52» Департамента здравоохранения города Москвы; заведующая кафедрой общей терапии факультета дополнительного профессионального образования Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

Белоглазова Ирина Павловна — к. м. н., врач-терапевт-пульмонолог, заведующая 4-м терапевтическим отделением Государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Городская клиническая больница № 52» Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Россия

Мутовина Зинаида Юрьевна — к. м. н., доцент кафедры общей терапии, кардиологии и функциональной диагностики Федерального государственного бюджетного учреждения дополнительного профессионального образования «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента Российской Федерации; врач-ревматолог, заведующая ревматологическим отделением Государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Городская клиническая больница № 52» Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Россия

Самсонова Инна Владимировна — к. м. н., заместитель главного врача по медицинской части Государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Городская клиническая больница № 52» Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Россия

Ковалевская Елена Анатольевна — к. м. н., врач-кардиолог, заведующая кардиологическим отделением Государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Городская клиническая больница № 52» Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Россия

Паршин Василий Владимирович — врач-рентгенолог, заведующий рентгеновским отделением ГБУЗ «Городская клиническая больница № 52» Департамента здравоохранения г. Москвы, Москва, Россия. ORCID: 0000-0003-3783-3412

Пишеничникова Вера Вячеславовна — к. м. н. врач-невролог, заведующая отделением для больных ОНМК Государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Городская клиническая больница № 52» Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Россия

Фомина Дарья Сергеевна — к. м. н., врач-аллерголог-иммунолог, руководитель центра аллергологии и иммуно-

Natalia G. Poteshkina — D.Sc. in medicine, Professor, City Clinical Hospital No. 52 Pirogov Russian National Research Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

Irina P. Beloglazova — Ph.D. in medicine, City Clinical Hospital No. 52, Moscow, Russia

Zinaida Yu. Mutovina — Ph.D. in medicine, Central State Medical Academy of the Directorate of the President of the Russian Federation, City Clinical Hospital No. 52, Moscow, Russia

Inna V. Samsonova — Ph.D. in medicine, City Clinical Hospital No. 52, Moscow, Russia

Elena A. Kovalevskaya — Ph.D. in medicine, City Clinical Hospital No. 52, Moscow, Russia

Vasily V. Parshin — radiologist, City Clinical Hospital No. 52, Moscow, Russia. ORCID: 0000-0003-3783-3412

Vera V. Pshenichnikova — Ph.D. in medicine, City Clinical Hospital No. 52, Moscow, Russia

Daria S. Fomina — Ph.D. in medicine, City Clinical Hospital No. 52, I. M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

Tatyana S. Kruglova — Allergologist, Immunologist, City Clinical Hospital No. 52, Moscow, Russia

Maryana A. Lysenko — D.Sc. in medicine, City Clinical Hospital No. 52, Pirogov Russian National Research Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

Margarita A. Dranitsyna — biostatistician, Center of Scientific Advice LLC, Moscow, Russia

логии Государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Городская клиническая больница № 52» Департамента здравоохранения города Москвы; доцент кафедры клинической иммунологии и аллергологии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Круглова Татьяна Сергеевна — врач-аллерголог-иммунолог, заведующая отделением аллергологии и иммунологии Государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Городская клиническая больница № 52» Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Россия

Лысенко Марьяна Анатольевна — д. м. н., главный врач Государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Городская клиническая больница № 52» Департамента здравоохранения города Москвы; профессор кафедры общей терапии факультета дополнительного профессионального образования Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

Драницына Маргарита Александровна — биостатистик, ООО «Центр научного консультирования», Москва, Россия

Распространение генов *mcr*-типа, кодирующих устойчивость к полимиксинам, в России и мире

*В. А. АГЕЕВЕЦ¹, О. С. СУЛЯН^{1,2}, И. В. ЛАЗАРЕВА¹, А. А. СУХИНИН²

¹ Детский научно-клинический центр инфекционных болезней, Санкт-Петербург, Россия

² Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, Санкт-Петербург, Россия

Dissemination of *MCR*-Type Genes Encoding Polymyxin Resistance in Russia and Across the Globe

*VLADIMIR A. AGEEVETS¹, OPHELIA S. SULYAN^{1,2},
IRINA V. LAZAREVA¹, ALEXANDER A. SUKHININ²

¹ Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, Saint Petersburg, Russia

² Saint Petersburg State Academy of Veterinary Medicine, Saint Petersburg, Russia

Резюме

В 2015 году впервые был описан ген устойчивости к полимиксинам *mcr*-типа, локализованный на мобильном генетическом элементе. После первого описания, последовали публикации, демонстрирующие глобальное распространение генов *mcr*-типа и роль животноводства в этом процессе. Одновременно, на фоне распространения генов приобретённой резистентности к карбапенемным антибиотикам, растёт практическое значение полимиксинов. Данный обзор кратко суммирует принципиальные данные, посвящённые данной проблеме.

Ключевые слова: полимиксины; гены *mcr*-типа; происхождение, распространение.

Для цитирования: Агеевец В. А., Сулян О. С., Лазарева И. В., Сухинин А. А. Распространение в России и мире генов *mcr*-типа, кодирующих устойчивость к полимиксинам. *Антибиотики и химиотерапия*. 2021; 66: 1–2: 57–64. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-1-2-57-64.

Abstract

The *MCR*-type polymyxin resistance gene localized on a mobile genetic element was described in 2015 for the first time. Publications, following the first description, demonstrated the global distribution of *MCR*-type genes and the role of animal husbandry in this process. At the same time, practical importance of polymyxins is growing, considering spread of genes of acquired resistance to carbapenem antibiotics. This review briefly summarizes the principal data on this issue.

Keywords: polymyxins; *mcr*-type genes; origin, distribution

For citation: Ageevets V. A., Sulian O. S., Lazareva I. V., Sukhinin A. A. Dissemination of *MCR*-Type Genes Encoding Polymyxin Resistance in Russia and Across the Globe. *Antibiotics and Chemotherapy*. 2021; 66: 1–2: 57–64. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-1-2-57-64.

Введение

В 1947 г. из почвенной грамположительной бактерии *Paenibacillus polymyxa* subsp. *colistinus* был выделен первый антибиотик группы полимиксинов [1]. Молекулы полимиксинов состоят из пептида и остатка жирной кислоты [2]. На основе аминокислотной последовательности пептидной части молекулы выделяют пять групп полимиксинов (А–Е), из которых полимиксин В и полимиксин Е (он же колистин) применяются в

клинической практике. Химическая структура полимиксинов принципиально схожа с катионными антимикробными пептидами (дефенсинами, бацитрацином и грамицидинами). Механизм действия полимиксина полностью не ясен [3]. Первым этапом действия полимиксина является электростатическое взаимодействие между положительно заряженными диаминомасляными группами полимиксина и отрицательно заряженными фосфатными группами липида А, а также

взаимодействие жирного ацильного хвоста полимиксина с липидными компонентами внешней мембраны. Результатом этого взаимодействия является изменение проницаемости внешней мембраны, в результате которого полимиксин получает доступ к цитоплазматической мембране. В результате воздействия на наружную и цитоплазматическую мембраны, которые служат барьерами проницаемости, происходит утечка внутриклеточного содержимого и гибель клеток. Электростатическое взаимодействие с внешней мембраной включает конкурентное вытеснение двухвалентных катионов (ионы кальция и магния) с отрицательно заряженных фосфатных групп мембранных липидов и липида А, которые могут снижать бактерицидный эффект полимиксинов [3, 4].

Полимиксины активны в отношении большинства грамотрицательных бактерий, включая *Enterobacterales* (за исключением *Proteus* spp., *Providencia* spp., *Serratia* spp., *Edwardsiella* spp., *Morganella* spp. и *Hafnia* spp.), неферментирующих бактерий *Pseudomonas*, *Acinetobacter* и *Burkholderia*, и аэробных бактерий, например, *Fusobacterium* spp. и *Bacteroides* spp. (за исключением *Bacteroides fragilis*) [5].

После десяти лет активного применения, в 1970-х годах полимиксины постепенно уступили место новым менее токсичным антибиотикам из групп аминогликозидов, фторхинолонов и бета-лактамов. В течение более двадцати лет применение полимиксинов в клинической практике было ограничено, в то время как в животноводстве полимиксины активно применяются с конца 1980-х годов не только в качестве лечебного препарата, но и в качестве стимулятора роста [6]. Начиная с 2000-х годов, на фоне распространения грамотрицательных бактерий, демонстрирующих множественную резистентность (в частности, карбапенеморезистентные *K.pneumoniae*, *A.baumannii* и *Paeruginosa*), полимиксины возвращаются в клиническую практику в качестве «последней линии антимикробной обороны» [2, 7, 8].

Механизмы формирования устойчивости к полимиксинам

Природная резистентность к полимиксинам у некоторых видов грамотрицательных бактерий обусловлена особенностями строения их липополисахарида (LPS), отличающегося низкой аффинностью к антибиотику из-за снижения отрицательного заряда, в результате присоединения катионных групп 4-амино-4-деокси-1-арабинозы (L-Ara4N) и фосфоэтаноламина (PETN). Модификация липида А лежит в основе большинства механизмов резистентности. Одним из путей формирования устойчивости к полимиксинам, является нарушение регуляции биосинтеза липида А (*lipA*). У грамотрицательных бактерий эту

функцию осуществляют гомологичные двухкомпонентные системы *pmrA/pmrB* (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella* spp., *Acinetobacter baumannii*, и *Pseudomonas aeruginosa*), *phoP/phoQ* (*K.pneumoniae*, *Salmonella* spp.), *parR/parS* (*Paeruginosa*), *colR/colS* (*Paeruginosa*), и *cprR/cprS* (*Campylobacter jejuni*) [9]. У *K.pneumoniae* устойчивость часто формируется в результате изменений в гене *mgrB*, который кодирует отрицательный регулятор *phoP/phoQ* системы [10]. Так или иначе, механизмы устойчивости реализуются за счёт либо ингибирования биосинтеза липида А, либо за счёт добавления к липиду А катионных групп, что приводит к прекращению взаимодействия молекулы антибиотика с мишенью (исчезает возможность электростатического взаимодействия антибиотика и его мишени).

В 2015 г. в Китае впервые был обнаружен ген приобретённой устойчивости к полимиксинам *mcr*-типа (Mobile Colistin Resistance), локализованный на мобильном генетическом элементе у изолятов *E.coli* и *K.pneumoniae* [11]. Гены *mcr*-типа кодируют фосфоэтаноламинтрансферазу, которая модифицирует фосфатную группу липида А прикреплением положительно заряженного фосфоэтаноламина. Уменьшение отрицательного заряда бактериальной внешней мембраны приводит к ослаблению аффинности к антибиотику и формированию устойчивости.

Происхождение и механизмы распространения

Из-за относительно небольшой роли полимиксинов в клинической практике последние десятилетия, распространение генов *mcr*-типа долгое время оставалось скрытым от научного сообщества. Однако после первого описания гена *mcr-1* [11] последовало множество публикаций, посвящённых обнаружению генов *mcr*-типа в ранее собранных коллекциях грамотрицательных бактерий. При ретроспективном анализе одной из коллекций был обнаружен *mcr*-положительный изолят, полученный из животноводческого комплекса более трёх десятилетий назад, что примерно совпадает с началом применения полимиксинов в животноводстве [12].

Согласно основной гипотезе, резервуаром штаммов с генами *mcr*-типа являются животноводческие хозяйства, где наиболее активно применяются полимиксины и, как следствие, действует мощный селективный отбор в условиях контакта с почвенным биоценозом [13]. Появление и распространение генов *mcr*-типа связано с несколькими независимыми событиями переноса хромосомно-локализованных генов фосфоэтаноламинтрансферазы, например, от представителей

рода *Moraxella* spp. (*mcr-1*), *Buttiauxella* spp. (*mcr-10*) на мобильные генетические элементы, в составе которых они включились в процесс горизонтального переноса. Хромосомно-локализованные предшественники генов *mcr* выполняют аналогичную функцию модификации липида А при изменении катионного состава окружающей среды и определяют природную резистентность к полимиксинам.

В основе кластеризации условного филогенетического древа генов *mcr*-типа лежат отдельные независимые генетические события переноса хромосомно-локализованных предшественников генов *mcr*-типа от различных первичных хозяев на мобильные генетические элементы. Вероятные предшественники найдены для семейства (группы) *mcr-1* — хромосомные гены у представителей рода *Moraxella* [14], *mcr-2* имеет близкий вариант в геноме бактерии *Moraxella pluranimalium* [15], *mcr-3* связан с *Aeromonas* spp. [16], *mcr-4* — *Shewanella* spp. [17]. Происхождение вариантов *mcr-5* — 8 пока остаётся неизвестным. Варианты *mcr-9* и *mcr-10* берут своё начало от хромосомных генов бактерий рода *Buttiauxella* [18, 19]. Вероятно, список вариантов *mcr*-подобных генов будет расти за счёт новых мобилизованных вариантов и их хромосомно-локализованных предшественников. Кластерный анализ описанных на сегодняшний день вариантов генов *mcr*-типа представлен на рисунке [19].

Наиболее крупным резервуаром *mcr*-положительных штаммов, преимущественно у *E.coli*, являются свиноводческие хозяйства и птицефабрики. Предполагаемым географическим центром, откуда происходило распространение генов *mcr-1* является Китай и соседние регионы [20]. Частота образцов, в которых обнаруживается ген *mcr-1* в животноводческих и птицеводческих комплексах Китая варьирует от 5 до 61% [11, 21]. Оценка существенно отличается в зависимости от метода скрининга, так число *mcr*-положительных биологических образцов, выявляемых в ПЦР, существенно выше, чем число положительных изолятов, выделяемых культуральными методами. Гены *mcr*-типа описаны в подавляющем числе стран и имеют глобальное распространение. Так, в Бельгии по данным 2016 года — 13,2% образцов из свиноводческих хозяйств *mcr*-положительны [22], в Южной Африке — 2,4 % изолятов [23], в США — всего 0,35% изолятов из свиноводческих хозяйств, что существенно ниже чем во многих европейских странах [24], что, вероятно, объясняется тем, что колистин в США и Канаде не одобрен для ветеринарного применения [6].

mcr-1-положительные изоляты описаны у пациентов более чем в сорока странах и регионах на шести континентах. Среди клинических изолятов самая высокая частота *mcr*-положительных энтеробактерий, выявлена в Японии [25], Китае [26], Индии [27], Таиланде [20, 28], варьирует от 0,05%

до 4,73%. Наиболее значимым можно считать распространение генов *mcr-1* среди *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* и *Salmonella* spp. Выявлена бессимптомная колонизация *mcr*-положительными штаммами кишечника здоровых людей. В азиатском регионе от 2 до 26% образцов кала от здоровых людей положительны по ПЦР на гены *mcr-1* группы [20].

Описано носительство штаммов с генами *mcr*-группы у домашних и диких животных. Домашние животные, обитающие вместе с людьми («животные-компаньоны»), вероятно, связаны с теми же источниками *mcr*-положительных бактерий, что и их хозяева. Наличие генов *mcr*-типа у представителей микробиома диких животных представляет достаточно большой интерес, так как преимущественно описывается у птиц, которые могут играть существенную роль в глобальном распространении генов резистентности, в первую очередь, во время сезонных миграций. Например, гены *mcr*-типа были обнаружены у чаек (*Larus argentatus*) в 2016 г. в Южной Африке и Европе [29, 30].

Горизонтальный перенос генов *mcr-1*

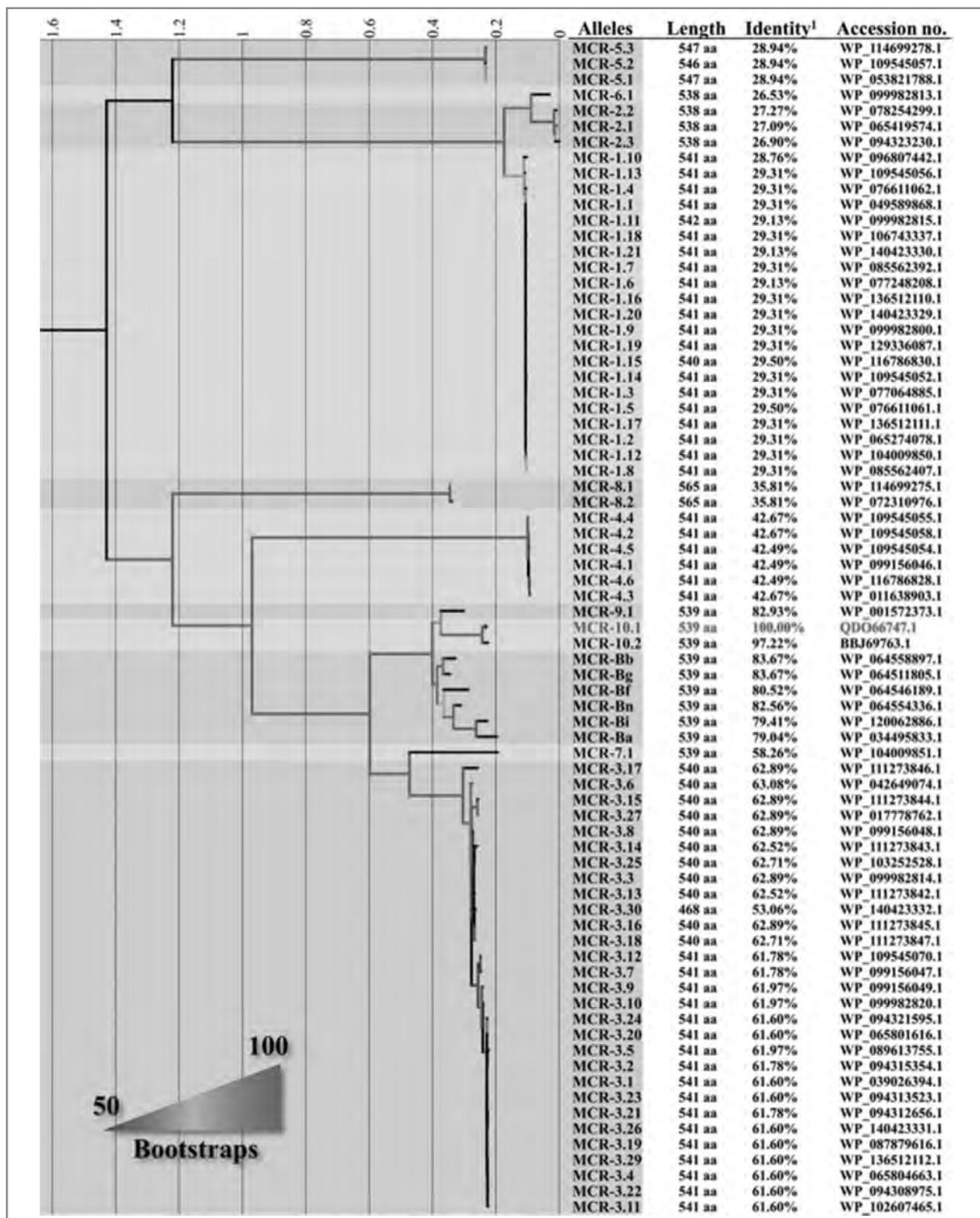
Описано, как минимум, 15 групп плазмид, несущих ген *mcr-1*, это IncFII, IncHI1, IncHI2, IncI2, IncP1, IncX4, IncY, IncF, IncK, IncFIB, IncI1-1Y, IncN, IncFII, IncO111 [31]. Подавляющее число плазмид обладают конъюгативной активностью. Доминирующими и наиболее распространёнными группами плазмид являются IncHI2, IncI2, и IncX4, при этом плазмиды демонстрируют высокий уровень консервативности, а также отсутствие выраженных доминирующих генетических линий бактерий, с которыми бы эти типы плазмид ассоциировались [32, 33].

Особенности распространения генов *mcr-2* — 10 типов

Ген *mcr-2* гомологичен с *mcr-1* на 76,7% по нуклеотидной последовательности и на 83,1% по аминокислотной последовательности [34]. Впервые был описан в 2016 г. в Бельгии, причём ген *mcr-2* по распространению превосходил в Бельгии *mcr-1*. Также гены *mcr-2* группы обнаружены в Англии, Ираке, Китае, Канаде и Египте [35–38]. Гены *mcr-2* менее распространены по сравнению с *mcr-1*.

Ген *mcr-3* описан, как минимум, в 22 странах. Аналогично всей группе генов *mcr*-типа преимущественно распространён в животноводческих хозяйствах [35]. Имеет всего 34,2% гомологии аминокислотной последовательности с *mcr-1*.

Ген *mcr-4* выявлен в Италии, Испании, Бельгии, Китае, Бразилии, Сингапуре. Первое описание связано с изолятом *Salmonella enterica* serovar



Результат кластерного анализа аминокислотных последовательностей описанных вариантов генов *mcr*-типа, включая предшественников варианта *mcr*-10 (MCR-Bb–Bg–Bf–Bn–Bi–Ba — хромосомные варианты рода *Buttiauxella*).

Примечание. Светло-серой и серой горизонтальной заливкой выделены группы генов *mcr*-типа 19].

The result of cluster analysis of amino acid sequences of the described variants of *MCR*-type genes, including the precursors of the *MCR*-10 variant (MCR-Bb–Bg–Bf–Bn–Bi–Ba are chromosomal variants of the genus *Buttiauxella*).

Note. Groups of *MCR*-19 genes are highlighted with light gray and gray horizontal shading.

Typhimurium, выделенным в 2013 г. в свиноводческом хозяйстве в Италии [17]. Также в Италии впервые был обнаружен ген *mcr-4* у клинического изолята, причём также *S. enterica* serovar Typhimurium [39]. После описания генов *mcr-4* группы в Италии, они также были обнаружены в Китае у *Acinetobacter baumannii* из свиноводческого комплекса [40]. Гомологичен по аминокислотной последовательности на 32,7% с *mcr-1*.

Ген *mcr-5* обнаружен, как минимум, в 15 странах. Первое описание гена этой группы связано с ретроспективным скринингом генов *mcr*-типа в коллекции *Salmonella paratyphi* в Германии, собранной в 2011–2016 годах [41]. *mcr-5* имеет аминокислотную гомологию с *mcr-1* 35,5%. Несмотря на первое описание в Европе, также был обнаружен в азиатском регионе у представителей разных видов, в том числе у *Aeromonas hydrophila* в Китае [42]. Также *mcr-5* первый из генов *mcr*-типа, обнаруженный у *Pseudomonas aeruginosa* (в США) [43].

Ген *mcr-6* является наименее распространённым в мире и единственным не выявленным в Китае. Опубликовано всего одно описание данного гена [36]. *mcr-6.1* на 82,8% гомологичен *mcr-1* по аминокислотной последовательности. Локализован на хромосоме *Moraxella pluranimalium*. В оригинальной публикации ему был присвоен номер *mcr-2.2*, но в дальнейшем было сделано изменение в номенклатуре [44].

Ген *mcr-7* впервые описан в 2018 г. у изолятов *K. pneumoniae*, собранных в период 2010–2015 гг. в птицефабриках нескольких провинций Китая [45]. По аминокислотной последовательности соответствует *mcr-1* на 34,1%. Кроме Китая, ген *mcr-7* обнаружен пока только в сточных водах Германии [46].

Ген *mcr-8* также описан впервые в Китае. Изолят *K. pneumoniae* выделен из ректального мазка свиньи в период между 2015 и 2017 годами. Анализ баз данных выявил изолят *K. pneumoniae*, полученный из мокроты пациента одного из китайских госпиталей, имеющий на 99% идентичную аминокислотную последовательность с *mcr-8* [47]. Для группы генов *mcr-8* в большей степени, чем для других описанных вариантов характерна циркуляция среди изолятов не относящихся в роду *Escherichia*. Хотя число описаний генов *mcr-8* группы насчитывает около двух десятков, они охватывают различные регионы и преимущественно связаны с множественно резистентными изолятами, что принципиально отличает эту группу [48, 49].

Ген *mcr-9* является самым широко распространённым после варианта *mcr-1*. Впервые описан в 2019 г. в США у клинического изолята *Salmonella enterica* [50]. После первого описания, изоляты с данным геном были выявлены в Китае, Швеции и Франции [51]. Анализ базы данных GenBank выявил гены *mcr-9* у изолятов *Enterobacteriaceae* по всему миру [50]. Среди выявленных изо-

лятов по видовой принадлежности на первом месте *Enterobacter* spp. (31% от числа выявленных *mcr-9* положительных изолятов), на втором месте *Klebsiella* spp. (30%), *Salmonella* spp. ($n=14$, 10,1%), а *Escherichia* spp. находятся только на четвёртом месте ($n=13$, 9,4%). По происхождению изоляты с геном *mcr-9* также отличаются от варианта *mcr-1*, 55,8% изолятов выделены от людей ($n=77$), на втором месте изоляты от животных — 29%, потом следуют единичные изоляты из окружающей среды и продуктов питания [51]. По аминокислотной последовательности *mcr-9* гомологичен другим вариантам *mcr* на 33–65%. Происхождение гена *mcr-9* связывают с *Buttiauxella* spp., представители которого имеют хромосомно-локализованные гены на 84% гомологичные *mcr-9* [18].

Гены группы *mcr-10* являются последними на этот момент описанными вариантами. Впервые описаны у клинического изолята *Enterobacter roggenkampii*, выделенного в китайском госпитале. Аналогично другим вариантам генов *mcr* (кроме *mcr-6*) имеет плазмидную локализацию. По аминокислотной последовательности на 82,93% гомологичен *mcr-9*, поэтому происхождение этого варианта гена может быть также связано с представителями рода *Buttiauxella* spp. После первого описания, гены *mcr-10* были обнаружены в базе данных GenBank. Самый ранний из обнаруженных изолятов выделен в 1998 г. — *Citrobacter freundii* в Китае, имеющий клиническое происхождение. В списке стран, где ретроспективно обнаружены изоляты с *mcr-10* есть США, Канада, Германия, Вьетнам, Япония, Таиланд, таким образом, *mcr-10* относится к глобально распространённым вариантам [19].

Описания в России

В России пока систематических данных о распространении генов *mcr*-группы нет, но по отдельным сообщениям можно составить представление о разработке данной проблемы. Ниже представлена вся найденная опубликованная информация, в том числе, представленная в тезисах конференций, отражающая распространение *mcr* в России.

Статья с первым описанием *mcr*-положительного изолята *E. coli* клинического происхождения была опубликована в 2018 г. Изолят был выделен в 2014 г., относился к ST156 и дополнительно нёс два гена β -лактамаз (TEM и CTX-M-1 групп). В публикации приводятся данные многоцентрового международного исследования и отсутствуют подробные данные, описывающие изолят 2014 г. [52]. Далее, в 2018 г., на европейском конгрессе по клинической микробиологии и инфекционным заболеваниям (ECCMID 2018, P2468), был сделан доклад, в котором представлены данные об

обнаружении ещё одного *mcr-1* положительного изолята *E.coli*, выделенного от пациента с инфекцией кровотока в 2015 г. [53].

В 2019 г. было опубликовано три сообщения посвящённых *mcr* в России:

1. Обнаружение *E.coli* в биологическом образце от чёрного коршуна (*Milvus milvus*), пойманного в Алтайском крае [54].

2. Сообщение результатов скрининга коллекций грамотрицательных изолятов на ESCMID 2019 — авторы обнаружили в коллекции, включающей 3050 изолятов *E.coli* 11 *mcr*-положительных, из которых пять относятся к внебольничным и шесть к нозокомиальным. На сегодняшний день эти данные дополнены и представлены в сервисе AMRmap (<http://amrmap.com/>). Всего в AMRmap представлено 19 изолятов из тринадцати городов России, самый восточный из которых Улан-Удэ, а западный Санкт-Петербург [55].

3. Обнаружен единственный изолят *Paeruginosa* с геном *mcr-1* [56].

4. Обнаружены два изолята *E.coli*, попавшие в коллекцию в 2016 г. из одного стационара, относящиеся к сиквенс-типам ST156 и ST359, но несущие идентичные плазмиды IncX4 группы [32].

В 2020 г. опубликованы следующие сообщения:

1. Описан изолят *E.coli* от новорожденного, находящегося в реанимации, демонстрирующий ко-продукцию *mcr-1* и карбапенемазы NDM-1. Плазмида, несущая ген *mcr-1*, оказалась гомологичной плазмиде, описанной у изолята от чёрного коршуна [57].

2. Авторы проанализировали 59 колистин-устойчивых изолятов, выделенных из птицеводческих комплексов, среди которых *mcr-1* был выявлен у десяти изолятов [58].

3. Также в 2020 г. вышло сообщение о выявлении двух изолятов *E.coli* (ST2016 и ST1080) в животноводческих учреждениях Северо-Западного региона с геном *mcr-1* [59].

4. Вышло сообщение в журнале Урология, в котором авторы проанализировали 18 изолятов от женщин разного возраста, среди которых обнаружили два изолята с генами *mcr*-типа [60].

Литература/References

1. Benedict R.G., Langlykke A.F. Antibiotic activity of Bacillus polymyxa. J Bacteriol. 1947; 54 (1): 24.
2. Li J., Nation R.L., Turnidge J.D., Milne R.W., Coulthard K., Rayner C.R., Paterson D.L. Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. Lancet Infect Dis. 2006. 6 (9): 589–601. doi: 10.1016/S1473-3099(06)70580-1.
3. Grayson M.L., Cosgrove S.E., Crowe S. et al. Kucers' the use of antibiotics: a clinical review of antibacterial, antifungal, antiparasitic and antiviral drugs. Seventh edition. 2018; 5390.
4. Dixon R.A., Chopra I. Polymyxin B and polymyxin B nonapeptide alter cytoplasmic membrane permeability in *Escherichia coli*. J Antimicrob Chemother. 1986; 18 (5): 557–563.
5. Storm D.R., Rosenthal K.S., Swanson P.E. Polymyxin and related peptide antibiotics. Annu Rev Biochem. 1977; 46: 723–763.

Также отдельно нужно отметить обзорную работу 2020 г., где присутствуют данные об обнаружении гена *mcr-9* в России, но первоисточник этих данных не указан [35].

Заключение

В последнее десятилетие значение полимиксинов в клинической практике начало расти. Вероятнее всего, появление генов *mcr*-типа и их распространение стимулировалось активным применением полимиксинов в животноводстве, но выявление генов *mcr*-типа связано с возросшей ролью полимиксинов в клинической практике. К моменту первого описания генов *mcr*-типа они уже были распространены по всему миру. Распространение генов *mcr*-типа преимущественно за счёт переноса конъюгативных плазмид между различными генетическими линиями бактерий, включая межвидовой перенос, усложняет контроль над их распространением и при этом потенциально может обеспечивать высокую скорость (аналогичная ситуация была с карбапенемазами — прошло десять лет от единичных случаев до 40–50% в отделениях ОРИТ). Данный факт ставит под угрозу перспективы группы полимиксинов в роли «антибиотиков последней линии антимикробной обороны» и в мире, и в России, в частности. Согласно актуальным рекомендациям EUCAST, для оценки чувствительности к колистину нельзя применять диско-диффузионный метод, что создаёт трудности для выбора схемы антимикробной терапии на фоне возможного быстрого распространения приобретённой резистентности. Если рассматривать полимиксины как препарат, значение которого для клинической практики и дальше будет расти, то необходимо внедрение методов определения МПК полимиксинов в практику бактериологических лабораторий, а также, как сделали, например, в Китае или Эстонии — ограничить применение полимиксинов в животноводстве.

Работа поддержана грантом РФФИ № 18-74-00098.

6. Rhouma M., Beaudry E., Theriault W., Letellier A. Colistin in pig production: chemistry, mechanism of antibacterial action, microbial resistance emergence, and one health perspectives. Front Microbiol. 2016; 7: 1789. doi: 10.3389/fmicb.2016.01789
7. Falagas M.E., Kasiakou S.K. Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. Clin Infect Dis. 2005; 40 (9): 1333–1341. doi: 10.1086/429323.
8. Biswas S., Brunel J.-M., Dubus J.-C., Reynaud-Gaubert M. Colistin: an update on the antibiotic of the 21st century. Expert Rev Anti Infect Ther. 2012. 10 (8): 917–934. doi: 10.1586/eri.12.78
9. Olaitan A.O., Morand S., Rolain J.M. Mechanisms of polymyxin resistance: acquired and intrinsic resistance in bacteria. Front Microbiol. 2014; 5: 643.
10. Jayol A., Nordmann P., Brink A., Poirel L. Heteroresistance to colistin in *Klebsiella pneumoniae* associated with alterations in the PhoPQ regulatory system. Antimicrob Agents Chemother 2015; 59 (5): 2780–2784. doi: 10.1128/AAC.05055-14

11. Liu Y.Y., Wang Y., Walsh T.R. et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *Lancet Infect Dis.* 2016; 16 (2): 161–168. doi: 10.1016/S1473-3099(15)00424-7
12. Shen Z., Wang Y., Shen Y. et al. Early emergence of mcr-1 in *Escherichia coli* from food-producing animals. *Lancet Infect Dis.* 2016; 16 (3): 293. doi: 10.1016/S1473-3099(16)00061-X
13. Poirel L., Nordmann P. Emerging plasmid-encoded colistin resistance: the animal world as the culprit? *J Antimicrob Chemother.* 2016; 71 (8): 2326–2327.
14. Kieffer N., Nordmann P., Poirel L. *Moraxella* species as potential sources of MCR-Like polymyxin resistance determinants. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017. 61 (6): e00129–17. doi: 10.1128/AAC.00129-17
15. Poirel L., Kieffer N., Fernandez-Garayzar J. et al. MCR-2-mediated plasmid-borne polymyxin resistance most likely originates from *Moraxella pluranimalium*. *J Antimicrob Chemother.* 2017; 72 (10): 2947–2949. doi: 10.1093/jac/dkx225
16. Eichhorn I., Feudi C., Wang Y. et al. Identification of novel variants of the colistin resistance gene mcr-3 in *Aeromonas* spp. from the national resistance monitoring programme GERM-Vet and from diagnostic submissions. *J Antimicrob Chemother.* 2018; 73 (5): 1217–1221. doi: 10.1093/jac/dkx538
17. Carattoli A., Villa L., Feudi C. et al. Novel plasmid-mediated colistin resistance mcr-4 gene in *Salmonella* and *Escherichia coli*, Italy 2013, Spain and Belgium, 2015 to 2016. *Euro Surveill.* 2017; 22 (31): 30589. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2017.22.31.30589
18. Kieffer N., Royer G., Decousser J.-W. et al. mcr-9, an inducible gene encoding an acquired phosphoethanolamine transferase in *Escherichia coli*, and its origin. *Antimicrob Agents Chemother.* 2019; 63 (9): e00965. doi: 10.1128/AAC.00965-19
19. Wang C., Feng Yu, Liu L. et al. Identification of novel mobile colistin resistance gene mcr-10. *Emerg Microbes Infect.* 2020; 9 (1): 508–516. doi: 10.1080/22221751.2020.1732231
20. Xiaomin S., Yiming Y., Zhanggi S. et al. Global impact of mcr-1-positive Enterobacteriaceae bacteria on «one health». *Crit Rev Microbiol* 2020; 46 (5): 565–577. doi: 10.1080/1040841X.2020.1812510
21. Chiou C.S., Chen Y.-T., Wang Y.-W. et al. Dissemination of mcr-1-carrying plasmids among colistin-resistant salmonella strains from humans and food-producing animals in Taiwan. *Antimicrob Agents Chemother* 2017; 61 (7): e00338-17. doi: 10.1128/AAC.00338-17
22. Xavier B.B., Lammens C., Butaye P. et al. Complete sequence of an IncFII plasmid harbouring the colistin resistance gene mcr-1 isolated from Belgian pig farms. *J Antimicrob Chemother* 2016; 71 (8): 2342–2344. doi: 10.1093/jac/dkw191
23. Perreten V., Strauss C., Collaud A., Gerber D. Colistin resistance gene mcr-1 in avian-pathogenic *Escherichia coli* in South Africa. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016; 60 (7): 4414–4415. doi: 10.1128/AAC.00548-16
24. Meinersmann R.J., Ladely S.R., Plumlee J.R. et al. Prevalence of mcr-1 in the Cecal Contents of Food Animals in the United States. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017; 61 (2): e02244-16. doi: 10.1128/AAC.02244-16
25. Sato T., Fukuda A., Usui M. et al. Isolation of a mcr-1-harboring *Escherichia coli* isolate from a human clinical setting in Sapporo, Japan. *J Glob Antimicrob Resist* 2018; 13: 20–21. doi: 10.1016/j.jgar.2018.02.010
26. Huang H., Dong N., Shu L. et al. Colistin-resistance gene mcr in clinical carbapenem-resistant Enterobacteriaceae strains in China, 2014–2019. *Emerg Microbes Infect.* 2020; 9 (1): 237–245. doi: 10.1080/22221751.2020.1717380
27. Singh S., Pathak A., Kumar A. et al. Emergence of chromosome-borne colistin resistance gene mcr-1 in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* from India. *Antimicrob Agents Chemother.* 2018; 62 (2): e01885-17. doi: 10.1128/AAC.01885-17
28. Eiamphungporn W., Yainoy S., Jumderm C. et al. Prevalence of the colistin resistance gene mcr-1 in colistin-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from humans in Thailand. *J Glob Antimicrob Resist* 2018; 15: 32–35. doi: 10.1016/j.jgar.2018.06.007
29. Liakopoulos A., Mevius D.J., Olsen B., Bonnedahl J. The colistin resistance mcr-1 gene is going wild. *J Antimicrob Chemother* 2016; 71 (8): 2335–2336. doi: 10.1093/jac/dkw262
30. Ruzauskas M., Vaskeviciute L. Detection of the mcr-1 gene in *Escherichia coli* prevalent in the migratory bird species *Larus argentatus*. *J Antimicrob Chemother.* 2016; 71 (8): 2333–2334.
31. Xiaomin S., Yiming L., Zhanggi S. et al. Global impact of mcr-1-positive Enterobacteriaceae bacteria on «one health». *Crit Rev Microbiol.* 2020; 46 (5): 565–577. doi: 10.1080/1040841X.2020.1812510
32. Ageevets V., Lazareva I., Mrudova T. et al. IncX4 plasmids harbouring mcr-1 genes: Further dissemination. *J Glob Antimicrob Resist* 2019; 18: 166–167. doi: 10.1016/j.jgar.2019.07.002
33. Sulian O., Ageevets V., Lazareva I. et al. Co-production of MCR-1 and NDM-1 by *Escherichia coli* sequence type 31 isolated from a newborn in Moscow, Russia. *Int J Infect Dis.* 2020; 101: 4–5. doi: 10.1016/j.ijid.2020.09.1422
34. Xavier B.B., Lammens C., Ruhel R. et al. Identification of a novel plasmid-mediated colistin-resistance gene, mcr-2, in *Escherichia coli*, Belgium, June 2016. *Euro Surveill.* 2016; 21 (27). doi: 10.2807/1560-7917.ES.2016.21.27.30280
35. Ling Z., Yin W., Shen Z. et al. Epidemiology of mobile colistin resistance genes mcr-1 to mcr-9. *J Antimicrob Chemother.* 2020; 75 (11): 3087–3095. doi: 10.1093/jac/dkaa205
36. AbuOun M., Stubberfield E., Duggett N.A. et al. mcr-1 and mcr-2 (mcr-6.1) variant genes identified in *Moraxella* species isolated from pigs in Great Britain from 2014 to 2015. *J Antimicrob Chemother.* 2018; 73 (10): 2904. doi: 10.1093/jac/dky272
37. Al-Kadmy I.M.S., Ibrahim S.A., Al-Saryi N. et al. Prevalence of Genes involved in colistin resistance in *Acinetobacter baumannii*: first report from Iraq. *Microb Drug Resist.* 2020; 26 (6): 616–622. doi: 10.1089/mdr.2019.0243
38. Zhang X., Zhang B., Wang J. et al. Colistin resistance prevalence in *Escherichia coli* from domestic animals in intensive breeding farms of Jiangsu Province. *Int J Food Microbiol.* 2019; 291: 87–90. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2018.11.013
39. Carretto E., Brovarone F., Nardini P. et al. Detection of mcr-4 positive *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in clinical isolates of human origin, Italy, October to November 2016. *Euro Surveill.* 2018; 23 (2): 17–00821. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2018.23.2.17-00821
40. Ma F., Shen C., Zheng X. et al. Identification of a novel plasmid carrying mcr-4.3 in *Acinetobacter baumannii* strain in China. *Antimicrob Agents Chemother.* 2019; 63 (6): e00133-19. doi: 10.1128/AAC.00133-19
41. Borowiak M., Fischer J., Hammerl J.A. et al. Identification of a novel transposon-associated phosphoethanolamine transferase gene, mcr-5, conferring colistin resistance in d-tartrate fermenting *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Paratyphi B. *J Antimicrob Chemother.* 2017; 72 (12): 3317–3324. doi: 10.1093/jac/dkx327
42. Ma S., Sun C., Hulth A. et al. Mobile colistin resistance gene mcr-5 in porcine *Aeromonas hydrophila*. *J Antimicrob Chemother.* 2018; 73 (7): 1777–1780. doi: 10.1093/jac/dky110
43. Snesrud E., Maybank R., Kwak Y.I. et al. Chromosomally Encoded mcr-5 in Colistin-Nonsusceptible *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2018; 62 (8): e00679-18. doi: 10.1128/AAC.00679-18
44. Partridge S.R., Pilato V.D., Doi Y. et al. Proposal for assignment of allele numbers for mobile colistin resistance (mcr) genes. *J Antimicrob Chemother.* 2018; 73 (10): 2625–2630. doi: 10.1093/jac/dky262
45. Yang Y.Q., Li Y.-X., Lei C.-W. et al. Novel plasmid-mediated colistin resistance gene mcr-7.1 in *Klebsiella pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother.* 2018; 73 (7): 1791–1795. doi: 10.1093/jac/dky111
46. Kneis D., Berendonk T.U., Hess S. High prevalence of colistin resistance genes in German municipal wastewater. *Sci Total Environ.* 2019; 694: 133454. doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.07.260
47. Wang X., Wang Y., Zhou Y. et al. Emergence of a novel mobile colistin resistance gene, mcr-8, in NDM-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Emerg Microbes Infect.* 2018; 7 (1): 122. doi: 10.1038/s41426-018-0124-z.
48. Kyanya C., Musila L. Colistin resistance gene mcr-8 in a high-risk sequence type 15 *Klebsiella pneumoniae* isolate from Kenya. *Microbiol Resour Announc.* 2020; 9 (39): e00783-20. doi: 10.1128/MRA.00783-20.
49. Salloum T., Panossian B., Bitar I. et al. First report of plasmid-mediated colistin resistance mcr-8.1 gene from a clinical *Klebsiella pneumoniae* isolate from Lebanon. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2020; 9 (1): 94. doi: 10.1186/s13756-020-00759-w
50. Carroll L.M., Gaballa A., Guldemann C. et al. Identification of novel mobilized colistin resistance gene mcr-9 in a multidrug-resistant, colistin-susceptible *Salmonella enterica* serotype typhimurium isolate. *MBio.* 2019; 10 (3): e00853-19. doi: 10.1128/mBio.00853-19
51. Li Y., Dai X., Zeng J. et al. Characterization of the global distribution and diversified plasmid reservoirs of the colistin resistance gene mcr-9. *Sci Rep.* 2020; 10 (1): 8113. doi: 10.1038/s41598-020-65106-w.
52. Wise M.G., Estabrook M.A., Sahn D.F. et al. Prevalence of mcr-type genes among colistin-resistant Enterobacteriaceae collected in 2014–2016 as part of the INFORM global surveillance program. *PLoS One.* 2018; 13 (4): e0195281. doi: 10.1371/journal.pone.0195281. eCollection 2018.
53. Klyasova G., Korobova A., Khrulnova S., Fedorova A., Vereschagina S., Molchanova I., Kutsevalova O. Detection of mcr-1 in *Escherichia coli* recovered from bloodstream infections in Russia: multicentre study. *ECCMID* 2018.
54. Tarabai H., Valcek A., Jamborova I. et al. Plasmid-mediated mcr-1 colistin resistance in *Escherichia coli* from a black kite in Russia. *Antimicrob Agents Chemother.* 2019; 63 (9): e01266-19. doi: 10.1128/AAC.01266-19
55. Azizov L., Eheck E., Sukhorukova M., Edelstein M. Plasmid-mediated resistance to colistin in clinical isolates of *Klebsiella* spp. and *Escherichia*

- coli*: results of large retrospective surveillance in Russia. ECCMID P1413, 2019. doi:10.13140/RG.2.2.34812.59527
56. Скурихина Ю. Е., Туркутжюков И.Б. Микробиологические и молекулярно-генетические аспекты антибиотикорезистентности *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii*. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2019; 18 (6): 14–38. doi:10.31631/2073-3046-2019-18-6-34-38 [Skurikhina Yu. E., Turkutjyukov I.B. Mikrobiologicheskie i molekulyarno-geneticheskie aspekty antibiotikorezistentnosti *Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter baumannii*. Epidemiologiya i vaksinoproflaktika. 2019; 18 (6): 14–38. doi:10.31631/2073-3046-2019-18-6-34-38 (in Russian)]
 57. Sulian O., Ageevets V., Lazareva I. et al. Co-production of MCR-1 and NDM-1 by *Escherichia coli* sequence type 31 isolated from a newborn in Moscow, Russia. Int J Infect Dis 2020; 101: 4–5. doi: 10.1016/j.ijid.2020.09
 58. Krylova E.V., Soltynskaya I., Bogomazova A., Pleskacheva M.A. Colistin resistance in *Escherichia coli* isolated from poultry in Russia. Journal of Infection and Public Health. 2020; 13 (2): 342. doi: 10.1016/j.jiph.2020.01.099
 59. Sulian O., Ageevets V., Lazareva I., Sukhinin A., Sidorenko S. Occurrence of colistin resistance genes *mcr-1* in livestock *E. coli* from in North-West of Russia. OHEJP ASM 2020 Abstracts book, 2020.
 60. Слукин П.В., Светоч Э.А., Асланян Е.М., Асташкин Е.И., Еришова М.Г., Полетаева Е.Д., Шепелин А.П., Фурсова Н.К. Фенотипические и молекулярно-генетические свойства клинических штаммов *Escherichia coli*, выделенных от пациентов с урологическими заболеваниями. Урология, 2020. 2. ОI: doi: 10.18565/urology.2020.2.23-30

Информация об авторах

Ageevets Vladimir Andreevich — к. б. н., Федеральное государственное бюджетное учреждение «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург, Russian Federation

Lazareva Irina Vladimirovna — к. м. н., Федеральное государственное бюджетное учреждение «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург, Russian Federation

Sulyan Ophelia Spartakovna — Федеральное государственное бюджетное учреждение «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург, Russian Federation

Sukhinin Alexander Alexandrovich — Санкт-Петербургский Государственный университет ветеринарной медицины, Санкт-Петербург, Russian Federation

About the authors

Vladimir A. Ageevets — Ph. D. in Biology, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, Saint Petersburg, Russian Federation

Ophelia S. Sulyan — Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, Saint Petersburg State Academy of Veterinary Medicine, Saint Petersburg, Russia

Irina V. Lazareva — Ph.D. in Medicine, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, Saint Petersburg, Russian Federation

Alexander A. Sukhinin — Saint Petersburg State Academy of Veterinary Medicine, Saint Petersburg, Russian Federation

Перспектива сукцинатов в условиях гипоксии при Covid-19

*Ю. П. ОРЛОВ¹, В. В. АФАНАСЬЕВ², И. А. ХИЛЕНКО³

¹ Омский государственный медицинский университет, Омск, Россия

² Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

³ БУЗОО «Городская клиническая больница № 11», Омск, Россия

The Prospects of Succinates' Use under Hypoxic Conditions in COVID-19

YURY P. ORLOV, VASILY V. AFANASYEV, IRINA A. KHILENKO

¹ Omsk State Medical University, Omsk, Russian Federation

² North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russian Federation

³ City Clinical Hospital No. 11, Omsk, Russian Federation

Резюме

Цель. Поиск материалов экспериментальных и клинических исследований, отражающих патогенетическую роль возможного использования сукцинатов в коррекции гипоксии при COVID-19.

Материалы и методы. Проанализировано 79 зарубежных и отечественных литературных источников, касающихся патогенеза COVID-19 и патогенетической роли сукцинатов при гипоксии в условиях COVID-19, окислительного стресса и диафрагмальной дисфункции. Поиск литературы проводился по базам данным Pubmed, ELIBRARY.ru.

Результаты. Как показал анализ литературы в основе патогенеза COVID-19 лежит гипоксия тканей, запускающая весь каскад патоморфологических событий, приводящих к развитию полиорганной недостаточности. В ряде экспериментальных и клинических исследований (на достаточно большом числе пациентов) отражён положительный эффект коррекции гипоксии тканей с использованием сукцинатов как у взрослых пациентов, так и у детей при различном спектре патологии, сопряжённой с синдромом острой дыхательной недостаточности.

Заключение. Анализ литературных данных позволяет обосновать перспективу использования препаратов, содержащих сукцинат (реамберин, цитофлавин), в комплексной терапии тяжёлых случаев течения COVID-19.

Ключевые слова: COVID-19; гипоксия; окислительный стресс; диафрагмальная дисфункция; сукцинаты

Для цитирования: Орлов Ю.П., Афанасьев В.В., Хиленко И.А. Перспектива сукцинатов в условиях гипоксии при COVID-19. *Антибиотики и химиотерапия.* 2021; 66: 1–2: 65–74. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-1-2-65-74.

Abstract

The aim of the work was the search for materials from experimental and clinical studies reflecting the pathogenetic role of the possible use of succinates for the correction of hypoxia in COVID-19.

Materials and methods. 79 foreign and domestic literature sources were analyzed concerning the pathogenesis of COVID-19 and the pathogenetic role of succinates in hypoxia under conditions of COVID-19, oxidative stress, and diaphragmatic dysfunction were analyzed. The literature search was carried out using Pubmed and ELIBRARY.ru databases.

Results. As the analysis of the literature has shown, tissue hypoxia is the basis of COVID-19 pathogenesis, triggering the entire cascade of pathomorphological events leading to the development of multiple organ failure. A number of experimental and clinical studies (on a fairly large number of patients) reflect the positive effect of tissue hypoxia correction using succinates, both in adult patients and in children with a different spectrum of pathology associated with acute respiratory failure syndrome.

Conclusion. Analysis of literature data allows to substantiate the prospect of using preparations containing succinate (reamberin, cytoflavin) in the complex therapy of severe cases of COVID-19.

Keywords: COVID-19; hypoxia; oxidative stress; diaphragmatic dysfunction; succinates

For citation: Orlov Yu.P., Afanasyev V.V., Khilenko I.A. The prospects of succinates' use under hypoxic conditions in COVID-19. *Antibiotiki i Khimioterapiya.* 2021; 66: 1–2: 65–74. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-1-2-65-74.

Введение

Данные, полученные из опыта многочисленных центров по всему миру, показали, что первоначальные клинические усилия должны быть со-

средоточены на том, чтобы избежать интубации и механической вентиляции лёгких у пациентов с гипоксемией и гипоксией при COVID-19. С другой стороны, пациенты с COVID-19, прогрессирующие или переходящие в ОРДС с типичным

© Коллектив авторов, 2021

*Адрес для корреспонденции: ул. Ленина, 12, г. Омск, 644043. E-mail: orlov-up@mail.ru

© Team of Authors 2021

*Correspondence to: E-mail: orlov-up@mail.ru

снижением лёгочной комплаентности, представляют собой ещё одну клиническую загадку для многих клиницистов, поскольку рутинные терапевтические вмешательства при ОРДС всё ещё являются предметом дискуссий.

Универсальность фармакологического воздействия препаратов, корригирующих тем или иным образом гипоксию, обеспечивается тем, что кислородное голодание тканей является неспецифическим звеном патогенеза значительного числа нозологических форм [1]. Иными словами, гипоксия — типовой патологический процесс, не имеющий этиологической и нозологической специфичности. Аппарат аэробного синтеза энергии (в митохондриях) имеется в подавляющем большинстве клеток млекопитающих, и организация энергосинтезирующих процессов в них построена по единому принципу [2]. Сенсорная (сигнальная) функция митохондриальной дыхательной цепи по отношению к кислороду заключается в том, что дефицит O_2 всегда приводит к снижению уровней энергии, необходимых для поддержания биологических функций любой клетки. O_2 действует как конечный акцептор электронов во время окислительного фосфорилирования, серии реакций синтеза АТФ, которые происходят совместно с электронной транспортной системой в митохондриях. Поэтому биоэнергетические нарушения при гипоксии в разных тканях и органах также развиваются по сходному механизму, хотя имеются тканеспецифические, органоспецифические и цитоспецифические (различные патохимические сигналинги) индивидуальные различия, отражающие чувствительность органа к дефициту кислорода [3].

В то же время клетки разных органов и тканей отличаются набором характерных для них специфических энергопотребляющих процессов [4]. В нейронах — это электрогенная функция, в миоцитах и кардиомиоцитах — сократительная функция, в печени — синтетические энергозависимые процессы, в почках — секреторная функция и пр. [4]. В силу этого один и тот же механизм нарушения энергетического обмена в разных клетках приводит к подавлению чрезвычайно широкого спектра энергозависимых функций — мультифункциональные повреждения при гипоксии, которые и определяют развитие полиорганной недостаточности. Восстановление работы этого одного звена — молекулярной мишени — устраняет одновременно весь комплекс сопряжённых функциональных нарушений. Именно поэтому энергокорректирующие препараты характеризуются очень широким спектром положительного влияния на функциональную активность организма [5]. Многие компенсаторные механизмы существуют на глобальном, региональном и клеточном уровнях, чтобы позволить

клеткам функционировать в гипоксической среде. Клиническое лечение тканевой гипоксии обычно фокусируется на глобальной гипоксемии и доставке кислорода. По мере продвижения в будущее клинический фокус должен измениться на оценку и управление критически важной региональной гипоксией. Мы также должны сосредоточиться на понимании и более эффективном использовании собственных адаптационных механизмов организма к гипоксии [6].

Цель обзора — поиск публикаций, позволяющих на основании современных данных о патогенезе COVID-19 патогенетически обосновать использование препаратов, содержащих янтарную кислоту, в терапии пациентов с COVID-19.

Гипоксия в патогенезе COVID-19

Начальным этапом заражения является проникновение SARS-CoV-2 в клетки-мишени, имеющие рецепторы ангиотензинпревращающего фермента II типа (АПФ2). Рецепторы АПФ2 представлены в клетках дыхательного тракта, почек, пищевода, мочевого пузыря, подвздошной кишки, сердца, ЦНС и лёгких, поэтому основной и быстро достижимой мишенью вируса являются альвеолярные клетки (особенно подтип AT2) лёгких, что и определяет в дальнейшем развитие пневмонии [7].

В патогенезе COVID-19, без сомнения, важнейшую роль играет и поражение микроциркуляторного русла, генез которого требует дальнейшего изучения, но наиболее вероятным представляется прямое вирусное повреждение эндотелиоцитов [8]. Рецептор АПФ2 также присутствует в артериальных и венозных эндотелиальных клетках и в артериальных гладкомышечных клетках многих органов. Репликация вируса вызывает прямое повреждение и гибель клеток с высвобождением из них провоспалительных факторов [7]. Для COVID-19 характерны выраженные полнокровие капилляров межальвеолярных перегородок, а также ветвей лёгочных артерий и вен. При патоморфологическом исследовании обнаруживаются сладжи эритроцитов, свежие фибриновые и организующиеся тромбы, внутрибронхиальные, внутрибронхиолярные и интраальвеолярные кровоизлияния, являющиеся патогенетической основой кровохарканья, а также периваскулярные кровоизлияния [8]. В рамках массивного иммунного ответа хозяина лимфоциты, альвеолярные макрофаги, моноциты и нейтрофилы реализуют свои провоспалительные ответы, вызывая дополнительное повреждение тканей, включая массивное повреждение альвеолярных и эндотелиальных клеток сосудов, а также микросудистый тромбоз [8].

Функциональные последствия этого специфического ОРДС включают прогрессирующее усиление вентиляционно/перфузионного дисбаланса и утрату рефлекса гипоксической вазоконстрикции с выраженным компонентом микрососудистого тромбоза лёгких, что подтверждается повышением уровня лактатдегидрогеназы и D-димера [9]. На поздних стадиях ОРДС прогрессирующее повреждение эндотелия в сочетании с закономерным микрососудистым тромбозом может переходить в системную воспалительную реакцию с вовлечением микрососудистого русла почек, головного мозга и других жизненно важных органов [9]. С учётом вышеизложенного, патогенез COVID-19 сегодня может быть рассмотрен, в первую очередь, как следствие эндотелиального повреждения альвеолярных капилляров, приводящего к прогрессирующему эндотелиальному лёгочному синдрому с микрососудистым тромбозом, именуемым термином «MicroCLOTS» [9]. Таким образом, как и при других коронавирусных инфекциях, а также при гриппе A/H1N1, основным морфологическим субстратом COVID-19 является диффузное повреждение эндотелия капилляров альвеол, приводящие к типовому патологическому процессу — гипоксии, которая, по сути и является причиной полиорганной дисфункции и смерти больных с COVID-19 [10].

Таким образом, патогенез COVID-19 может быть рассмотрен в цепи следующих событий: 1 → внедрение возбудителя в альвеолярные клетки II типа лёгких; 2 → развитие диффузного альвеолярного повреждения; 3 → уменьшение площади «дышащих» альвеол; 4 → диффузное уплотнение лёгких; 5 → гипоперфузия в капиллярах лёгких, выраженное полнокровие капилляров межальвеолярных перегородок, сладжи эритроцитов; 6 → внутрибронхиальные, внутрибронхиолярные и интраальвеолярные кровоизлияния; 7 → уменьшение диффузии кислорода в системный кровоток; 8 → гипоксемия и гипоксия клеток эндотелия ветвей лёгочных артерий и вен; 9 → гиперфибриногенемия и организация тромбов; 10 → воспаление.

Очевидно, что, начиная со второго этапа, вся патогенетическая цепочка носит явную гипоксическую направленность, и все структурно-метаболические повреждения являются прямым или косвенным следствием гипоксии! Кислородное голодание встречается при многих физиологических состояниях и заболеваниях сердечно-сосудистой системы, лёгких, крови и др., а также при отравлениях различными лекарственными препаратами и ядами [11]. В зависимости от глубины кислородного голодания различают гипоксию и аноксию. На уровне митохондрий состояния гипоксии и аноксии отличаются по степени восстановления дыхательных переносчиков. При

аноксии, характеризующейся полным отсутствием доставки кислорода к клеткам, все переносчики дыхательной цепи полностью восстановлены, но не работают, так как нет кислорода. При гипоксии же, когда доставка кислорода частично сохранена, наиболее удалённые от кислорода пиридин-нуклеотиды — НАД и НАДФ, как правило, восстановлены на 100%, однако часть флавопротеидов и цитохромный участок дыхательной цепи остаются в значительной мере окисленными [12]. Оказалось, что в условиях гипоксии имеется возможность для преимущественного окисления янтарной кислоты, поскольку сукцинатдегидрогеназа в отличие от большинства других дегидрогеназ является флавопротеидом ферментом [13].

Сегодня известно, что в анаэробных условиях сукцинат не окисляется, а наоборот, накапливается в результате образования из НАД-зависимых субстратов и аминокислот [14]. Сегодня уже доказано, что анаэробное образование сукцината может идти не только при аноксии, но и при гипоксии [15]. В результате может поддерживаться высокая активность гликолиза при относительно небольшом приросте лактата. Конечными продуктами анаэробного обмена при этом являются не только лактат и пируват, но ещё аланин и сукцинат [16].

В ряде фундаментальных исследований показано, что повышение устойчивости клеток и митохондрий к гипоксии при активации анаэробного окисления сукцината обусловлено тем, что именно процесс анаэробного образования сукцината обеспечивает протекание ряда ферментативных реакций в цикле трикарбоновых кислот и в дыхательной цепи, несмотря на отсутствие кислорода. При этом скорости тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования при окислении сукцината намного выше, чем при окислении пирувата [12].

Представленные данные свидетельствуют о важной роли анаэробного образования сукцината при анаэробных и гипоксических состояниях, а также об активации окисления сукцината в условиях гипоксии. Отсюда следует, что в качестве средств поддержания энергетики животных клеток в условиях кислородного голодания при аноксии и гипоксии целесообразно использовать субстраты, способные участвовать в анаэробном образовании сукцината, тогда как в гипоксических условиях имеет смысл использовать собственно сукцинат [11].

Воспаление и гипоксия приводят к активации иммунных клеток и высвобождению последними новой порции медиаторов (цитокиновый шторм) вследствие формирования неконтролируемой положительной обратной связи между воспалением и гипоксией [17]. Нейтрофилы яв-

ляются ключевыми эффекторными клетками врождённого иммунитета, быстро синтезируемыми для защиты хозяина от вторжения патогенов. Нейтрофилы могут «убивать» патогенные микроорганизмы внутриклеточно, путём фагоцитоза, или внеклеточно, путём дегрануляции и высвобождения внеклеточных ловушек нейтрофилов. Порочный круг вызывает разрушение тканей в очаге воспаления с одновременным распространением гипоксического эквивалента реакции на соседние ткани (некий вариант масс-эффекта). Таким образом, гипоксия по мере прогрессирования приобретает системный характер, охватывая весь организм в целом. Цепь дальнейших событий может выглядеть как продолжение ответа на гипоксию: 11 → цитокиновый шторм; 12 → активация Т-клеток, макрофагов; 13 → манифестация воспаления, усугубление локальной гипоксии; 14 → генерализация расстройств гемодинамики, гемостаза, ухудшение доставки кислорода; 15 → генерализация гипоксии клеток различных органов; 16 → полиорганная недостаточность; 17 → летальный исход.

Окислительный стресс в патогенезе COVID-19

Снижение энергетического обмена, изменение окислительно-восстановительного состояния, порождает окислительное повреждение и гибель клеток. Некоторые авторы предлагают рассматривать окислительный стресс (ОС) в качестве «ключевого игрока» в патогенезе COVID-19 [18, 19]. Кроме того, воспаление может усиливать реакции ОС. Нейтрофилия, кроме того, генерирует избыток активных форм кислорода (АФК), который усугубляет иммунопатологический ответ хозяина, приводя к более тяжёлому течению заболевания [20]. ОС увеличивает образование нейтрофильных внеклеточных ловушек (сетей) и подавляет адаптивное звено иммунной системы — Т-клетки, осуществляющие уничтожение инфицированных вирусом клеток. Это создает порочный круг, который препятствует специфическому иммунному ответу против COVID-19 [20]. При COVID-19 концентрация НАД⁺ в клетках, необходимая для окисления, и количество АТФ, предназначенное для фосфорилирования субстратов анаэробного гликолиза, критически снижаются. Именно это обстоятельство играет роль в танатогенезе COVID-19, возникающего у тучных людей, пациентов, страдающих сахарным диабетом 2 типа в сочетании с COVID-19 и у «возрастных» больных [21]. Автор считает критическое снижение анаэробного гликолиза «Аппиевой дорогой» в последовательности патохимических каскадов, приводящих больного с COVID-19 к смерти и предлагает использовать у таких пациентов никотинамид. Коктейли с никотинамидом оказывают

выраженное лечебное действие при COVID-19, особенно у лиц пожилого возраста [22].

В литературе имеются данные о прямой связи иммунитета с ОС и антиоксидантным статусом пациентов с COVID-19 [23]. Дело в том, что в иммунных клетках переход из неактивного состояния в «воспалительное» (активное), а затем в «поствоспалительное» сопровождается метаболическим перепрограммированием, как это происходит при сепсисе [24]. Перепрограммирование метаболизма гарантирует, что клетки обладают достаточным окислительно-восстановительным потенциалом и достаточной энергией для выполнения своих новых ролей, включая вступление в клеточный цикл для размножения, выполнение окислительного взрыва или вступление в регулируемый апоптоз, пироптоз, но не некроз [25]. S. Li и соавт. продемонстрировали в условиях эксперимента метаболическое подавление окислительного фосфорилирования и деятельности цикла трикарбоновых кислот (цикл Кребса) во многих органах при SARS-CoV-2, что было сопряжено с нейтрофилией, лимфопенией и атрофией селезёнки. Частота сердечных сокращений у экспериментальных животных была значительно ниже, а электронная микроскопия продемонстрировала миофибриллярное расстройство и отёк миокарда, аналогичные находкам у пациентов с COVID-19 [25].

Митохондрии хорошо предрасположены к перепрограммированию метаболизма, поскольку они являются «привратником» потока углеводов, а также основным регулятором клеточной реакции NAD⁺/NADH [26]. Когда метаболизм активен, он уменьшает митохондриальный НАД⁺, а когда он ингибируется, он перенаправляет метаболизм пирувата в цитоплазму, где лактатдегидрогеназа уменьшает количество пирувата путём окисления НАДН [27].

Антиоксидантная недостаточность — это результат воздействия ОС и расстройств метаболизма митохондрий в виде избыточной продукции АФК — супероксидного радикала (O₂⁻), перекиси водорода (H₂O₂), а также недостаточного присутствия антиоксидантов в лице каталазы, супероксиддисмуазы (СОД) и других ферментов в условиях гипоксии и, конечно, ацидоза. Недостаточность каталазы и СОД у пациентов с COVID-19, особенно пожилых, подтверждается многими исследованиями. Как известно, в лёгких каталаза и внеклеточная СОД синтезируются на высоких уровнях как раз в альвеолярных клетках II типа. Помимо нормальной перексисомной локализации, каталаза секретируется во внеклеточное пространство ещё и альвеолярными макрофагами [28], но происходит это по механизму, отличному от классического секреторного пути. A. Abouhashem и соавт. [28] было показано, что пожилые пациенты COVID-19, имеющие более

высокий риск смерти от этого заболевания, экспрессируют гораздо меньше СОД из альвеолярных клеток, чем более молодые пациенты, предполагая важную роль СОД в защите от цитокинового шторма (ЦШ), так как элементы системы антиоксидантной защиты ослабевают с возрастом. Как известно, O_2 и H_2O_2 образуются в результате утечки электронов из донорных окислительно-восстановительных центров митохондриальной цепи переноса электронов и связанных с ними метаболических ферментов, вызывающих одно- или двухэлектронное восстановление кислорода. Указанные антиоксидантные ферменты снижают концентрацию токсичных O_2 и H_2O_2 во внеклеточных жидкостях, предотвращая окислительное повреждение внеклеточных структур [29].

Таким образом, появляется все больше свидетельств того, что иммунная система недостаточно реагирует на атипичную пневмонию за счёт подавляющего синтеза АФК, приводящего к ОС. Иммунные клетки рекрутируются в повреждённый участок, что приводит к «дыхательному взрыву» лейкоцитов, а значит, повышенному образованию и накоплению АФК. Именно ОС является основной причиной локального или системного повреждения тканей, которое и приводит к тяжёлому течению COVID-19. Активация иммунных клеток приводит к приобретению новых функций, таких как пролиферация, хемотаксис и выработка цитокинов. Эти функциональные изменения требуют непрерывной метаболической адаптации, чтобы поддерживать гомеостаз АТФ для достаточной защиты хозяина. Биоэнергетические потребности обычно удовлетворяются взаимосвязанными метаболическими путями гликолиза, цикла Кребса и окислительного фосфорилирования. Но питать цикл Кребса, помимо глюкозы, способны также другие источники, такие как жирные кислоты и глютамин [30]. Ключевая роль ОС в патогенезе тяжёлой формы COVID-19 подразумевает, что терапевтическое уравновешивание АФК антиоксидантами, по мнению авторов, может предотвратить её развитие [31, 32]. Каскад событий, вызванных развитием ОС при инфекции COVID-19, несомненно, вносит свой вклад в тяжесть заболевания и нуждается в дальнейшем изучении.

Таким образом, только клеточная гипоксия, как следствие всей совокупности расстройств в лёгких и на уровне эндотелия капилляров, приводит к «цитокинному шторму» в ответ на гипоксемию и воспаление. Во время цитокинового шторма метаболическая адаптация к гипоксии нарушается из-за повышенного АФК и активных форм азота. Продукты гипоксического метаболизма повреждают клеточные структуры, нарушают регуляцию и инактивируют многие ферменты центрального энергетического метаболизма — синтеза АТФ,

включая, в первую очередь, комплекс субстратов цикла Кребса. Это приводит к энергетическому и окислительно-восстановительному кризису, который, в свою очередь, уменьшает пролиферацию В- и Т-клеток, приводит к увеличению продукции цитокинов и гибели клеток [33]. Уровни АФК и активных форм азота во время вирусно-индуцированного цитокинового шторма при гипоксии повышаются в лёгких и других органах, что приводит к снижению экспрессии генов митохондриальной электронной транспортной цепи, что увеличивает продукцию супероксидного радикала (O_2^-) митохондриями [34]. Накопление АФК и истощение антиоксидантных систем приводит к развитию ОС, хронической активации как иммунных реакций, так и воспаления [35]. Благодаря способности АФК вступать в реакцию практически с любыми биологическими молекулами, включая белки, липиды и нуклеиновые кислоты, их длительно сохраняющееся повышение всегда связано с нестабильностью генома, дисфункцией органелл и апоптозом.

Механизмы формирования дисфункции диафрагмы в развитии гипоксии

Определённая патогенетическая роль в гипоксическом каскаде при COVID-19 принадлежит дисфункции диафрагмы. Диафрагма является главной мышцей вдоха, и её функция играет решающую роль в обеспечении оптимального дыхания. Диафрагмальная недостаточность уже давно признана одним из основных факторов смерти при различных системных нервно-мышечных расстройствах. В чем же причины, каковы последствия и каким должно быть лечение нарушений, приводящих к приобретённой дисфункции диафрагмы во время критического заболевания?

К сожалению, несмотря на доказанность положения о том, что дисфункция дыхательной мускулатуры является распространённой формой органной недостаточности при критических заболеваниях и связана с плохими острыми и долгосрочными исходами, клиницисты часто не учитывают этот патогенетический фактор. Теоретически любой пациент, нуждающийся в искусственной вентиляции лёгких, должен быть отнесён к группе риска по развитию слабости диафрагмы [36], а по сути — уже её имеет фактически. Недавнее исследование показало, что слабость диафрагмы присутствует в два раза чаще, чем слабость конечностей у тяжелобольных пациентов [37]. Дополнительные исследования подтвердили, что в среднем от 60 до 80% механически вентилируемых пациентов имеют клинически значимую дисфункцию диафрагмы [38]. Было высказано предположение, что значительная частота разви-

тия слабости диафрагмы может быть связана с отсутствием знаний о влиянии критического заболевания на дыхательные мышцы и/или с ограниченной доступностью инструментов для оценки и мониторинга функции диафрагмы у пациентов в отделении интенсивной терапии.

Патофизиологические механизмы, ответственные за развитие дисфункции диафрагмы прямо связаны с изменениями в метаболизме мышц. Это происходит за счёт стимуляции выработки митохондриальных свободных радикалов и индуцирования клеточного окислительного стресса, который повреждает митохондриальные субъединицы электронной транспортной цепи, способствует снижению мышечной выносливости, а также активирует пути протеолитических ферментов, приводя к снижению сократительных белков и уменьшению мышечной силы [39].

В недавнем экспериментальном исследовании [40] изучили влияние сукцината на состав скелетных мышечных волокон, их метаболизм и толерантность к физической нагрузке. Авторами был предложен вариант использования сукцината для коррекции слабости скелетной мускулатуры. Оказалось, что сукцинат индуцирует переход скелетных мышечных волокон через сигнальный путь, обеспечиваемый сукцинатзависимым рецептором SUNCR1. Добавки сукцината увеличивают выносливость, экспрессию тяжёлой цепи миозина, активность аэробных ферментов, потребление кислорода и митохондриальный биогенез в скелетных мышцах и, напротив, снижают активность лактатдегидрогеназы, продукцию лактата, могут увеличить доступность кислорода и уменьшить мышечную усталость. Вместе эти результаты показывают, что сукцинат индуцирует ремоделирование скелетных мышечных волокон, способствуя биосинтезу митохондрий и аэробному окислению [40]. Полученные T. Wang и соавт. результаты свидетельствуют о том, что усиленное аэробное окисление происходит главным образом за счёт увеличения числа митохондрий (клеточной плотности митохондрий), а также увеличения содержания митохондриальной ДНК и мембранного потенциала митохондрий, что указывает на прямую роль сукцината в митохондриальном биогенезе. При этом обращается внимание на то, что сукцинат не только действует как метаболит в цикле трикарбоновых кислот, но и выполняет гормоноподобную функцию через активацию различных внутриклеточных путей.

Перспектива использования сукцинатов при COVID-19

Основным подходом к терапии COVID-19, по мнению авторов ряда отечественных и зарубежных рекомендаций, должно быть упреждающее

лечение — до развития полного симптомокомплекса жизнеугрожающих состояний, а именно пневмонии, ОРДС, сепсиса. Но как следует из вышеприведённых данных, в основе жизнеугрожающих состояний всегда лежит гипоксия, которая по ряду причин является длительным спутником любого критического состояния, и тяжёлые формы течения COVID-19 не являются исключением. Поэтому вполне разумно рассмотрение тактики использования сукцинатов, как природного продукта для адаптации к гипоксии, и здесь, да простят нас скептики, уместно рассмотрение ряда отечественных публикаций.

При тяжёлом вирусном поражении верхних дыхательных путей формируются изменения ряда показателей гомеостаза, в том числе гемореологических и гемодинамических. Это приводит к снижению перфузии тканей и развитию локальной гипоксии, антиоксидантной недостаточности, ОС и ацидозу, накоплению продуктов перекисного окисления липидов, развитию полиорганной недостаточности, но уже на фоне системной гипоксии. Под ОС понимается отсутствие баланса между прооксидантными и антиоксидантными факторами.

Антиоксидантное вмешательство против радикального перекисного окисления липидов может включать в себя различные механизмы. Антиоксиданты, разрушающие цепи, называются первичными антиоксидантами, они действуют путём поглощения радикалов, превращая их в более стабильные или нерадикальные агенты. Вторичные антиоксиданты гасят синглетный кислород, разлагают пероксиды, хелатируют прооксидантные ионы металлов, ингибируют окислительные ферменты.

Высокая антигипоксическая и антиоксидантная активность сукцинатов нашла реализацию в инфузионной среде «Реамберин» (натрий N-метилглутаминовая соль янтарной кислоты и электролиты в оптимальных концентрациях) и комбинированном препарате «Цитофлавин» (янтарная кислота 300 мг, инозин (рибоксин) 50 мг, никотинамид 25 мг, рибофлавина мононуклеотид 5 мг). В данном случае корректором гипоксии тканей является сукцинатоксидазное окисление, которое достигается путём повышения активности сукцинатдегидрогеназы и улучшением проникновения экзогенного сукцината в митохондрии клетки [11]. Меглумин входит в состав обоих препаратов и является вспомогательным веществом, обеспечивая трансмембранный массоперенос их ингредиентов [41, 42]. В отношении никотинамида следует отметить, что, по последним данным, он сохраняет NAD⁺ и предотвращает истощение АТФ, усиливает синтез NAD⁺ и, следовательно, NADP⁺, обращает вспять повреждение лёгких, вызванное ишемией/реперфузией, ингибирует провоспалительные цитокины [22].

По данным большого количества исследований, Реамберин обладает волемиическим, гепатопротекторным и диуретическим эффектом, что способствует улучшению микроциркуляции в органах и тканях. При введении Реамберина наблюдается положительная динамика течения воспаления, отражением чего служат: снижение лейкоцитоза, нормализация лейкоцитарной формулы (снижение выраженности регенераторного ядерного сдвига нейтрофилов, нарастание процентного содержания лимфоцитов), снижение СОЭ и уровней провоспалительных цитокинов в крови [41]. Реамберин способствует быстрому купированию метаболического ацидоза у детей [42]. Авторы отмечают, что, вероятнее всего, положительный клинический эффект растворов сукцината при диабетическом кетоацидозе, включая регресс самого кетоацидоза, обусловлен нормализацией объёма циркулирующей крови, восстановлением физиологического электролитного состава плазмы и вовлечением в реакции промежуточного обмена избытка ацетил-КоА [41, 42].

При изучении эффективности Реамберина для коррекции гемореологических нарушений при острых респираторных вирусных инфекциях было установлено достоверно более быстрое купирование клинических симптомов болезни и позитивное влияние препарата на показатели реологических свойств крови [43]. При включении Реамберина в программу инфузионной терапии 130 детей в возрасте от 5 мес. до 12 лет с тяжёлым течением гриппа отмечено снижение уровня СРБ и гематологических показателей интоксикации. Это свидетельствует о выраженном детоксикационном действии препарата, что позволяет быстро купировать клинические симптомы заболевания и сокращает продолжительность стационарного лечения [44].

Кроме того, было продемонстрировано, что Реамберин позволяет предотвратить развитие периоперационной гипотермии, являющейся следствием гипоксии, причём как у детей, так и у взрослых [45, 46], что подтверждает его активное участие в окислительном метаболизме. Сукцинат проявляет также выраженное железо-хелатирующее действие и антиоксидантную активность [47].

Обладая таким перечнем биологических эффектов, сукцинаты могут быть эффективно использованы как вспомогательное средство при лечении не только пневмоний, но и у пациентов с сопровождающимся развитием полиорганной недостаточности. Клинические исследования показали, что проведение интенсивной терапии с использованием реамберина у пациентов, например, с разлитым перитонитом позволило существенно компенсировать метаболические процессы на уровне тканей [47]. В основных группах (где у 40 пациентов использовали Реамберин) в

послеоперационном периоде ко 2-м суткам по сравнению с исходными данными достоверно ($p < 0,05$) улучшалось общее состояние (снижались баллы по шкале APACHE II), а в биохимическом анализе крови отмечалось активное снижение концентрации ферритина (более чем в 3 раза), увеличение трансферриновой ёмкости (на 32%) и нормализация ($p < 0,05$) уровня церулоплазмينا — белка, составляющего лабильную антиоксидантную систему организма [47]. При этом регистрировалось достоверное уменьшение общей антиоксидантной активности (ОАА) в крови (на 60%) и, как следствие, снижение концентрации малонового диальдегида (в 2 раза) и лактата (в 3,8 раза), что указывало на достоверное снижение напряжённости в реакциях свободно-радикального окисления и перекисного окисления липидов. Необходимо отметить, что положительная динамика со стороны белков острой фазы, лактата и ферментов антиоксидантной защиты довольно высоко коррелировала со степенью выраженности гипоксии [47, 48]. Показатели корреляционной зависимости, без сомнения, указывают на факт тесной связи окислительно-восстановительных процессов и метаболического благополучия на уровне тканей с интенсивностью свободно-радикального окисления и обменом железа, играющего важную роль в энергоёмких биохимических процессах, происходящих в цикле Кребса при критических состояниях, и, возможно, при COVID-19. Рост показателя ОАА на фоне терапии Реамберином также связан с уменьшением синтеза АФК, что подтверждается и в зарубежных, и в отечественных публикациях [49, 50].

Представляется также обоснованной перспектива эффективного применения сукцината при диафрагмальной дисфункции, о роли которой в развитии критических состояний упоминалось выше [39, 40]. Здесь уместно привести интересный факт, что ещё в 1924 г. D. M. Moyle, изучая содержание янтарной кислоты в гомогенате мышечной ткани грудной мышцы голубя, выявила увеличение выхода янтарной кислоты в анаэробных условиях и аналогичное увеличение сукцината при добавлении к гомогенату глютаминовой и аспарагиновой кислот [51, 52]. M. Moyle сообщала, что о природе предшественника янтарной кислоты данных нет, но очень вероятно, что синтез кислоты происходит при участии фумаровой и яблочной кислот. Однако здесь же автор делится наблюдением, что окисление яблочной и фумаровой кислот прекращается через 1–2 ч после смерти животного, а синтез янтарной кислоты продолжается энергично в течение многих часов. Исследования D. Moyle выяснили ещё одну интересную деталь. Оказывается, аспарагиновая и глютаминовая кислоты, добавленные к гомогенату мышц в анаэробных условиях, приводят к

увеличению содержания в ткани янтарной, fumarовой и яблочных кислот. Причём из смеси двух аминокислот образовывались все вышеозначенные, а из глутаминовой кислоты синтезировалась только янтарная кислота [52]. Это очень интересный факт, который сегодня с успехом может использоваться для обоснования возможности эндогенного синтеза сукцината в условиях гипоксии при развитии усталости мышц, участвующих в механизме дыхания.

По мнению А. Reddy и соавт. [53], в ответ на сокращение скелетных мышц во время тренировки паракринные факторы координируют с помощью сукцината ремоделирование тканей, которое лежит в основе этой физиологической адаптации. При секреции сукцинат сигнализирует через свой родственный рецептор SUCNR1 в немиофибриллярных клетках мышечной ткани, чтобы контролировать транскрипционные программы ремоделирования мышц. Эта сигнализация сукцината-SUCNR1 необходима для паракринной регуляции мышечной иннервации, ремоделирования мышечного матрикса и мышечной силы в ответ на физические упражнения [53]. Таким образом, янтарная кислота может не только играть важную роль в аутокринной регуляции метаболизма скелетных мышц, но и улучшать их способность адаптироваться к ишемической/гипоксической среде. Эти данные свидетельствуют о потенциальной пользе соединений на основе сукцината как в спортивных, так и в малоподвижных популяциях, коими являются пациенты с COVID-19, длительно находящиеся в условиях гипоккинезии и, тем более, в условиях неинвазивной или инвазивной искусственной вентиляции лёгких [54].

При назначении Реамберина больным COVID-19 следует помнить, что все они получают многокомпонентную терапию. Реамерин, ощелачивая мочу, может изменять реабсорбцию препаратов в канальцах почек. Диуретический эффект Реамберина не зависит от его максимальной концентрации и наиболее выражен через 6–12 ч от начала его введения [50]. Следует помнить,

что Реамберин — препарат гликолитического действия, выполняющий своеобразное «фармакологическое протезирование» в митохондриях. Запуская парциальные реакции цикла Кребса, он может «утягивать» в эту биотрансформацию глюкозу и вызывать снижение её уровня в плазме крови (особенно при быстром введении, более 40 мл/мин). Интервал «снижения» составляет 48–72 ч от начала введения реамберина. Реамберин улучшает кислородно-транспортную функцию крови, вызывая сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина влево и повышает потребление O_2 тканями [50].

Заключение

Основными методами коррекции гипоксии и устранения гипоксии являются респираторная поддержка (оксигенотерапия, искусственная вентиляция лёгких), инфузионная терапия, катехоламиновая поддержка и гемотрансфузия по показаниям. При этом следует помнить, что все указанные стратегии интенсивной терапии должны применяться комплексно, поскольку в противном случае эффект терапии будет минимальным или вообще не будет достигнут. Это связано с тем, что достаточное поступление кислорода извне ещё отнюдь не означает его адекватного транспорта на системном уровне и адекватного потребления на уровне тканей и клеток. Об этом свидетельствует и широко известное изречение одного из основоположников современной анестезиологии Роберта Макинтоша: «В добром Божьем воздухе достаточно кислорода: надо только суметь довести его до больного». Таким образом, главная задача терапии любого критического состояния и тяжёлых форм COVID-19 — это обеспечение не только адекватного поступления кислорода, но и его транспорта к клеткам, а также поддержание оптимальных условий для его утилизации, где принципиально важную роль могут играть препараты, содержащие сукцинат и используемые в структуре комплексной терапии.

Литература/References

1. *MacIntyre N.R.* Tissue hypoxia: implications for the respiratory clinician. *Respir Care.* 2014 Oct; 59 (10): 1590–1596. doi:10.4187/respcare.03357
2. *MacIntyre N.R.* Supporting oxygenation in acute respiratory failure. *Respir Care.* 2013 Jan; 58 (1): 142–150. doi: 10.4187/respcare.02087. PMID: 23271824.
3. *Larosa V., Remacle C.* Insights into the respiratory chain and oxidative stress. *Biosci Rep.* 2018 Oct 2;38(5):BSR20171492. doi: 10.1042/BSR20171492. PMID: 30201689; PMCID: PMC6167499
4. *Fernie A.R., Carrari E., Sweetlove L.J.* Respiratory metabolism: glycolysis, the TCA cycle and mitochondrial electron transport. *Curr Opin Plant Biol.* 2004 Jun; 7 (3): 254–261. doi: 10.1016/j.pbi.2004.03.007. PMID: 15134745
5. *Оковитый С. В., Суханов Д. С., Заплутанов В. А., Смагина А. Н.* Антигипоксанты в современной клинической практике. *Клин мед.* 2012; 90 (9): 63–68. [*Okovityj S. V., Sukhanov D. S., Zaplutanov V.A., Smagina A. N.* Antigipoksanty v sovremennoj klinicheskoj praktike. *Klin Med.* 2012; 90 (9): 63–68 (in Russian)]

6. *Маевский Е. И., Гришина Е. В., Розенфельд А. С., Зякун А. М., Верещagina В. М., Кондрашова М. Н.* Анаэробное образование сукцината и облегчение его окисления — возможные механизмы адаптации клеток к кислородной недостаточности. *Биофизика.* 2000; 45 (3): 509–513. [*Maevskij E. I., Grishina E. V., Rozenfel'd A. S., Zyakun A. M., Vereshchagina V. M., Kondrashova M. N.* Anaerobnoe obrazovanie suksinata i oblegchenie ego okisleniya-vozmozhnyye mekhanizmy adaptatsii kletok k kislorodnoj nedostatochnosti. *Biofizika.* 2000; 45 (3): 509–513 (in Russian)].
7. *Scialo F., Daniele A., Amato F., Pastore L., Matera M.G., Cazzola M., Castaldo G., Bianco A.* The Major Cell Entry Receptor for SARS-CoV-2. *Lung.* 2020 Dec; 198 (6): 867–877. Epub 2020 Nov 10.
8. *Vassiliou A.G., Kotanidou A., Dimopoulou I., Orfanos S.E.* Endothelial Damage in Acute Respiratory Distress Syndrome. *Int J Mol Sci.* 2020 Nov; 21 (22): 8793. Published online 2020 Nov 20. doi: 10.3390/ijms21228793
9. *Ciceri F., Beretta L., Scandroglio A.M., Colombo S., Landoni G.* Microvascular COVID-19 lung vessels obstructive thromboinflammatory syn-

- drome (MicroCLOTS): an atypical acute respiratory distress syndrome working hypothesis. *Crit Care Resusc.* 2020 Apr 15. [Epub ahead of print] PMID: 32294809].
10. Mokhtari T, Hassani E, Ghaffari N, Ebrahimi B, Yarahmadi A, Hassan-zadeh G. COVID-19 and multiorgan failure: A narrative review on potential mechanisms. *J Mol Histol.* 2020; 51 (6): 613–628. doi: 10.1007/s10735-020-09915-3
 11. Лукьянова Л.Д. Сигнальные механизмы гипоксии. М.: ПАН, 2019; 215. [Lukyanova L.D. Signalnyie mehanizmyi gipoksii. Moscow: RAN, 2019; 215. (in Russian)]
 12. Scholz R, Thurman R.G., Williamson J.R., Chance B., Bücher T. Flavin and pyridine nucleotide oxidation-reduction changes in perfused rat liver. I. Anoxia and subcellular localization of fluorescent flavoproteins. *J Biol Chem.* 1969 May 10; 244 (9): 2317–2324.
 13. Taegtmeyer H. Metabolic responses to cardiac hypoxia. Increased production of succinate by rabbit papillary muscles. *Circ Res.* 1978 Nov; 43 (5): 808–815. doi: 10.1161/01.res.43.5.808
 14. Zhang J., Wang Y.T., Miller J.H., Day M.M., Munger J.C., Brookes P.S. Accumulation of succinate in cardiac ischemia primarily occurs via canonical krebs cycle activity. *Cell Rep.* 2018 May 29; 23 (9): 2617–2628. doi: 10.1016/j.celrep.2018.04.104
 15. Chinopoulos Ch. Succinate in ischemia: Where does it come from? *Int J Biochem Cell Biol.* 2019 Oct; 115: 105580. doi: 10.1016/j.biocel.2019.105580
 16. Chouchani E.T., Pell V.R., Gaude E., Aksentijevic D. et al. Ischaemic accumulation of succinate controls reperfusion injury through mitochondrial ROS. *Nature.* 2014 Nov 20; 515 (7527): 431–435.
 17. Lodge K.M., Cowburn A.S., Li W., Condliffe A.M. The Impact of hypoxia on neutrophil degranulation and consequences for the host. *Int J Mol Sci.* 2020 Feb 11; 21 (4): 1183. doi: 10.3390/ijms21041183
 18. Delgado-Roche L., Mesta F. Oxidative stress as key player in severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) Infection. *Arch Med Res.* 2020; 51: 384–387. doi: 10.1016/j.arcmed.2020.04.019
 19. Cecchini R., Cecchini A.L. SARS-CoV-2 infection pathogenesis is related to oxidative stress as a response to aggression. *Med. Hypotheses.* 2020; 143: 110102. doi: 10.1016/j.mehy.2020.110102
 20. Fernandes I. G., de Brito C. A., Dos Reis V., Sato M. N., Pereira N. Z. SARS-CoV-2 and other respiratory viruses: what does oxidative stress have to do with it? *Oxid Med Cell Long.* 2020, 8844280. doi: 10.1155/2020/8844280
 21. Badawy A.A. Immunotherapy of COVID-19 with poly (ADP-ribose) polymerase inhibitors: starting with nicotinamide. *Biosci Rep.* 2020; 40 (10): BSR20202856. doi:10.1042/BSR20202856
 22. Badawy A.A. Immunotherapy of COVID-19 with poly (ADP-ribose) polymerase inhibitors: starting with nicotinamide. *Biosci Rep.* 2020 Oct 30; 40 (10): BSR20202856. doi: 10.1042/BSR20202856. PMID: 33063092; PMCID: PMC7601349
 23. Beltrán-García J., Osca-Verdegal R., Pallardó F.V., Ferreres J., Rodríguez M., Mulet S., Sanchis-Gomar E, Carbonell N., García-Giménez J.L. Oxidative Stress and Inflammation in COVID-19-Associated Sepsis: The Potential Role of Anti-Oxidant Therapy in Avoiding Disease Progression. *Antioxidants (Basel).* 2020 Sep 29; 9 (10): 936. doi: 10.3390/antiox9100936. PMID: 33003552; PMCID: PMC7599810
 24. Nagar H., Piao S., Kim C.-S. Role of mitochondrial oxidative stress in sepsis. *Acute Crit Care.* 2018; 33: 65–72. doi: 10.4266/acc.2018.00157
 25. Li S., Ma F, Yokota T., Garcia G. Jr, Palermo A., Wang Y., Farrell C., Wang Y.C., Wu R., Zhou Z., Pan C., Morselli M., Teitell M.A., Ryazantsev S., Fishbein G.A., Ten Hoeve J., Arboleda V.A., Bloom J., Dillon B.J., Pellegrini M., Lusa A.J., Graeber T.G., Arumugaswami V., Deb A. Metabolic reprogramming and epigenetic changes of vital organs in SARS-CoV-2 induced systemic toxicity. *JCI Insight.* 2020 Dec 7: 145027. doi: 10.1172/jci.insight.145027. Epub ahead of print. PMID: 33284134
 26. Dikalov S.I., Nazarewicz R.R. Angiotensin II-Induced Production of mitochondrial reactive oxygen species: potential mechanisms and relevance for cardiovascular disease. *Antioxid. Redox Signal.* 2013; 19: 1085–1094. doi: 10.1089/ars.2012.4604
 27. Zablocki D., Sadoshima J. Angiotensin II and Oxidative Stress in the Failing Heart. *Antioxid Redox Signal.* 2013; 19: 1095–1109. doi: 10.1089/ars.2012.4588
 28. Abouhashem A. S., Singh K., Azzazy H. M. E., Sen C. K. Is low alveolar type II cell SOD3in the lungs of elderly linked to the observed severity of COVID-19? *Antioxid Redox Signal.* 2020; 33 (2): 59–65. doi: 10.1089/ars.2020.8111
 29. Wong H.S., Dighe P.A., Mezera V., Montemier P.A., Brand M.D. Production of superoxide and hydrogen peroxide from specific mitochondrial sites under different bioenergetic conditions. *J Biol Chem.* 2017 Oct 13; 292 (41): 16804–16809. doi: 10.1074/jbc.R117.789271
 30. Zhang X., Zink F, Hezel F, Vogt J., Wachter U., Wepler M., Loconte M., Kranz C., Hellmann A., Mizaikoff B., Radermacher P, Hartmann C. Metabolic substrate utilization in stress-induced immune cells. *Intensive Care Med Exp.* 2020 Dec 18; 8 (Suppl 1): 28. doi: 10.1186/s40635-020-00316-0. PMID: 33336295; PMCID: PMC7746792
 31. Schönrich G., Raftery M.J., Samstag Y. Devilishly radical NETwork in COVID-19: Oxidative stress, neutrophil extracellular traps (NETs), and T cell suppression. *Adv Biol Regul.* 2020 Aug; 77: 100741. doi: 10.1016/j.jbior.2020.100741. Epub 2020 Jul 4.
 32. Beltrán-García J., Osca-Verdegal R., Pallardó F V., Ferreres J., Rodríguez M., Mulet S., Sanchis-Gomar E, Carbonell N., García-Giménez J. L. Oxidative stress and inflammation in covid-19-associated sepsis: the potential role of anti-oxidant therapy in avoiding disease progression. *Antioxidants (Basel).* 2020; 9 (10), 936. doi: 10.3390/antiox9100936
 33. Bradshaw P.C., Seeds W.A., Miller A.C., Mahajan V.R., Curtis W.M. COVID-19: proposing a ketone-based metabolic therapy as a treatment to blunt the cytokine storm. *Oxid Med Cell Longev.* 2020 Sep 9; 2020: 6401341. doi: 10.1155/2020/6401341
 34. Naik E., Dixit V. M. Mitochondrial reactive oxygen species drive pro-inflammatory cytokine production. *The Journal of Experimental Medicine.* 2011; 208 (3): 417–420. doi: 10.1084/jem.20110367
 35. Mittal M., Siddiqui M.R., Tran K., Reddy S.P., Malik A.B. Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. *Antioxid. Redox Signal.* 2014; 20: 1126–1167. doi: 10.1089/ars.2012.5149
 36. Supinski G.S., Callahan L.A. Diaphragm weakness in mechanically ventilated critically ill patients. *Crit Care.* 2013; 17 (3): R120. doi: 10.1186/cc12792
 37. Demoule A., Jung B., Prodanovic H. Diaphragm dysfunction on admission to the intensive care unit. Prevalence, risk factors, and prognostic impact—a prospective study. *Am J Respir Crit Care Med.* 2013; 188 (2): 213–219.
 38. Dres M., Dube B.P., Mayaux J. Coexistence and impact of limb muscle and diaphragm weakness at time of liberation from mechanical ventilation in medical intensive care unit patients. *Am J Respir Crit Care Med.* 2017; 195 (3): 57–66. doi: 10.1164/rccm.201602-0367OC.
 39. Supinski G.S., Morris P.E., Dhar S., Callahan L.A. Diaphragm dysfunction in critical illness. *Chest.* 2018 Apr; 153 (4): 1040–1051. doi: 10.1016/j.chest.2017.08.1157
 40. Wang T., Xu Y.Q., Yuan Y.X. et al. Succinate induces skeletal muscle fiber remodeling via SUNCR1 signaling [published correction appears in *EMBO Rep.* 2020 May 6; 21 (5): e50461. doi: 10.15252/embr.201947892
 41. Зрячкин Н.И., Чудакова Т.К. Эффективность реамберина в инфузионной терапии ацетонемического синдрома у детей с острыми респираторными вирусными инфекциями. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2013; 76 (6): 41–44. [Zryachkin N.I., Chudakova T.K. Effektivnost' reamberina v infuzionnoy terapii atsetonemicheskogo sindroma u detej s ostrymi respiratornymi virusnymi infektsiyami. *Ekspperimental'naya i Klinicheskaya Farmakologiya.* 2013; 76 (6): 41–44. (in Russian)]
 42. Пишенисов К.В., Александрович Ю.С. Применение растворов сукцината в комплексной интенсивной терапии диабетического кетоацидоза у детей (случай из практики). Медицинский алфавит. 2014; 2 (9): 32–36. [Pshenisnov K.V., Aleksandrovich Yu.S. Primenenie rastvorov suksinata v kompleksnoy intensivnoy terapii diabeticheskogo ketoatsidoza u detej (sluchaj iz praktiki). *Meditsinskij Alfavit.* 2014; 2 (9): 32–36. (in Russian)]
 43. Михайлова Е.В., Данилов А.Н., Чудакова Т.К., Романовская А.В., Дубовицкая Н.А. Острые респираторные вирусные инфекции у детей: клиника, гемореологические нарушения и методы их коррекции. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2013; 76 (3): 19–22. [Mikhajlova E.V., Danilov A.N., Chudakova T.K., Romanovskaya A.V., Dubovitskaya N.A. Ostrye respiratornye virusnye infektsii u detej: klinika, gemoreologicheskie narusheniya i metody ikh korrektsii. *Ekspperimental'naya i Klinicheskaya Farmakologiya.* 2013; 76 (3): 19–22. (in Russian)]
 44. Михайлова Е.В., Чудакова Т.К. Грипп у детей. Гематологические показатели интоксикации, детоксикационная терапия. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2015; 78 (5): 33–36. [Mikhajlova E.V., Chudakova T.K. Gripp u detej. Gematologicheskie pokazateli intoksikatsii, detoksikatsionnaya terapiya. *Ekspperimental'naya i Klinicheskaya Farmakologiya.* 2015; 78 (5): 33–36.
 45. Александрович Ю.С., Юрьев О.В., Пишенисов К.В., Красносельский К.Ю. Интраоперационная коррекция нарушений температурного гомеостаза у детей. Эксперим. клин. фармакология. 2012; 75 (5): 39–43. PMID: 22834129 [Aleksandrovich Yu.S., Jyur'ev O.V., Pshenisnov K.V., Krasnosel'skij K.Jyu. Intraoperatsionnaya korrektsiya narushenij temperaturnogo gomeostaza u detej. *Ekspirim. Klin. Farmakologiya.* 2012; 75 (5): 39–43. PMID: 22834129 (in Russian)]

46. Красносельский К.Ю., Александрович Ю.С., Гордеев В.И., Лосев Н.А. О возможности управления интраоперационной терморегуляцией. *Анестезиология и реаниматология*. 2007; 3: 33–35. PMID:17684988 [Krasnosel'skij K.Ju., Aleksandrovich Ju.S., Gordeev V.I., Losev N.A. O vozmozhnosti upravleniya intraoperatsionnoj termoreguljatsiej. *Anesteziologiya i Reanimatologiya*. 2007; 3: 33–35. PMID:17684988 (in Russian)]
47. Орлов Ю.П., Лукач В.Н., Филиппов С.И., Глуценко А.В., Малюк А.И., Притыкина Т.В., Пархоменко К.К., Петрова Ю.В. Эффективность и безопасность сбалансированного раствора с антиоксидантной направленностью реамберин в интенсивной терапии перитонита и острой кишечной непроходимости. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. 2012; (2): 64–69. [Orlov Yu.P., Lukach V.N., Filippov S.I., Glushchenko A.V., Maljuk A.I., Pritykina T.V., Parkhomenko K.K., Petrova Ju.V. Effektivnost' i bezopasnost' sbalansirovannogo rastvora s antioksidantnoj napravlennoost' ju reamberin v intensivnoj terapii peritonita i ostroj kishhečnoj neprokhodimosti. *Khirurgiya. Zhurnal im. N.I. Pirogova*. 2012; (2): 64–69. (in Russian)]
48. Сурина-Марышева Е.Ф., Кривохижина Л.В., Кантюков С.А., Сергиенко В.И., Ермолаева Е.Н., Смирнов Д.М. Влияние церулоплазмينا на количество и резистентность эритроцитов при физической нагрузке. *Бюл эксперим биол*. 2009; 148: 8: 151–153. [Surina-Marysheva E.F., Krivokhizhina L.V., Kantjyukov S.A., Sergienko V.I., Ermolaeva E.N., Smirnov D.M. Vliyanie tseruloplazmina na kolichestvo i rezistentnost' eritrotsitov pri fizicheskoj nagruzke. *Vjyul eksperim biol*. 2009; 148: 8: 151–153. (in Russian)]
49. Protti A., Carré J., Frost M.T., Taylor V., Stidwill R., Rudiger A., Singer M. Succinate recovers mitochondrial oxygen consumption in septic rat skeletal muscle. *Crit Care Med*. 2007 Sep; 35 (9): 2150–2155. doi: 10.1097/01.ccm.0000281448.00095.4d. PMID: 17855829
50. Афанасьев В.В. Клиническая фармакология реамберина (очерк): пособие для врачей; Министерство здравоохранения и соц. развития Рос. Федерации, ГУ Ин-т токсикологии, С.-Петерб. гос. мед. акад. последиплом. образования. СПб.: 2005. [Afanas'ev V.V. Klinicheskaya farmakologiya reamberina (ocherk): posobie dlya vrachej; Ministerstvo zdravookhraneniya i sots. razvitiya Ros. Federatsii, GU In-t toksikologii, S.-Peterb. gos. med. akad. poslediplom. obrazovaniya. Sankt-Petersburg: 2005. (in Russian)]
51. Needham D.M. A quantitative study of succinic acid in muscle. Glutamic and aspartic acids as precursors. *Biochem J*. 1930; 24 (1): 208–227.
52. Needham D.M. A quantitative study of succinic acid in muscle. II: The metabolic relationships of succinic, malic and fumaric acids. *Biochem J*. 1927; 21 (3): 739–750. doi: 10.1042/bj0210739
53. Reddy A., Bozi L.H.M., Yaghi O.K., Mills E.L., Xiao H., Nicholson H.E., Paschini M., Paulo J.A., Garrity R., Laznik-Bogoslavski D., Ferreira J.C.B., Carl C.S., Sjøberg K.A., Wojtaszewski J.F.P., Jeppesen J.F., Kiens, B. Gygi S.P., Richter E.A., Mathis D., Chouchani E.T. pH-gated succinate secretion regulates muscle remodeling in response to exercise. *Cell*. doi: 10.1016/j.cell.2020.08.039
54. Starling S. Succinate regulates muscle exercise adaptations. *Nat Rev Endocrinol*. 2020 Dec; 16 (12): 678–679. doi: 10.1038/s41574-020-00429-2

Информация об авторах

Орлов Юрий Петрович — д. м. н., профессор кафедры анестезиологии и реаниматологии, Омский государственный медицинский университет, Омск, Российская Федерация

Афанасьев Василий Владимирович — д. м. н., профессор кафедры неотложной медицины, Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Хиленко Ирина Анатольевна — заведующая отделением анестезиологии и реаниматологии БУЗОО «Городская клиническая больница №11», Омск, Российская Федерация

About the authors

Yury P. Orlov — D. Sc. in Medicine, Omsk State Medical University, Omsk, Russian Federation

Vasily V. Afanasyev — D. Sc. in Medicine, North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russian Federation

Irina A. Khilenko — Head of the intensive care unit, City Clinical Hospital No. 11, Omsk, Russian Federation

Профессору Николаю Сергеевичу Егорову – 100 лет!

Professor Nikolai S. Egorov is 100 years Old!

5 января 2021 г. в МГУ на Биологическом факультете отмечали 100-летие Заслуженного профессора Московского университета, выдающегося микробиолога и биотехнолога, старейшего специалиста в области изучения антибиотиков, блестящего педагога и организатора образования Николая Сергеевича Егорова.

Николай Сергеевич — легендарная фигура в жизни Московского университета. Он — участник боевых действий с первых дней Великой Отечественной войны, один из первых в нашей стране специалистов по антибиотикам. Заместитель министра высшего и среднего образования СССР и одновременно заведующий кафедрой микробиологии, которой — на общественных началах! — руководил более 20 лет. Один из основателей Международного биотехнологического центра МГУ имени М.В.Ломоносова (МБЦ МГУ) и до настоящего времени профессор МБЦ МГУ по кафедре микробиологии и руководитель Отдела промышленной микробиологии МБЦ МГУ.

Николай Сергеевич Егоров родился 5 января 1921 г. в дер. Попадкино Ивановской области. После окончания средней школы (1939 г.) он был призван на воинскую службу в составе Черноморского флота. С первых дней Великой Отечественной войны принимал участие в боевых действиях на территории Бессарабии, на Кинбурнской косе, в кровопролитных боях за оборону Одессы, Очакова, Севастополя, Новороссийска. Был ранен и в декабре 1942 г. демобилизован.

В октябре 1943 г. Николай Сергеевич стал студентом биолого-почвенного факультета МГУ им. М. В. Ломоносова, по окончании которого (1948 г.) был принят в аспирантуру, а затем оставлен на кафедре микробиологии, где прошёл путь от ассистента до заведующего кафедрой. В 1952 г. Н. С. Егоров защитил кандидатскую диссертацию на тему «Условия образования стрептомицина», в 1965 г. — докторскую диссертацию на тему «Образование микроорганизмами ряда антибиотиков и фибринолитических ферментов», в 1968 г. ему было присвоено звание профессора.

Годы учёбы и начала работы Николая Сергеевича в МГУ совпали с появлением на кафедре нового научного направления — изучения образования микроорганизмами антибиотиков. Эта тема была весьма интересной и перспективной.



Разработка и внедрение методов получения антибиотиков позволили спасти на фронте и в мирных условиях огромное число человеческих жизней, победить в СССР многие страшные инфекционные болезни. Работы по антибиотикам имели не просто практическое, но и стратегическое значение. Не случайно большинство ранних исследований Н. С. Егорова имели гриф секретности, а защита его кандидатской диссертации, посвящённой условиям биосинтеза стрептомицина, проходила «при закрытых дверях».

В 1947 г. на биолого-почвенном факультете для студентов 4-го курса был введен специальный курс «Антибиотики», для чтения которого В. Н. Шапошниковым был приглашен проф. Г. Ф. Гаузе, авторитетный специалист в области антибиотиков. Этот курс Г. Ф. Гаузе читал в течение 6 лет, с 1953 г. более 60 лет курс «Антибиотики» неизменно читался Н. С. Егоровым.

В 1953 г. на биологическом факультете МГУ была организована межкафедральная лаборатория антибиотиков (заведующим её был назначен проф. А. Б. Силаев), что позволило объединить усилия микробиологов, физиологов, биохимиков, химиков, медиков и т. д. В конце 70-х годов она вошла в состав кафедры микробиологии. Много лет возглавлял лабораторию проф. А. Н. Полин. В 1993 г. она была переименована в Лабораторию биологически активных веществ микроорганизмов.

В 1963 г. Н. С. Егоров был приглашен на работу в аппарат ЦК КПСС инструктором, а вскоре

заведующим сектором. В 1967 г. он был назначен заместителем министра высшего и среднего специального образования СССР, в этой должности он находился до 1988 г. Одновременно с 1967 до 1989 г. Николай Сергеевич, как уже отмечалось, на общественных началах заведовал кафедрой микробиологии Московского университета.

Область научных интересов Н. С. Егорова связана с образованием микроорганизмами антибиотиков и других биологически активных веществ, микробиологическим синтезом некоторых ферментов медицинского назначения. Эта тематика была им продолжена впоследствии и в МБЦ МГУ.

Николай Сергеевич — автор и соавтор более 700 научных статей, имеет 98 авторских свидетельств и патентов, им опубликовано 13 книг, среди которых знаменитый учебник для университетов «Основы учения об антибиотиках», выдержавший 6 изданий (1-ое — 1964 г., 6-ое — 2004 г.). в том числе, в серии «Лучший университетский учебник».

Долгие годы Николай Сергеевич был членом редколлегии журнала «Антибиотики и химиотерапия» (1979–2008 гг.). Многие работы Николая Сергеевича, его коллег и учеников, прекрасные обзоры публиковались именно на страницах нашего журнала.

За боевые заслуги и трудовые достижения Николай Сергеевич награжден многочисленными орденами и медалями. Он — лауреат Ломоносовской премии I степени за научную работу, Ломоносовской премии — за педагогическую деятельность, премии Совета министров СССР, Государственной премии; награжден Благодарностью Президента РФ и Почетной грамотой Президента РФ. В 2015 г. ему (одному из первых) была присвоена высшая награда МГУ им. М. В. Ломоносова — почетный знак «Звезда Московского Университета».

Эта награда нашла отражение в названии одноименной книги, выпущенной к 100-летию со дня рождения Н. С. Егорова [1]. Первый раздел книги — «Профессор Николай Сергеевич Егоров» — включает фундаментальную статью А. А. Осмоловского, рассказывающую о научной биографии и жизненном пути учёного. Раздел содержит также перечень кандидатских и докторских диссертаций, выполненных под руководством Николая Сергеевича, и список его наград. Во втором разделе — «Мозаика воспоминаний» — представлены статьи сотрудников кафедры мик-



робиологии, раскрывающие различные грани личности Н. С. Егорова. Раздел начинается с обзора М. В. Нефеловой, в котором анализируется развитие его научных исследований. Завершает его статья Н. Н. Колотиловой «Вре́мён связующая нить...», посвящённая воспоминаниям Николая Сергеевича о жизни кафедры микробиологии в здании университета на Большой Никитской улице, где она размещалась до переезда в новое здание. Статья подводит к теме третьего раздела сборника, содержащего статьи Н. С. Егорова по истории микробиологии. Последняя из них — «Микробная биотехнология: становление и состояние» — служит напутствием молодому поколению. Книгу дополняет «Фотоархив», содержащий более 30 цветных фотографий.

Редколлегия журнала «Антибиотики и химиотерапия» рада возможности на страницах нашего многолетнего издания поприветствовать уважаемого долгожителя в науке и поздравить с уникальным юбилеем Учёного, Ветерана и прекрасного светлого Человека!

Литература/References

1. Звезда Московского университета. Профессор Николай Сергеевич Егоров. К 100-летию. Сборник статей. Составители и редакторы: А.А.Осмоловский, Н.Н.Колотилова. М.: МАКС Пресс, 2021; 160. ISBN

978-5-317-06501-0 [Zvezda Moskovskogo universiteta. Professor Nikolaj Sergeevich Egorov. K 100-letijju. Sbornik statej. Sostaviteli i redaktory: A.A.Osmolovskij, N.N.Kolotilova. Moskva: MAKS Press, 2021; 160. ISBN 978-5-317-06501-0 (in Russian)]

Противовирусный препарат

МНН Риамиловир

ТРИАЗАВИРИН[®]



ТРИАЗАВИРИН - оригинальный препарат группы азолоазинов. Препарат этиотропного действия широкого спектра противовирусной активности.

Механизм действия: ингибирование синтеза вирусных РНК и репликации геномных фрагментов.

- Обладает высокой противовирусной эффективностью.
- Хорошо переносится пациентами.
- Безопасен по показателям мутагенности и риску канцерогенеза.
- Отнесен к малотоксичным лекарственным средствам IV класса по острой, подострой и хронической токсичности.
- Не оказывает аллергизирующего и иммунотоксичного действия.

www.triazavirin.ru

Ремаксол



**Инфузионный
гепатотропный препарат**
с мультифакторным действием

Реамберин



**Сбалансированный
сукцинатсодержащий
кристаллоидный раствор**
с комплексным механизмом действия
для взрослых пациентов и детей с 1-го
года жизни при **неотложных состояниях**

Цитофлавин



**Оригинальный комбинированный
нейропротектор**
для комплексного лечения
цереброваскулярных заболеваний

Ремаксол регистрационный номер ЛСР-009341/09 от 13.02.2020; Реамберин регистрационный номер 001048/01 от 06.09.2007; Цитофлавин ампулы регистрационный номер 003135/01 от 21.11.12008, Цитофлавин таблетки регистрационный номер ЛС-001767 от 13.09.2011.

