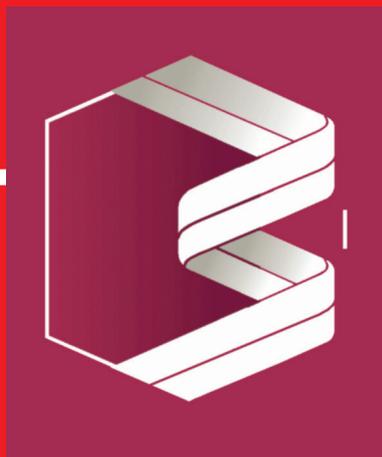


ISSN 0235-2990

# АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

Том 66



9-10'2021

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

**АДРЕС РЕДАКЦИИ:**

Нагатинская ул., д. За, 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



Издательство  
**ОКИ**

каталог «Пресса России»  
или через «Агенство «КнигаСервис»:  
подписной индекс — Е71404

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

Установочный тираж 5000 экз.

Типография:  
ООО «Литера»

Дата выхода: ноябрь 2021

Свободная цена

# АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

Том 66

9–10'2021

ЕЖЕМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

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

**Научные редакторы**

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

**РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ**

Беседнова Н. Н.	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:**

ISSN 0235-2990

**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: november 2021

Free price

# ANTIBIOTICS AND CHEMOTHERAPY

АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

Volume 66

9–10'2021

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. Pripitnevich  
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 статьи**

**Experimental Research**

Синёва О. Н.  
Выделение актиномицетов редких родов — продуцентов антибиотиков из почв с применением сока *Aloe arborescens*

4 Sineva Olga N.  
Isolation of Rare Genera of Actinomycetes — Antibiotic Producers from Soils Using *Aloe Arborescens* Juice

Баранцевич Н. Е., Волкова С. В., Зарицкий А. Ю., Баранцевич Е. П.  
Антимикробная резистентность энтерококков

12 Barantsevich Natalia E., Volkova Svetlana V., Zaritsky Andrey Yu., Barantsevich Elena P.  
Antimicrobial Resistance in Enterococci

Куделькина В. В., Халанский А. С., Алексеева А. И., Гореликов П. Л., Косырева А. М.  
Комбинация наносомальной формы доxorубина, интерферона альфа и нитроглицерина в терапии крыс Вистар с глиобластомой 101.8

17 Kudelkina Vera V., Khalansky Alexander S., Alekseeva Anna I., Gorelikov Petr L., Kosyрева Anna M.  
Combination of Nanosomal Form of Doxorubicin, Interferon Alpha, and Nitroglycerin in the Treatment of 101.8 Glioblastoma in Wistar Rats

**Клинические исследования и практика**

**Clinical Research and Practice**

Голубкина Е. В., Сорокин В. М., Левитан Б. Н., Умерова А. Р., Камнева Н. В.  
Генетические различия штаммов *Helicobacter pylori*, выделенных у больных хроническим гастритом лёгкого и тяжёлого течения

24 Golubkina Elena V., Sorokin Vladimir M., Levitan Boleslav N., Umerova Adelya R., Kamneva Natalia V.  
Genetic Differences Between *Helicobacter pylori* Strains Isolated from Patients with Chronic Mild and Severe Gastritis

Краснова Н. М., Ефременко С. Г., Евдокимова Н. Е., Филиппова О. И., Чертовских Я. В., Алексеева Е. А., Татарнинова О. В., Готовцева А. И., Прокопьев Е. С., Кравченко А. Ф., Венгеровский А. И., Сычев Д. А.  
Влияние полиморфных маркеров гена *NAT2* на эффективность и безопасность лечения пациентов с впервые выявленным туберкулёзом лёгких по динамике показателей эритроцитарного звена периферической крови

30 Krasnova Natalia M., Efremenko Sofia G., Evdokimova Nadezhda E., Filippova Olga I., Chertovskikh Yana V., Alekseeva Elizaveta A., Tatarinova Olga V., Gotovtseva Anna I., Prokopen Egor S., Kravchenko Alexander E., Vengerovskiy Alexander I., Sychev Dmitry A.  
Influence of the *NAT2* Gene Polymorphic Markers on the Effectiveness and Safety of Treatment in Patients With Newly Diagnosed Pulmonary Tuberculosis Based on Peripheral Red Blood Cell Dynamics

Журавлева М. В., Городецкая Г. И., Резникова Т. С., Васюкова Н. С., Архипов В. В., Сереброва С. Ю.  
Метааналитическая оценка клинической эффективности комплексного метаболического нейропротектора у больных с хронической ишемией головного мозга

39 Zhuravleva Marina V., Gorodetskaya Galina I., Reznikova Tatiana S., Vasyukova Natalia S., Arkhipov Vladimir V., Serebrova Svetlana Yu.  
Meta-Analytical Evaluation of The Clinical Efficacy of A Complex Metabolic Neuroprotector In Patients With Chronic Cerebral Ischemia

Дадова Л. Ю., Курашинова М. Р., Арамисова Р. М., Камбачокова З. А., Шаваева Ф. В., Вологиров А. С., Камбачокова А. А., Арамисов К. Э.  
Немедикаментозная коррекция нарушений липидного обмена у пациентов с хронической ишемией головного мозга

54 Dadova Liana Yu., Kurashinova Milana R., Aramisova Rina M., Kambachokova Zareta A., Shavaeva Fatima V., Aslan S. Vologirov, Kambachokova Amina A., Aramisov Kantemir E.  
Nonmedical Correction of Lipid Metabolism Disorders In Patients with Chronic Cerebral Ischemia

**Обзоры**

**Reviews**

Белов Б. С., Ананьева Л. П.  
Болезнь Лайма: современные подходы к лечению и профилактике (по материалам международных рекомендаций 2020 г.)

57 Belov Boris S., Ananyeva Lidiya P.  
Lyme Disease: Modern Approaches to Treatment and Prevention (Based on International Recommendations of 2020)

Дбар С. Д., Стоянова Л. Г.  
Новое поколение пробиотиков — психобиотики, их назначение и функции

64 Dbar Sariya D., Stoyanova Lidia G.  
A New Generation of Probiotics — Psychobiotics, Their Purpose and Functions

\* 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.

# Выделение актиномицетов редких родов — продуцентов антибиотиков из почв с применением сока *Aloe arborescens*

\*О. Н. СИНЁВА

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе», Москва, Российская Федерация

## Isolation of Rare Genera of Actinomycetes — Antibiotic Producers from Soils Using *Aloe Arborescens* Juice

\*OLGA N. SINEVA

Gause Institute of New Antibiotics Moscow, Russian Federation

### Резюме

В настоящее время актуальной проблемой является поиск новых антибиотиков, в связи с распространением устойчивости патогенных микроорганизмов к существующим антибактериальным препаратам. Актиномицеты являются продуцентами большого количества антибиотиков, применяемых в медицине. Большинство антибиотиков выделено из актиномицетов рода *Streptomyces*, в то же время актиномицеты редких родов могут быть продуцентами новых антибиотиков.

**Цель:** изучить влияние комплекса биологических веществ сока алоэ на стимуляцию роста актиномицетов редких родов.

**Материал и методы.** Объекты: образцы дерново-подзолистой почвы и чернозёма. Для выделения актиномицетов использовали стандартный метод посева почвенных суспензий на овсяный агар и среду № 2 Гаузе. Хемотаксономические признаки определяли с помощью методов восходящей тонкослойной хроматографии. Родовую принадлежность культур определяли по определителю Берджи и материалам сравнения состава клеточных стенок актинобактерий. Для изучения геносистематических признаков проводили выделение ДНК, полимеразную цепную реакцию со стандартными праймерами 27f и 1492r, секвенирование по Сенгеру. Антибиотическую активность определяли в отношении тест-микроорганизмов: *Staphylococcus aureus* ИНА 00985 (FDA 209P), *Staphylococcus aureus* ИНА 00761 (MRSA), *Staphylococcus aureus* ИНА 00762 (УФ-2), *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Saccharomyces cerevisiae* ИНА 01042.

**Результаты.** При добавлении сока алоэ из образцов дерново-подзолистой почвы и чернозёма выделено 527 культур актиномицетов, определено их филогенетическое положение. Доминирующими актиномицетами в исследованных образцах почвы являются представители рода *Streptomyces*. На втором месте по количеству выделенных культур — представители рода *Micromonospora*. Выделены также актиномицеты редких родов: *Nonomuraea*, *Streptosporangium*, *Nocardia*, *Actinomadura*, *Actinocorallia*, *Pseudonocardia*, *Amycolatopsis*, *Saccharomonospora*, *Saccharopolyspora*, *Promicromonospora*, *Kribbella*. Установлено, что выделенные культуры обладают антибиотической активностью в отношении тест-микроорганизмов.

**Заключение.** Для выделения актиномицетов из почвы и выявления их биоразнообразия целесообразно применять сок алоэ, предварительно подвергнув листья биостимуляции.

**Ключевые слова:** продуценты антибиотиков; актиномицеты; сок алоэ; *Streptomyces*

**Для цитирования:** Синёва О. Н. Выделение актиномицетов редких родов — продуцентов антибиотиков из почв с применением сока *Aloe arborescens*. *Антибиотики и химиотерапия*. 2021; 66: 9–10: 4–11. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-9-10-4-11.

### Abstract

The search for new antibiotics is an urgent problem due to the spread of resistance to existing antibacterial drugs in pathogenic microorganisms. Actinomycetes are producers of a large number of antibiotics used in medicine. Most antibiotics are isolated from actinomycetes of the *Streptomyces* genus, while rare genera of actinomycetes can be the producers of new antibiotics.

**The aim of the study** is to investigate the effect of the biological substances complex present in aloe juice on the growth stimulation of rare genera of actinomycetes.

**Material and methods.** Objects: samples of sod-podzolic soil and chernozem. The standard method of sowing soil suspensions on oat agar and Gause medium No. 2 was used to isolate actinomycetes. Chemotaxonomic properties were determined using the methods of ascending thin-layer chromatography on a cellulose layer. The generic identity of cultures was determined using Bergey's manual and materials comparing the composition of cell walls of actinobacteria. DNA PCR with standard 27f and 1492r primers, as well as Sanger sequencing, were performed to study genosystematic features. Antibiotic activity was determined against the test microorganisms: *Staphylococcus*

© Коллектив авторов, 2021

\*Адрес для корреспонденции: ул. Большая Пироговская, д. 11, стр. 1, НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе г. Москва, Российская Федерация, 119021. E-mail: olga.sineva81@yandex

© Team of Authors, 2021

\*Correspondence to: 11 bld 1 Bolshaya Pirogovskaya st., Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, 119021 Russian Federation. E-mail: olga.sineva81@yandex

*aureus* ИНА 00985 (FDA 209P), *Staphylococcus aureus* ИНА 00761 (MRSA), *Staphylococcus aureus* ИНА 00762 (УФ-2), *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Saccharomyces cerevisiae* ИНА 01042.

**Results.** A total of 527 actinomycete cultures were isolated from samples of sod-podzolic soil and chernozem with the addition of aloe juice; their phylogenetic position was determined. The dominant actinomycetes in the studied soil samples are the representatives of the genus *Streptomyces*. Bacteria of the genus *Micromonospora* take the second place by the number of isolated cultures. Rare genera of actinomycetes have also been identified: *Nonomuraea*, *Streptosporangium*, *Nocardia*, *Actinomadura*, *Actinocorallia*, *Pseudonocardia*, *Amycolatopsis*, *Saccharomonospora*, *Saccharopolyspora*, *Promicromonospora*, *Kribbella*. It was determined that the isolated cultures possess antibiotic activity against test microorganisms.

**Conclusion.** It is advisable to use aloe juice after subjecting the leaves to biostimulation to isolate actinomycetes from the soil and identify their biodiversity.

**Keywords:** antibiotic producers; actinomycetes; aloe juice; *Streptomyces*

**For citation:** Sineva O. N. Isolation of rare Genera of actinomycetes — antibiotic producers from soils using *Aloe Arborescens* juice. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2021; 66: 9–10: 4–11. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-9-10-4-11.

## Введение

Большинство используемых в медицине антимикробных препаратов разработано на основе природных метаболитов бактерий и грибов. Актиномицеты, грамположительные мицелиальные бактерии порядка *Actinomycetales* являются продуцентами таких классов антибиотиков, как макролиды, антрациклины, полиэфирные антибиотики, циклополилактоны, аминокликозиды, стрептотрицины, актиномицины, хиноксалиновые пептиды, гликопептиды и др. Для поиска актиномицетов — продуцентов биологически активных соединений разрабатываются методы селективной изоляции [1]. В качестве селективных агентов для выделения культур актиномицетов из природных источников широко используют антибиотики, антифунгальные препараты или их комбинации [2–4], применяют обработку сухим жаром [5, 6], химическими веществами [6], используют вещества растительного или животного происхождения [7, 8], также применяют комплексные методы [9–11].

В нашем исследовании для выделения актиномицетов был использован сок Алоэ древовидного (*Aloe arborescens*) — вид растений рода Алоэ семейства Асфоделовые. Сок алоэ содержит биологически активные вещества: алоэ-эмодин (гидроксиантрахинон, который обладает антибактериальным, противогрибковым, противовирусным действием) [12–15], аминокислоты, стероиды, производные антрацена, эфирные масла, органические кислоты, аллантоин, полисахариды, флавоноиды, микроэлементы, сок богат ферментами, витаминами, содержит бета-каротин и др. [13, 16].

## Материал и методы

Объектами исследования были образцы дерново-подзолистой почвы (образец № 1, отобранный в г. Москве) и чернозёма (образец № 2, отобранный в Оренбургской области). Образцы почвы были отобраны в летний период из верхних горизонтов почвы (горизонт А).

Для выделения и дифференцированного подсчёта колоний актиномицетов использовали стандартный метод посева почвенных суспензий на плотные питательные среды — овся-

ный агар и органический агар № 2 Гаузе [17, 18]. Для приготовления почвенных суспензий использовали сок алоэ, выделенный по методике: срезанные листья алоэ древовидного помещали в тёмное место при температуре +4°C на 10 дней. Листья протирали 70% этиловым спиртом, разрезали и отжимали сок. Свежевыжатый сок пропускали через мембранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм. Полученный фильтрат добавляли в пробирку с дистиллированной стерильной водой, конечная концентрация сока алоэ составляла 10 и 50%. Посевы инкубировали в термостате при температуре 28°C в течение 14 дней.

Количество актиномицетов в 1 г почвы определяли по числу колоний, выросших на твёрдой питательной среде. Далее колонии выделяли в чистую культуру на среду № 2 Гаузе и овсяный агар и определяли систематическое положение выделенных культур.

Для оценки численности актиномицетов в почве и обработки данных, полученных при хранении актиномицетов, использовали методы математической статистики, достоверность принимали равной 0,95 [19]. Статистическую обработку данных проводили в программе Exel 2010 (Microsoft Inc., 2011).

Изучение фенотипических признаков: культуры, выращенные на овсяном агаре, просматривали в микроскоп OLIMPUS BX-41, культуральные признаки определяли по окраске воздушного и субстратного мицелия.

Хемотаксономические признаки (наличие изомеров диаминопимелиновой кислоты (ДАПК) и анализ дифференцирующих сахаров в гидролизатах клеток определяли с помощью методов восходящей тонкослойной хроматографии в целлюлозном слое [20].

Используя полученные данные о составе клеточных стенок, определяли родовую принадлежность культур по определителю Берджи [21] и материалам сравнения состава клеточных стенок у актинобактерий [22].

Для изучения геносистематических признаков проводили сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК.

Выделение ДНК и полимеразную цепную реакцию проводили согласно методике Н. А. Манучаровой [23], используя набор для выделения Power Soil DNA Isolation Kit (MO BIO, США). Для проведения полимеразной цепной реакции использовали праймеры: 27f (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') и 1492r (5'-TACGGYACCTTGTACGACTT-3') фирмы «СИНТОЛ» (Россия). Амплификацию проводили на автоматическом амплификаторе 2720 Thermal Cycler (Applied Biosystems, США). Для ПЦР-амплификации использовали набор реагентов фирмы «Thermo Fisher Scientific» (США).

Очистку амплифицированной ДНК от праймеров и других компонентов ПЦР-реакции проводили методом прямого переосаждения ДНК в мягких условиях (<http://www.genomecentre.ru/info.html>). Для определения нуклеотидной последовательности использовали праймеры: 27f, 1492r, 341f — gcd

(5'-ССТACGGGAGGCAGCAG — 3'), 785f (5'-GGMTTAGA-TACCTGGTAGTCC-3'), фирмы «СИНТОЛ» (Россия). Реакция секвенирования проводили на автоматическом амплификаторе 2720 Thermal Cycler (Applied Biosystems, США). Секвенирование проводили на автоматическом капиллярном секвенаторе 3500 Genetic Analyser (Applied Biosystems, США) с использованием реагентов BigDye Terminator v3 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, США), в соответствии с рекомендациями производителя.

Идентификацию актиномицетов осуществляли методом сравнения нуклеотидной последовательности ПЦР-фрагментов генов 16S рРНК с последовательностями, представленными в базе данных GenBank NCBI по протоколу nBLAST (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) и Ribosomal Database Project (<http://rdp.cme.msu.edu>). Дендрограммы были построены с помощью алгоритма «neighbor-joining» в программе MEGA 6.

Выделенные из почвы культуры были проверены на антибиотическую активность (методом перпендикулярных штрихов и методом агаровых лунок) в отношении тест-организмов: *Staphylococcus aureus* ИНА 00985 (FDA 209P), *S. aureus* ИНА 00761 (MRSA), *S. aureus* ИНА 00762 (УФ-2), *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Saccharomyces cerevisiae* ИНА 01042.

Состав жидких питательных сред: среда А4: соя — 10,0 г/л, глюкоза — 10,0 г/л, NaCl — 5,0 г/л, CaCO<sub>3</sub> — 2,5 г/л, дистиллированная вода; pH=7,2–7,4; среда «сах»: сахара — 20,0 г/л, соя — 10,0 г/л, KNO<sub>3</sub> — 2,0 г/л, NaCl — 3,0 г/л, CaCO<sub>3</sub> — 3,0 г/л, дистиллированная вода; pH=7,0.

## Результаты и обсуждение

Исследование влияния сока алоэ на выделение актиномицетов из почвенных образцов показало, что сок алоэ, добавленный в почвенные суспензии в концентрациях 10 и 50%, способствует увеличению количества выделенных актиномицетов. Данная закономерность установлена для обоих типов почв (рис. 1, 2).

Идентификация на основании морфологических и хемотаксономических признаков выделенных актиномицетов позволила оценить соотношение количества выделенных актиномицетов

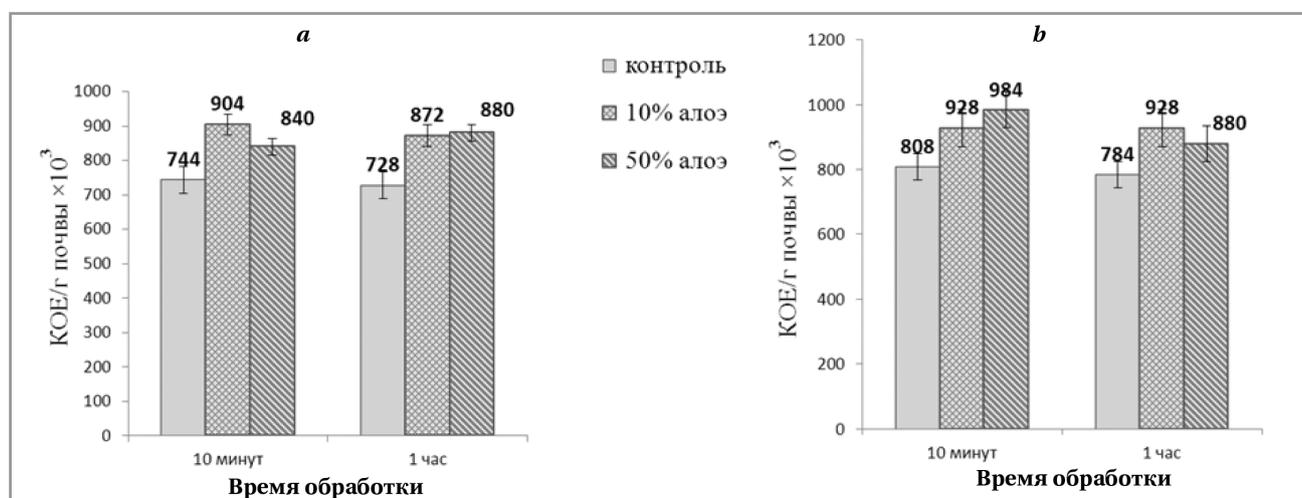


Рис. 1. Количество актиномицетов, выделенных из образца чернозёма: а — овсяная среда; б — среда № 2 Гаузе.  
Fig. 1. The number of actinomycetes isolated from a sample of chernozem: а — oat medium, б — Gauze medium No. 2.

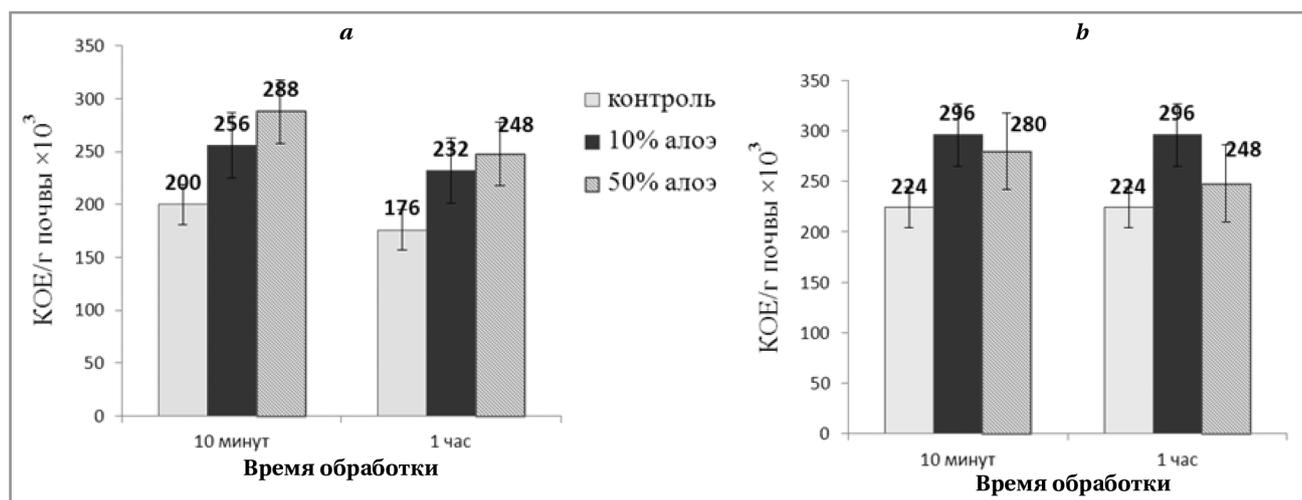


Рис. 2. Количество актиномицетов, выделенных из образца дерново-подзолистой почвы: а — овсяная среда; б — среда № 2 Гаузе.  
Fig. 2. The number of actinomycetes isolated from a sample of sod-podzolic soil: а — oat medium; б — Gauze medium No. 2.

широко распространённого рода *Streptomyces* и актиномицетов редких родов. Для образца чернозёма было отмечено высокое содержание актиномицетов редких родов: 21–24% — в контроле и 22–29% — в опытных вариантах с добавлением сока алоэ при культивировании на среде № 2 Гаузе, 14–16% — в контроле и 18–19% — в опытных вариантах при культивировании на овсяной среде. Самый большой процент культур актиномицетов редких родов (29%) был выявлен при добавлении 50% сока алоэ, выдерживании суспензии 10 мин и посеве на среду № 2 Гаузе. Доля выделенных актиномицетов редких родов в дерново-подзолистой почве была меньше: 8–10% — в контроле и 11–18% — в опытных вариантах при культивировании на среде № 2 Гаузе, 16–17% — в контроле и

16–24% — в опытных вариантах при культивировании на овсяной среде. Таким образом, использование сока алоэ помогло увеличить долю выделенных актиномицетов редких родов из образца дерново-подзолистой почвы.

В большинстве вариантов при добавлении сока алоэ наблюдалось пропорциональное увеличение количества выделенных колоний актиномицетов редких родов и колоний актиномицетов, распространённого рода *Streptomyces*, т. е. были созданы условия для активного роста представителей обеих групп актиномицетов, но в некоторых вариантах удалось увеличить долю выделенных актиномицетов редких родов.

Всего в ходе работы в чистую культуру было выделено 527 штаммов актиномицетов. Предварительная идентификация выделенных культур актиномицетов показала, что 426 штаммов актиномицетов относятся к роду *Streptomyces*, 44 штамма — к распространённому роду *Micromonospora*, 57 штаммов — к другим редким родам: *Nonomuraea*, *Streptosporangium*, *Nocardia*, *Actinomadura*, *Actinocorallia*, *Pseudonocardia*, *Amycolatopsis*, *Saccharomonospora*, *Saccharopolyspora*, *Promicromonospora*, *Kribbella*.

На втором месте по количеству выделенных колоний в обоих типах почв были актиномицеты рода *Micromonospora*, из образца дерново-подзолистой почвы была выделена 21 культура, из образца чернозёма 23 культуры микромоноспор.

Филогенетический анализ был проведён для 6 культур — *Micromonospora* sp. OS/1, *Micromonospora* sp. OS/2, *Micromonospora* sp. OS/3, *Micromonospora* sp. OS/4, *Micromonospora* sp. OS/5, *Micromonospora* sp. OS/6, проявляющих способность к синтезу антибиотиков. Культуры под номерами OS/1, OS/2, OS/3 были выделены из образца дерново-подзолистой почвы, культуры под номерами OS/4, OS/5, OS/6 — из образца чернозёма. Филогенетическое дерево для данных культур приведено на рис. 3.

В обоих типах почв присутствовали актиномицеты

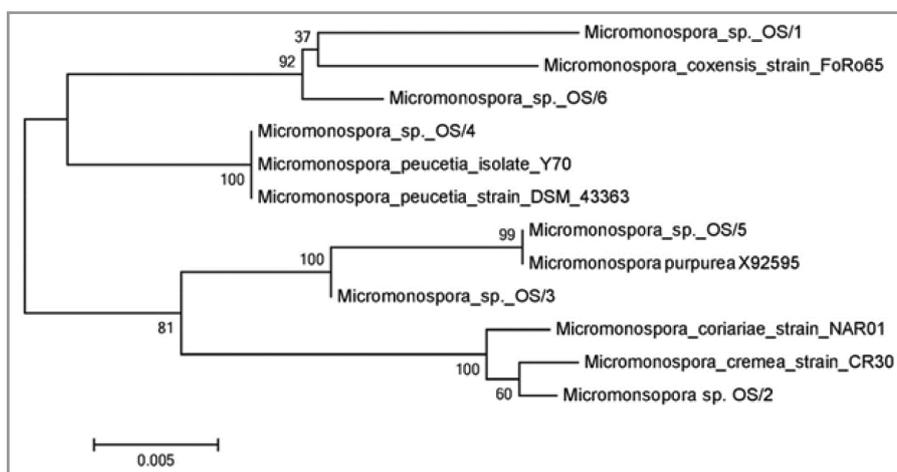


Рис. 3. Филогенетическое дерево культур рода *Micromonospora*.  
Fig. 3. Phylogenetic tree of cultures of the *Micromonospora* genus.

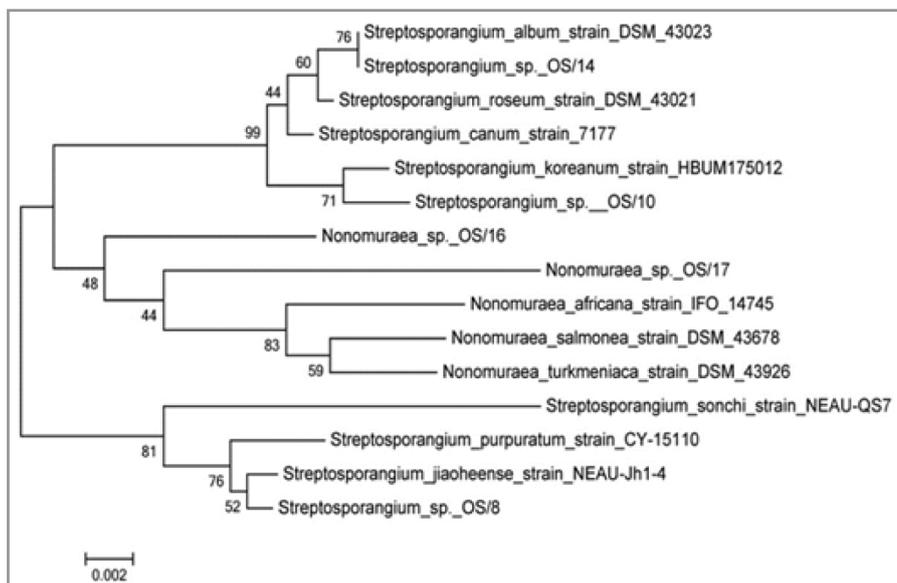


Рис. 4. Филогенетическое дерево культур родов *Streptosporangium* и *Nonomuraea*.  
Fig. 4. Phylogenetic tree of cultures of the *Streptosporangium* and *Nonomuraea* genera.

семейства *Streptosporangiaceae*. Из образца чернозёма было выделено 6 культур актиномицетов рода *Streptosporangium* и 3 культуры рода *Nonomuraea*; из дерново-подзолистой почвы 3 культуры рода *Streptosporangium* и 2 культуры рода *Nonomuraea*. Для 5 культур семейства *Streptosporangiaceae* было установлено филогенетическое положение (рис. 4).

В экспериментах было выделено 13 культур — представителей рода *Nocardia* (OS21-OS33). Все изоляты формировали хорошо развитый субстратный мицелий, некоторые культуры формировали воздушный мицелий. Представители данного рода присутствовали как в дерново-подзолистой почве, так и в чернозёме. Для 8 культур был проведён филогенетический анализ (рис. 5).

В проведённых опытах были выделены представители семейства *Thermomonosporaceae*: 8 культур, отнесённых к роду *Actinomadura* (штаммы OS/34, OS/35, OS/36, OS/37) были выделены из образца дерново-подзолистой почвы, OS/38, OS/39, OS/40, OS/41 — из образца чернозёма) и одна культура под номером OS/42, была отнесена к роду *Actinocorallia* (выделена из чернозёма). Филогенетическое положение выделенных культур родов *Actinomadura* и *Actinocorallia* представлено на рис. 6.

Среди выделенных культур к семейству *Pseudonocardiaceae* было отнесено 11 культур актиномицетов. Из образца дерново-подзолистой почвы было выделено 4 культуры рода *Pseudonocardia* OS/43-OS/46 и одна культура OS/47 была выделена из образца чернозёма. Филогенетическое положение выделенных культур актиномицетов рода *Pseudonocardia* представлено на рис. 7.

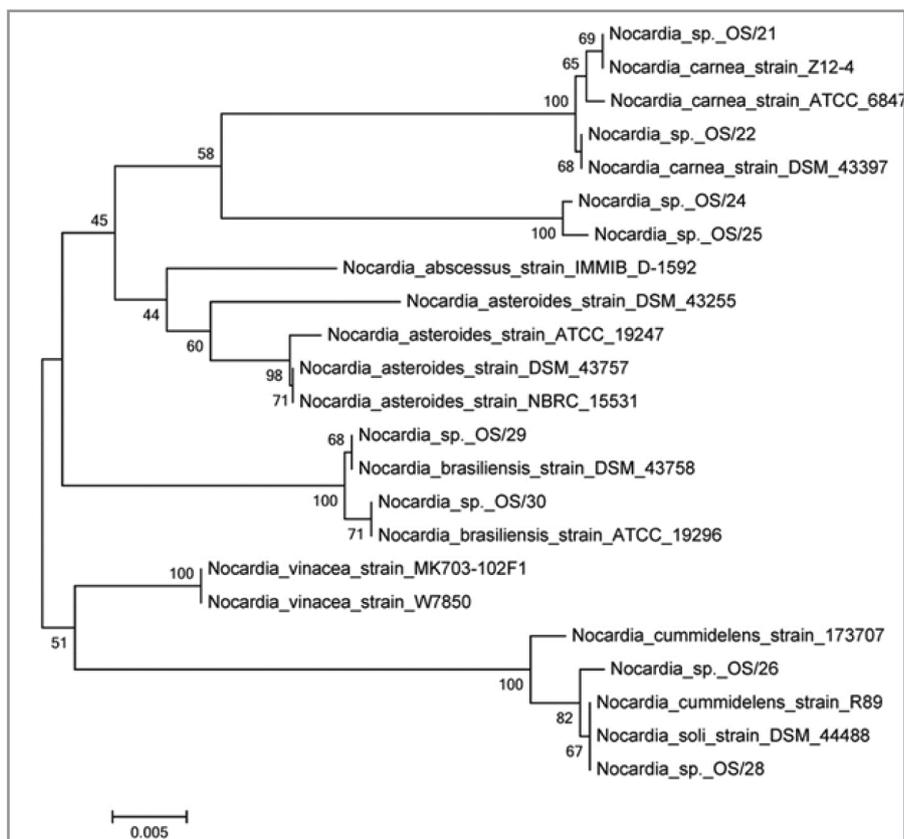


Рис. 5. Филогенетическое дерево культур рода *Nocardia*.  
Fig. 5. Phylogenetic tree of cultures of the *Nocardia* genus.

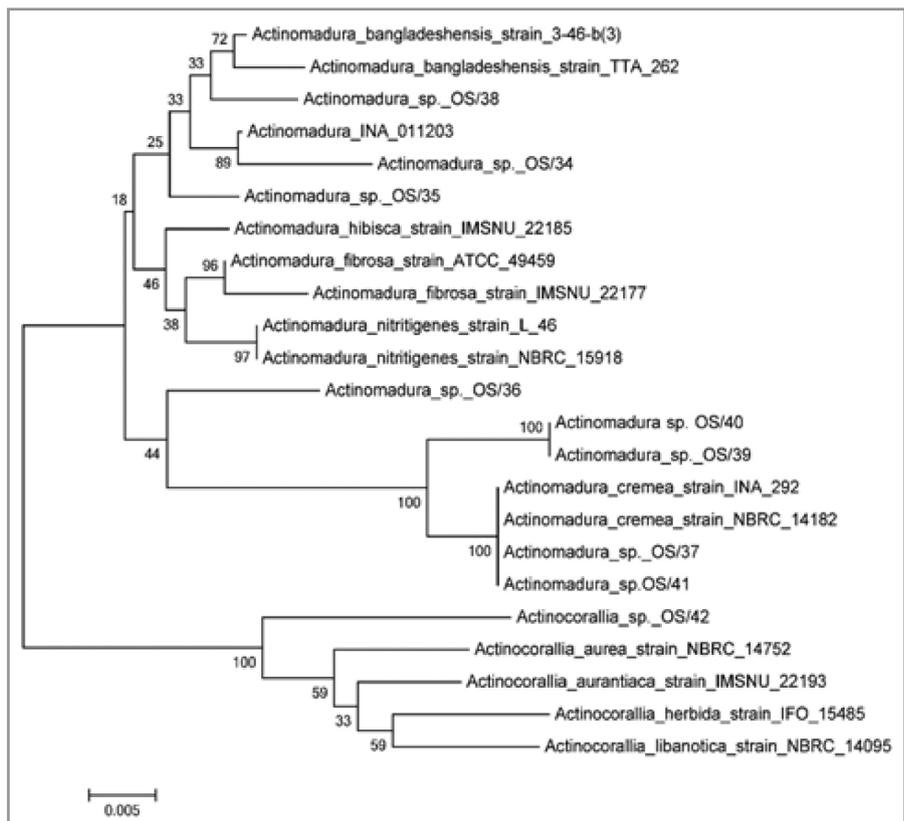
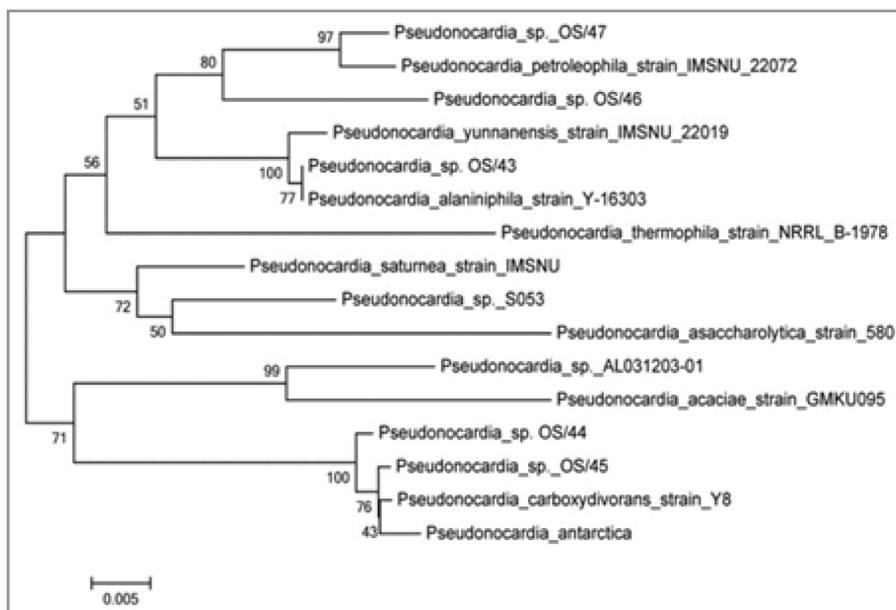
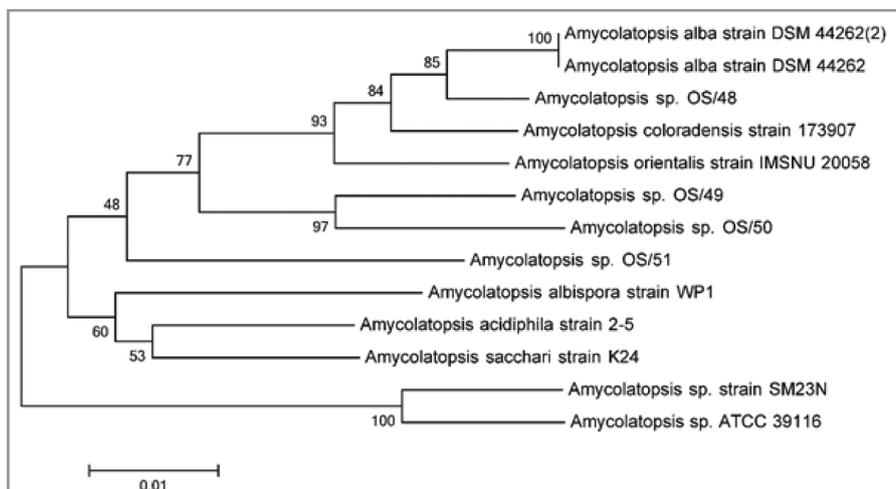


Рис. 6. Филогенетическое дерево культур семейства *Thermomonosporaceae*.  
Fig. 6. Phylogenetic tree of cultures of the *Thermomonosporaceae* family.



**Рис. 7.** Филогенетическое дерево культур актиномицетов рода *Pseudonocardia*.

**Fig. 7.** Phylogenetic tree of actinomycete cultures of the *Pseudonocardia* genus.



**Рис. 8.** Филогенетическое дерево культур актиномицетов рода *Amycolatopsis*.

**Fig. 8.** Phylogenetic tree of actinomycete cultures of the *Amycolatopsis* genus.

К роду *Amycolatopsis* было отнесено 4 культуры под номерами OS/48-OS/51, все культуры были выделены из образца дерново-подзолистой почвы. Филогенетическое положение культур рода *Amycolatopsis* представлено на рис. 8.

Из образца чернозёма были выделены культуры: *Saccharopolyspora* sp. OS/56, *Saccharomonospora* sp. OS/57, *Promicromonospora* sp. OS/54 и *Promicromonospora* sp. OS/55, *Kribbella* sp. OS/52. Из дерново-подзолистой почвы — *Promicromonospora* sp. OS/53.

Результаты первичного определения антибиотической активности показали, что 369 штам-

мов актиномицетов активны в отношении грамположительных тест-организмов, 79 штаммов актиномицетов активны в отношении грамотрицательных бактерий, 52 штамма актиномицетов проявляли активность в отношении дрожжей. Большинство активных культур принадлежало к роду *Streptomyces*.

Антибиотическая активность культур актиномицетов редких родов представлена в табл. 1, 2. Изученные культуры не обладали антибиотической активностью в отношении грамотрицательных тест-организмов. Четыре культуры; *Nocardia* OS/28, *Saccharopolyspora* OS/56 *Saccharomonospora* OS/57 и *Promicromonospora* sp. OS/53 были активны в отношении *Saccharomyces cerevisiae*. Выявлена антибиотическая активность у штаммов *Nonotiraea* sp. OS/16, *Nonotiraea* sp. OS/17 (см. табл. 2).

В экспериментах было показано стимулирующее действие сока алоэ на рост актиномицетов, так же было отмечено снижение количества посторонней микрофлоры (немицелиальных бактерий и грибов).

Известно, что сок алоэ содержит биологически активные вещества — биогенные стимуляторы, которые представляют собой сложный комплекс веществ (органические кислоты, аминокислоты, гуминовые соединения, фосфолипиды, витамины, мик-

роэлементы и др.) [24]. Действие данных веществ стимулировало прорастание спор актиномицетов. Угнетение роста бактериальных и грибных колоний на чашках Петри можно объяснить присутствием в соке алоэ эмолина, обладающего антибактериальным и антифунгальным действием.

Выявленные отличия между образцами почв в количестве выделенных актиномицетов (из образца чернозёма было выделено в 3,5 раза больше колоний актиномицетов, чем из образца дерново-подзолистой почвы) согласуются с данными литературы — актиномицеты являются гетеротрофами, в чернозёмах, богатых гумусом,

**Таблица 1. Антибиотическая активность культур актиномицетов редких родов**  
**Table 1. Antibiotic activity of cultures of rare genera actinomycetes**

Штаммы актиномицетов	Антибиотическая активность в отношении тест-микрорганйзмов (зоны подавления, мм)				
	<i>S.aureus</i> ИНА 00985	<i>S.aureus</i> ИНА 00761 (MRSA)	<i>S.aureus</i> ИНА 00761 (УФ-2)	<i>M.luteus</i> ATCC 9341	<i>B.subtilis</i> ATCC 6633
Культуры рода <i>Micromonospora</i>					
OS/1	H/a	H/a	H/a	9,3±0,4	H/a
OS/2	10,5±1	10,2±0,5	10±1,2	19,8±0,3	10,2±0,2
OS/3	H/a	H/a	5±0,2	25,5±0,4	15,5±0,6
OS/4	10,2±0,2	10,2±0,7	9,7±0,6	10,5±0,5	H/a
OS/5	H/a	H/a	3,1±0,4	20,3±0,4	10,3±0,4
OS/6	10,3±0,4	H/a	10,5±0,5	20,3±0,4	5,6±0,6
Культуры рода <i>Streptosporangium</i>					
OS-10	H/a	H/a	H/a	22,2±0,8	H/a
OS-14	H/a	H/a	H/a	23,8±0,5	H/a
Культуры рода <i>Nocardia</i>					
OS/21	H/a	H/a	H/a	15,2±0,5	H/a
OS/29	11,1±0,5	H/a	H/a	17,2±0,5	H/a
OS/30	H/a	H/a	H/a	10,8±0,4	H/a
OS/32	13,9±0,6	H/a	H/a	14,5±0,5	11,1±0,5
OS/33	H/a	H/a	H/a	9,8±0,2	H/a
Культуры рода <i>Actinomadura</i>					
OS/34	H/a	H/a	H/a	5,3±0,3	5,5±0,3
OS/35	H/a	H/a	H/a	5,6±0,3	H/a
OS/36	10,9±0,5	10,5±0,3	15±0,5	5,5±0,3	5,6±0,3
OS/37	9,9±0,4	10,5±0,3	10,2±0,2	10,8±0,4	H/a
OS/39	5,5±0,3	H/a	5,6±0,3	5,5±0,3	H/a
OS/40	H/a	H/a	H/a	5,3±0,3	H/a
OS/41	5,6±0,4	5,9±0,5	5,8±0,5	H/a	H/a
Культуры рода <i>Pseudonocardia</i>					
OS/44	2,3±0,3	H/a	10,2±0,5	10,2±0,7	H/a
OS/45	10,3±0,4	H/a	2,5±0,3	3,5±0,4	H/a
Культура рода <i>Saccharomonospora</i>					
OS/57	5,6±0,3	H/a	10,5±0,5	H/a	H/a
Культура рода <i>Kribbella</i>					
OS/52	10,3±0,3	7,3±0,3	14,6±0,3	10,5±0,5	7±0,5

**Примечание.** Здесь и в табл. 2: H/a — антибиотическая активность не обнаружена.

**Note.** Here and table 2: H/a — no antibiotic activity detected.

**Таблица 2. Антибиотическая активность культур рода *Nonomuraea* на 5–7 сутки роста. Среда А4.**  
**Table 2. Antibiotic activity of cultures of the *Nonomuraea* genus on the 5–7<sup>th</sup> day of growth. A4 medium.**

Штаммы рода <i>Nonomuraea</i>	Антибиотическая активность в отношении тест-микрорганйзмов (зоны подавления, мм)				
	<i>S.aureus</i> ИНА 00985	<i>S.aureus</i> ИНА 00761 (MRSA)	<i>S.aureus</i> ИНА 00761 (УФ-2)	<i>M.luteus</i> ATCC 9341	<i>B.subtilis</i> ATCC 6633
OS-16	H/a	H/a	H/a	11,4±0,3	H/a
OS-17	11,5±0,3	11,4±0,4	19,4±0,3	13,3±0,3	11,1±0,4

присутствует большое количество и разнообразие актиномицетов [25]. Почвы Москвы — это почвы с низким содержанием гумуса и высоким содержанием тяжёлых металлов, что оказывает влияние на численность актиномицетов, в то же время, в данном образце почвы было обнаружено большое родовое разнообразие актиномицетов, сравнимое с образцом чернозёма.

Большинство выделенных актиномицетов обладало антибиотической активностью в отношении тест-организмов. В настоящее время большинство антибиотиков выделено из рода *Streptomyces*, но актиномицеты редких родов являются продуцентами уникальных антибиотиков, таких как рифамицин (*Amycolatopsis mediterranei*), эритромицин (*Saccharopolyspora*

*erythraea*), тейкопланин (*Actinoplanes teichomyceticus*), ванкомицин (*Amycolatopsis orientalis*), гентамицин (*Micromonospora purpurea*) и др. [14, 26, 27]. В нашей работе обнаружена антибиотическая активность у культур актиномицетов редких родов (*Micromonospora*, *Streptosporangium*, *Nocardia*, *Actinomadura*, *Pseudonocardia*, *Saccharomonospora*, *Saccharopolyspora*, *Kribbella*, *Nonomuraea*), которые могут быть потенциальными продуцентами новых биологически активных веществ. Стоит отметить, что культуры *Micromonospora* OS/2, *Micromonospora* OS/4, *Actinomadura* OS/36, *Actinomadura* OS/37, *Actinomadura* OS/41, *Kribbella* OS/52, *Nonomuraea* OS/17 проявляли активность в отношении метициллинорезистентного стафилококка.

## Заключение

Для выделения актиномицетов редких родов из почвы и выявления их биоразнообразия целесообразно применять сок алоэ, предварительно подвергнув листья биостимуляции. Согласно про-

ведённым исследованиям, выделенные актиномицеты редких родов проявляют антибиотическую активность в отношении тест-организмов, т. е. могут быть потенциальными продуцентами новых антибиотиков.

## Литература/References

- Berdy J. Thoughts and facts about antibiotics: Where we are now and where we are heading. *The Journal of Antibiotics*. 2012; 65 (8): 385–395. doi: 10.1038/ja.2012.27.
- Терехова Л.П., Галатенко О.А., Алферова И.В., Преображенская Т.П. Использование селективных сред для выделения актиномицетов. Преображенская Т.П. ред., В: Поиск продуцентов антибиотиков среди актиномицетов редких родов. Гылым (Алма-Ата). 1990. [Terekhova L.P., Galatenko O.A., Alferova I.V., Preobrazhenskaya T.P. Ispol'zovanie selektivnykh sred dlya vydeleniya aktinomitsvetov. In: Preobrazhenskaya T.P. editor, Poisk produtsentov antibiotikov sredi aktinomitsvetov redkikh rodov. Gylim (Alma-Ata). 1990. (in Russians)]
- Otoguro M., Hayakawa M., Yamazaki T., Jimura Y. An integrated method for the enrichment and selective isolation of Actinocineospora spp. In soil and plant litter *J Appl Microbiol*. 2001; 91 (1): 118–130. doi: 10.1046/j.1365-2672.2001.01372.x.
- Benhadj M., Gacemi-Kirane D., Manasria T., Guebla K., Ahmane Z. Screening of rare actinomycetes isolated from natural wetland ecosystem (Fetzara Lake, northeastern Algeria) for hydrolytic enzymes and antimicrobial activities. *Journal of King Saud University — Science*. 2018; 31 (4). doi:10.1016/j.jksus.2018.03.008.
- Jiang Y., Li Q., Chen X., Jiang C. Isolation and cultivation methods of Actinobacteria. In D. Dhanasekaran (ed.). *Actinobacteria — basics and biotechnological applications*. Rijeka: InTech; 2016; 39–57. doi: 10.5772/61457.
- Singh V., Haque S., Singh H., Verma J., Vibha K., Singh R., Jawed A., Tripathi C.K.M. Isolation, screening, and identification of novel isolates of actinomycetes from India for antimicrobial applications. *Front Microbiol*. 2016; 7: 1921. doi: 10.3389/fmicb.2016.01921.
- Мачавариани Н.Г., Терехова Л.П. Новый метод выделения актиномицетов из почвы. В: Сборник научных докладов. Актуальные вопросы в современной науке. 2013. Варшава. Июнь 28–30. С. 9–12. [Machavariani N.G., Terekhova L.P. Novyi metod vydeleniya aktinomitsvetov iz pochvy. In: Sbornik nauchnykh dokladov. Aktual'nye voprosy v sovremennoi nauke. 2013. June 28–30. Varshava. S. 9–12. (in Russians).]
- Куликова Н.Г. Разработка селективных методов выделения актинобактерий — потенциальных продуцентов антибиотиков из разных экологических систем: автореф. ... Дис. ... канд. биол. наук. М.: 2017. Доступно по: [https://www.gause-inst.ru/sites/default/files/2019-01/Autoref\\_Kulikova.pdf](https://www.gause-inst.ru/sites/default/files/2019-01/Autoref_Kulikova.pdf) Ссылка активна на 26.07.2021 [Kulikova N.G. Razrabotka selektivnykh metodov vydeleniya aktinobakterii — potentsial'nykh produtsentov antibiotikov iz raznykh ehkologicheskikh sistem: avtoref ... Diss. kand. biol. nauk. — Moscow: 2017. Dostupno po: [https://www.gause-inst.ru/sites/default/files/2019-01/Autoref\\_Kulikova.pdf](https://www.gause-inst.ru/sites/default/files/2019-01/Autoref_Kulikova.pdf) Ssylka aktivna na 26.07.2021. (in Russians)]
- Waiihaka P.N., Mwaaura F.B., Wagacha J.M., Gathuru E.M. Methods of isolation actinomycetes from the soils of Menengai crater in Kenya. *Greener Journal of Microbiology and Antimicrobials*. 2017; 8 (3): 008–017. doi: 10.15580/GJMA.2017.2.041817051.
- Subramani R., Sipkema D. Marine rare actinomycetes: a promising source of structurally diverse and unique novel natural products. *Mar Drugs*. 2019; 17 (5): 249. doi: 10.3390/md17050249.
- Qiu D., Ruan J., Huang Y. Selective isolation and rapid identification of members of the genus *Micromonospora*. *App Environ Microbiol*. 2008; 74 (17): 5593–5597. doi: 10.1128/AEM.00303-08.
- Stanley M.C., Ijeanyi O.E., Eziokwu O.G. Antimicrobial effects of Aloe vera on some human pathogens. *Int J Curr Microbiol App Sci*. 2014; 3 (3): 1022–1028.
- Olennikov D.N., Ibragimov T.A., Chelombit'ko V.A., Nazarova A.V., Rokhin A.V., Zilfkarov I. N. Chemical composition of Aloe arborescens and its change by biostimulation. *Chemistry of Natural Compounds*. 2009; 45 (4): 478–482. doi: 10.1007/s10600-009-9405-z.
- Nidiry E. S. J., Ganeshan G., Loksha A.N. Antifungal activity of some extractives and constituents of Aloe vera. *Res J Med Plants*. 2011; 5 (2): 196–200. doi: 10.3923/rjmp.2011.196.200.
- Meier N., Meier B., Peter S., Wolfram E. In-Silico UHPLC method optimization for aglycones in the herbal laxatives Aloe barbadensis Mill., *Cassia angustifolia* Vahl Pods, *Rhamnus frangula* L. Bark, *Rhamnus purshiana* DC. Bark, and *Rheum palmatum* L. Roots. *Molecules*. 2017; 22 (11), 1838. doi: 10.3390/molecules22111838.
- Olennikov D.N., Zilfkarov I.N., Penzina T.A. Use of microcolumn HPLC for analysis of aloenin in Aloe arborescens raw material and related drugs. *Pharmaceu Chem J*. 47 (9): 494–497. doi: 10.1007/s11094-013-0988-0.
- Гаузе Г.Ф., Преображенская Т.П., Свешникова М.Л., Терехова Л.П., Максимова Т.С. Определитель актиномицетов. М.: Наука; 1983. [Gauze G.F., Preobrazhenskaya T.P., Sveshnikova M.L., Terekhova L.P., Maksimova T.S. Opredelitel' aktinomitsvetov. Moscow: Nauka; 1983. (in Russian)]
- McCarty A.J., Williams S.T. Methods for studying the ecology of actinomycetes. *Methods in Microbiology*. 1990; 29: 583–563.
- Платонов А.Е. Статистический анализ в медицине и биологии: задачи, терминология, логика, компьютерные методы. М.: Издательство РАМН; 2000. [Platonov A.E. Statisticheskii analiz v meditsine i biologii: zadachi, terminologiya, logika, komp'yuternye metody. Moscow: Izdatel'stvo RAMN; 2000. (in Russians)]
- Lechevalier H.A., Lechivalier M.P., Gerber N.N. Chemical composition as a criterion in the classification of actinomycetes. *Adv Appl Microbiol*. 1971; 14: 47–72.
- Беркли Р., Бок Э., Бун Д., Бреннер Д., Васильева Л.В., Видель Ф. и др. Определитель бактерий Берджи. 9 издание. Т. 2. Пер. с англ. Хоулт Дж., Криг Н., Снит П., Стейли Дж., Уильямс С. ред. Мир, М.; 1997. [Berkley R.C.W., Bock E., Boone D. R., Brenner D.J., Vasil'eva L.V., Widdel F et al. Bergey's manual of determinative bacteriology. 9th ed. V. 2. Holt J. G., Krieg N.R., Sneath P.H.A., Staley J.T., Williams S.T., editors. Mir, Moscow; 1997.
- Yamaguchi T. Comparison of the cell-wall composition of morphologically distinct actinomycetes. *J Bacteriol*. 1965; 89: 444–453.
- Манучарова Н.А. Молекулярно-биологические методы в почвоведении и экологии: учебное пособие. М.: Университетская книга; 2014. [Manucharova N.A. Molekulyarno-biologicheskiye metody v pochvovedenii i ekologii: uchebnoye posobiye. Moscow: Universitetskaya kniga; 2014. (in Russian)]
- Соколов С.Я. Фитотерапия и фитотерапевтика: руководство для врачей. М.: Медицинское информационное агентство. 2000. [Sokolov S.Ya. Fitoterapiya i fitofarmakologiya: rukovodstvo dlya vrachei. Moscow: Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo. 2000. (in Russians)]
- Добровольская Т.Г., Зязгинцев Д.Г., Чернов И.Ю., Головченко А.В., Зенова Г.М., Лысак Л.В., Манучарова Н.А., Марфенина О.Е., Полянская Л.М., Степанов А.Л., Умаров М.М. Роль микроорганизмов в экологических функциях почв. Почвоведение. 2015; 9: 1087–1096. doi: 10.1134/S1064229315090033. [Dobrovolskaya T.G., Zuyagintsev D.G., Chernov I. Yu., Golovchenko A. V., Zenova G. M., Lysak L. V., Manucharova N. A., Marfenina O. E., Polyanskaya L. M., Stepanov A. L., Umarov M. M. The role of microorganisms in the ecological functions of soils. *Eurasian soil science*. 2015; 9: 959–967. doi: 10.1134/S1064229315090033. (in Russians).]
- Berdy J. Bioactive Microbial Metabolites. *J Antibiot*. 2005; 58 (1): 1–26. doi: 10.1038/ja.2005.1.
- Ding T., Yang L.-J., Zhang W.-D., Shen Y.-H. The secondary metabolites of rare actinomycetes: chemistry and bioactivity. *RSC Advances*. 2019 (9): 21694–21988. doi: 10.1039/C9RA03579F

## Информация об авторе

Синёва Ольга Николаевна — к. б. н., научный сотрудник отдела микробиологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе» Москва, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-0063-4922. eLIBRARY SPIN-код: 4862-2509.

## About the author

Olga N. Sineva — Ph. D. in biology, Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-0063-4922. eLIBRARY SPIN-код: 4862-2509.

# Антимикробная резистентность энтерококков

Н. Е. БАРАНЦЕВИЧ, С. В. ВОЛКОВА, А. Ю. ЗАРИЦКИЙ, \*Е. П. БАРАНЦЕВИЧ

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация

## Antimicrobial Resistance in Enterococci

NATALIA E. BARANTSEVICH, SVETLANA V. VOLKOVA,  
ANDREY YU. ZARITSKEY, \*ELENA P. BARANTSEVICH

Almazov National Medical Research Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint-Petersburg, Russian Federation

### Резюме

**Актуальность.** *Enterococcus* spp. — условно-патогенные возбудители внебольничных и госпитальных инфекций, которые в последние годы расценивают как угрозу общественному здоровью в связи с их антимикробной резистентностью, в первую очередь к гликопептидам.

**Цель.** Определение распространенности различных видов энтерококков — возбудителей инфекций у госпитализированных пациентов и их резистентности к антибактериальным препаратам.

**Методы исследования** включали в себя определение видовой принадлежности энтерококков методом MALDI-TOF масс-спектрометрии и определение их чувствительности к антибактериальным препаратам в соответствии с рекомендациями EUCAST или, при их отсутствии, CLSI.

**Результаты.** Определили видовой состав и антимикробную резистентность 1562 последовательных штаммов, выделенных у госпитализированных пациентов в крупном медицинском центре, аккумулирующем пациентов из различных регионов Российской Федерации в 2019 г. Выявили преобладание видов *E. faecalis* и *E. faecium* (99,5%), частота выделения первого на 56% превышала частоту выделения последнего. *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. gallinarum*, *E. durans* изолировали из 0,5% биологических проб. Наибольший уровень резистентности энтерококков наблюдали к эритромицину (84,8%), тетрациклину (75,0%) и рифампицину (68,2%). Мультирезистентность и резистентность к ванкомицину были характерны преимущественно для *E. faecium*. Все выделенные из крови изоляты *E. faecium* были мультирезистентны. Устойчивость к ванкомицину у энтерококков, обусловивших развитие инфекций кровотока, наблюдали исключительно у 19,5% *E. faecium*, все ванкомицинорезистентные изоляты были устойчивы к тейкопланину. Резистентность к линезолиду выявили у 2 внебольничных штаммов *E. faecalis* (0,1%). Редкие виды энтерококков демонстрировали разнообразные паттерны антимикробной резистентности.

**Заключение.** Среди энтерококков — возбудителей инфекций у госпитализированных пациентов преобладают виды *E. faecalis* и *E. faecium*. Мультирезистентность и устойчивость к ванкомицину характерны преимущественно для *E. faecium*, особенно для штаммов — возбудителей инфекций кровотока. Необходимо проведение дальнейшего мониторинга распространения различных видов энтерококков в госпитальных и внебольничных условиях с определением их видовой принадлежности и антимикробной резистентности валидными методами.

**Ключевые слова:** *Enterococcus faecalis*; *E. faecium*; *E. avium*; *E. casseliflavus*; *E. gallinarum*; *E. durans*; резистентность.

**Для цитирования:** Баранцевич Н. Е., Волкова С. В., Зарицкий А. Ю., Баранцевич Е. П. Антимикробная резистентность энтерококков. Антибиотики и химиотерапия. 2021; 66: 9–10: 12–16. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-9-10-12-16.

### Abstract

**Background.** *Enterococcus* spp. are opportunistic agents of community-acquired and in-hospital infections, which have been considered a threat to public health due to their antimicrobial resistance, primarily to glycopeptides, in recent years.

The aim of the study is to determine the prevalence of various *Enterococcus* species causing infections in hospitalized patients and their antimicrobial resistance.

**Methods** included identification by MALDI-TOF mass spectrometry and antimicrobial susceptibility testing in accordance with the EUCAST or, in their absence, CLSI guidelines.

**Results.** Antimicrobial resistance in 1562 consecutive *Enterococcus* strains isolated from hospitalized patients was determined in a major medical center admitting patients from various regions of the Russian Federation in 2019. The predominance of *E. faecalis* and *E. faecium* (99.5%) was revealed; the frequency of isolation of the former was 56% higher than that of the latter. *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. gallinarum*, *E. durans* were isolated from 0.5% of biological samples. The highest level of resistance of enterococci was observed to erythromycin (84.8%), tetracycline (75.0%), and rifampicin (68.2%). Multidrug, as well as vancomycin resistance, prevailed in *E. faecium*. All *E. faecium* strains isolated from blood were multidrug resistant. Resistance to vancomycin in enterococci, causing bloodstream infections, was observed solely in 19.5% of *E. faecium*; all vancomycin-resistant isolates were also resistant to teicoplanin. Linezolid resistance was detected in 2 community-acquired strains of *E. faecalis* (0.1%). Rare enterococci have shown diverse patterns of antimicrobial resistance.

**Conclusions.** *E. faecalis* and *E. faecium* prevailed among *Enterococcus* spp. causing infections in hospitalized patients. Multidrug resistance and vancomycin resistance were observed predominantly in *E. faecium*, especially in strains causing blood-

© Коллектив авторов, 2021

\*Адрес для корреспонденции: ул. Акkuratова, 2, НМИЦ им. В. А. Алмазова, г. Санкт-Петербург, 197341 Российская Федерация. E-mail: lenabara2003@mail.ru

© Team of Authors, 2021

\*Correspondence to: 2 Akkuratova st., Almazov National Medical Research Centre, Saint-Petersburg, 197341 Russian Federation. E-mail: lenabara2003@mail.ru

stream infections. Further monitoring of the spread and antimicrobial resistance of various *Enterococcus* spp. in hospital and community-acquired infections is needed.

**Keywords:** *Enterococcus faecalis*; *E. faecium*; *E. avium*; *E. casseliflavus*; *E. gallinarum*; *E. durans*,

**For citation:** Barantsevich N. E., Volkova S. V., Zaritsky A. Yu., Barantsevich E. P. Antimicrobial resistance in Enterococci. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2021; 66: 9–10: 12–16. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-9-10-12-16.

## Введение

Энтерококки — представители нормальной микрофлоры человека и животных, которые также встречаются в разнообразных объектах окружающей среды, включая воду из различных источников и пляжный песок [1]. Долгие годы энтерококки считались комменсальными микроорганизмами, однако за последние десятилетия стали расцениваться как потенциальные этиологические агенты серьёзных инфекционных осложнений [2, 3]. Эти микроорганизмы в условиях стационара способны вызывать тяжёлые нозокомиальные инфекции, включая бактериемию и сепсис, а также формировать биоплёнки на катетерах и различных имплантируемых устройствах [1, 4, 5]. Кроме того, энтерококки являются возбудителями инфекционного эндокардита и других внебольничных инфекций. *Enterococcus* spp. обладают природной резистентностью к препаратам, принадлежащим к разным классам антибиотиков, в том числе цефалоспорином и аминогликозидам [1, 2]. Таким образом, данные о распространённости в стационарах их приобретённой резистентности к наиболее широко применяемым антибиотикам являются крайне важными с точки зрения выбора эффективной эмпирической терапии.

## Материал и методы

Энтерококки выделяли из биосубстратов пациентов, находившихся на стационарном лечении в крупном медицинском центре в Санкт-Петербурге, аккумулирующем пациентов из различных регионов Российской Федерации. Проводили посев на кровяной агар отделяемого полости рта и глотки, послеоперационных ран, желудочного содержимого, фекалий, мочи, мокроты, бронхоальвеолярного лаважа и других биосубстратов. Микробиологическое исследование крови, цереброспинальной жидкости и других биологических образцов, в норме являющихся стерильными, осуществляли с применением бактериологических анализаторов (ВАСТЕС FX400, Beckton Dickinson, США; VactAlert, Biomerieux, Франция). Чашки Петри с внесённым биоматериалом или культурами, полученными при микробиологическом исследовании стерильных в норме биосубстратов в жидкой среде обогащения, инкубировали 20–24 ч при 37°C с последующим выделением чистой культуры. Видовую принадлежность выделенных культур оценивали методом MALDI-TOF масс-спектрометрии — времяпролетной масс-спектрометрии с лазерной десорбцией-ионизацией с помощью матрикса — (Microflex, Bruker Daltonics, Германия). Определение чувствительности к ампициллину, ванкомицину, тейкопланину, линезолиду, имипенему, норфлоксацину, рифампицину, тетрациклину, нитрофурантоину, эритромицину, фосфомицину, хлорамфениколу, нит-

рофурантоину и ко-тримоксазолу выполняли в соответствии с рекомендациями EUCAST (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) или CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). [6, 7] Последние использовали в случае отсутствия критериев оценки чувствительности и резистентности штаммов энтерококков к исследуемым антибиотикам в рекомендациях EUCAST. Для статистического анализа категориальных переменных использовали критерий Пирсона  $\chi^2$ . Различия считали значимыми при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

При микробиологическом исследовании образцов от госпитализированных в 2019 г. пациентов выделили 1562 штамма энтерококков. Культуры были получены из крови — 85 штаммов (5,4%), аортального клапана — 2 (0,1%), цереброспинальной жидкости — 4 (0,3%), плевральной жидкости — 2 (0,1%), ткани лёгких — 5 (0,3%), бронхоальвеолярного лаважа 24 (3,8%), отделяемого трахеостомы — 2 (0,1%), мокроты 37 (2,3%), мочи 574 (36,7%), фекалий 377 (24,1%), отделяемого послеоперационных ран — 30 (1,9%) изолятов; из других биосубстратов (отделяемое области поражения при диабетической стопе, лохии, отделяемое полости рта и глотки и т.д.) выделили 420 (26,9%) штаммов. Среди *Enterococcus* spp. преобладали *E. faecalis* — 948 (60,7%) и *E. faecium* — 606 (38,8%) штаммов. Другие виды энтерококков были представлены *E. avium* — 3 (0,2%), *E. casseliflavus* — 2 (0,1%), *E. gallinarum* — 2 (0,1%), *E. durans* — 1 (0,06%) штамм.

*Enterococcus* spp., выделенные из биологических образцов, являющихся в норме стерильными, составили 93 изолята, которые принадлежали видам *E. faecium*, *E. aecalis*, *E. avium*, *E. durans*. Среди 85 штаммов, изолированных из крови, были *E. faecalis* — 43 (50,6%), *E. faecium* — 41 (48,2%) и *E. durans* — 1 (0,6%) изолят. Выделенные из ликвора энтерококки — 4 изолята — относились к видам *E. faecalis* — 2, *E. faecium* — 1, *E. avium* — 1 штамм. Поражения аортального клапана сердца, выявленные у 2 пациентов, были вызваны в одном случае *E. faecalis*, в другом — *E. faecium*. Выделенные из плевральной жидкости энтерококки (2 штамма) в обоих случаях относились к виду *E. faecium*.

Среди энтерококков, выделенных из всех исследованных биосубстратов, были резистентны к ампициллину — 598 (38,3%), линезолиду — 2 (0,1%), имипенему — 587 (37,6%), норфлоксацину 790 (50,6%), рифампицину — 1065 (68,2%), тетрациклину — 1171 (75,0%), эритромицину — 1324 (84,8%), фосфомицину — 344 (22,0%), хлорамфениколу —

265 (17,0%), нитрофурантоину — 376 (24,1%), котримоксазолу — 633 (40,5%) изолятов. Были резистентны к ванкомицину 79 (5,1%) штаммов, к тейкопланину были устойчивы 97 (6,2%) исследованных изолятов энтерококков.

Особенно важной представляется оценка видового разнообразия и спектра антибиотикорезистентности штаммов энтерококков, выделенных из стерильных в норме биосубстратов. Поражения аортального клапана были в одном случае обусловлены *E.faecalis*, чувствительным ко всем изученным антибиотикам, в другом — *E.faecium*, резистентным к ампициллину, имипенему, рифампицину, эритромицину, нитрофурантоину.

Энтерококки — этиологические агенты инфекций центральной нервной системы — были представлены четырьмя штаммами, принадлежащими к трём различным видам. Два изолята *E.faecalis* были резистентны к тетрациклину, по одному из них — к рифампицину, эритромицину и хлорамфениколу. Единственный штамм *E.faecium*, изолированный из цереброспинальной жидкости, был резистентен к ампициллину, норфлоксацину, рифампицину, тетрациклину, эритромицину, хлорамфениколу, нитрофурантоину, котримоксазолу. Штамм *E.avium* был резистентен к рифампицину, тетрациклину, эритромицину.

Выделенные из плевральной жидкости два штамма *E.faecium* демонстрировали идентичный спектр антимикробной резистентности и были устойчивы к ампициллину, имипенему, рифампицину, эритромицину, норфлоксацину, тетрациклину.

Среди изолированных из крови *E.faecalis* (43 штамма) все исследованные культуры были чувствительны к ампициллину, ванкомицину, тейкопланину, линезолиду, имипенему, фосфомицину, нитрофурантоину. Устойчивость к норфлоксацину выявили у 17 (39,5%), рифампицину — у 19 (44,2%), тетрациклину — у 32 (74,4%), эритромицину — у 29 (67,4%), хлорамфениколу — у 13 (30,2%), котримоксазолу — у 14 (32,6%) штаммов.

Все выделенные из крови штаммы *E.faecium* (41 штамм) были резистентны к ампициллину, норфлоксацину и эритромицину. Резистентность к имипенему наблюдали у 39 (95,1%), к рифампицину — у 39 (95,1%), к тетрациклину — у 37 (90,2%), к фосфомицину — у 21 (51,2%), хлорамфениколу — у 3 (7,3%), нитрофурантоину — у 28 (68,2%), котримоксазолу — у 21 (51,2%) штамма. Все выделенные из крови штаммы *E.faecium* были чувствительны к линезолиду, устойчивы к ванкомицину были 8 (19,5%), к тейкопланину 9 (22,0%) изолятов.

Единственный изолированный из крови штамм *E.durans* был чувствителен ко всем антибактериальным препаратам, кроме ампициллина и тетрациклина.

Энтерококки способны вызывать разнообразные инфекции, наиболее часто — инфекции

мочевыделительной системы, бактериемию, сепсис, раневые инфекции, эндокардиты [8]. Эти микроорганизмы, а именно ванкомицинорезистентные штаммы, находятся под пристальным вниманием органов общественного здравоохранения. Так, Центр по контролю и профилактике заболеваний (США) признает такие микроорганизмы серьёзной угрозой общественному здравоохранению. Согласно отчёту 2019 г., в США наблюдали 54500 заболеваний и 5400 летальных случаев, обусловленных энтерококками. В отделениях трансплантации солидных органов ванкомицинорезистентные *E.faecium* являются наиболее частым агентом, вызывающим бактериемию и сепсис, связанные с постановкой центрального венозного катетера [9]. Согласно ECDC (Европейский Центр по Контролю Заболеваемости), в Европейском Союзе в 2019 г. резистентность к ванкомицину среди *E.faecium* составила 18,3% [10]. Всемирная Организация Здравоохранения отнесла ванкомицинорезистентные *E.faecium* к микроорганизмам высокого приоритета. [11]. Природная резистентность энтерококков к широкому кругу антимикробных препаратов делает особенно актуальным проведение микробиологического мониторинга их приобретённой устойчивости. Кроме того, в связи со сложностью видовой идентификации энтерококков классическими микробиологическими методами в рутинной практике недостаточно изученным остаётся видовое разнообразие *Enterococcus* spp. в отечественных стационарах: для определения вида энтерококков необходимо провести значительное количество биохимических тестов, валидность которых, тем не менее, не будет адекватной по сравнению с молекулярными методами [12–14].

При исследовании 1562 последовательных штаммов энтерококков из различных образцов, полученных от госпитализированных пациентов в 2019 г., выявили преобладание *E.faecalis* и *E.faecium*, составивших 60,7 и 38,8% от числа выделенных культур энтерококков, соответственно. Это коррелирует с данными о преобладании *E.faecalis*, в том числе по сравнению с *E.faecium*, среди энтерококков, вызывающих госпитальные инфекции [3, 15–17]. Наши данные зафиксировали отсутствие тенденции к наблюдаемому рядом исследователей преобладанию *E.faecium* среди энтерококков — этиологических агентов инфекционных заболеваний и осложнений, что, как правило, связывают с его распространённой резистентностью к антимикробным препаратам [18–20]. Различия данных по относительной частоте инфекций, обусловленных двумя наиболее распространёнными видами *E.faecalis* и *E.faecium* могут быть обусловлены различиями в методических подходах к их сбору и анализу — безусловное значение имеет контингент обследо-

ванных пациентов, вид биологического материала, а также выбор изолятов для последующего анализа. Представленные результаты были получены в ходе обследования стационарных больных в течение календарного года вне зависимости от этиологии основного заболевания и области поражения; анализ включал все последовательные штаммы. Другие виды энтерококков — *E.avium*, *E.casseliflavus*, *E.gallinarum*, *E.durans* — выделяли редко (в 0,5% случаев), что соответствует общепринятому мнению о ведущей роли в этиологии инфекционных заболеваний энтерококковой этиологии видов *E.faecalis* и *E.faecium* [21–24].

При исследовании чувствительности энтерококков к антимикробным препаратам обнаружили высокий уровень резистентности к эритромицину, тетрациклину и рифампицину, составивший 84,8, 75,0 и 68,2%, соответственно, что свидетельствует о нежелательности применения этих препаратов для эмпирической терапии инфекций, этиологическими агентами которых с высокой вероятностью могут быть или являются энтерококки.

Учитывая широкое применение ванкомицина при терапии инфекций, обусловленных грамположительными микроорганизмами, наибольший интерес в исследовании представляло определение уровня резистентности к этому препарату [25]. Устойчивость энтерококков к ванкомицину составила 5,1%. Резистентными к ванкомицину были преимущественно *E.faecium* — среди изолятов этого вида 12,7% штаммов были резистентны к ванкомицину. Среди наиболее распространённого в больничной среде вида *E.faecalis* уровень резистентности составил 0,2% ( $p < 0,00001$ ). Устойчивость к ванкомицину при инфекциях кровотока наблюдали исключительно у *E.faecium*, она составила 19,5%, что соответствовало уровню резистентности в европейских странах [10]. Все штаммы энтерококков, принадлежащих к редко встречающимся видам (*E.avium*, *E.casseliflavus*, *E.gallinarum*, *E.durans*), были чувствительны к ванкомицину. Резистентность к линезолиду наблюдали у 2 штаммов *E.faecalis*, выделенных у двух пациенток — из цервикального канала у одной и мочи у второй. Оба штамма не были госпитальными — они были изолированы при внебольничных инфекциях.

## Заключение и выводы

1. Среди *Enterococcus* spp., выделенных в 2019 г. из разнообразных биосубстратов госпитализированных пациентов, преобладали два вида —

*E.faecalis* и *E.faecium*, которые составили 99,5% всех изолятов энтерококков. Частота выявления первого вида превышала частоту выделения последнего на 56%. Другие виды *Enterococcus* spp. (*E.avium*, *E.casseliflavus*, *E.gallinarum*, *E.durans*) изолировали из биологических проб редко — в 0,5% случаев.

2. Устойчивость к антибиотикам наблюдали у всех видов энтерококков. Наибольший уровень резистентности у исследованных микроорганизмов зафиксировали к эритромицину (84,8%), тетрациклину (75,0%) и рифампицину (68,2%). Устойчивыми к ванкомицину были 5,1% штаммов энтерококков. Резистентность к этому препарату выявляли преимущественно у *E.faecium* — устойчивыми были 12,7% изолятов. Резистентность среди *E.faecalis* составила 0,2% ( $p < 0,00001$ ). Подавляющее большинство резистентных к ванкомицину штаммов энтерококков были резистентны к тейкопланину.

3. Инфекции кровотока наиболее часто вызывали *E.faecalis* и *E.faecium* с незначительным преобладанием первого вида. Устойчивость к ванкомицину при инфекциях кровотока наблюдали исключительно у *E.faecium*, она составила 19,5%. Все выделенные из крови штаммы *E.faecium* были мультирезистентны.

4. Резистентность к линезолиду наблюдали лишь у 2 внебольничных штаммов *E.faecalis*, что может свидетельствовать о распространении резистентности к линезолиду преимущественно во внебольничной среде.

### Дополнительная информация

**Участие авторов.** Баранцевич Н. Е. — анализ антимикробной резистентности, анализ и интерпретация результатов, написание текста. Волкова С. В. — практическая работа с культурами микроорганизмов. Зарицкий А. Ю. — курация и обследование госпитализированных пациентов, финальное утверждение рукописи. Баранцевич Е. П. — анализ и интерпретация результатов, написание текста, редактирование, финальное утверждение рукописи.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Внешнее финансирование.** Работа выполнена в рамках темы государственного задания: «Разработка тест-системы для выявления генов резистентности энтерококков к гликопептидам (vanA/vanB/vanC)», номер ЕГИСУ: 121031100290-8.

## Литература/References

1. Zaheer R., Cook S.R., Barbieri R., Goji N., Cameron A., Petkau A. et al. Author Correction: Surveillance of *Enterococcus* spp. reveals distinct species and antimicrobial resistance diversity across a One-Health continuum. *Sci Rep.* 2020; 10 (1): 13401. doi: 10.1038/s41598-020-69044-5.

2. Hollenbeck B.L., Rice L.B. Intrinsic and acquired resistance mechanisms in enterococcus. *Virulence.* 2012; 3 (5): 421–433. doi: 10.4161/viru.21282.

3. Farman M., Yasir M., Al-Hindi R.R., Farraj S.A., Jiman-Fatani A.A., Alawi M. et al. Genomic analysis of multidrug-resistant clinical *Enterococcus faecalis* isolates for antimicrobial resistance genes and virulence factors from the western region of Saudi Arabia. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2019; 8: 55. doi: 10.1186/s13756-019-0508-4.

4. Suppli M., Aabenhus R., Harboe Z.B., Andersen L.P., Tvede M., Jensen J.U. Mortality in enterococcal bloodstream infections increases with inappropriate antimicrobial therapy. *Clin Microbiol Infect.* 2011; 17 (7): 1078–1083. doi: 10.1111/j.1469-0691.2010.03394.x.
5. Billington E.O., Phang S.H., Gregson D.B., Pitout J.D., Ross T., Church D.L. et al. Incidence, risk factors, and outcomes for *Enterococcus* spp. blood stream infections: a population-based study. *Int J Infect Dis.* 2014; 26: 76–82. doi: 10.1016/j.ijid.2014.02.012.
6. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters, version 9.0, 2019. Available at: [https://www.eucast.org/ast\\_of\\_bacteria/previous\\_versions\\_of\\_documents/](https://www.eucast.org/ast_of_bacteria/previous_versions_of_documents/). Accessed September 17, 2021.
7. CLSI Performance Standards For Antimicrobial Susceptibility Testing. 29th Ed. CLSI guideline M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2019.
8. Goh H.M.S., Yong M.H.A., Chong K.K.L., Kline K.A. Model systems for the study of *Enterococcal* colonization and infection. *Virulence.* 2017 Nov 17; 8 (8): 1525–1562. doi: 10.1080/21505594.2017.1279766.
9. CDC. Antibiotic Resistance Threats in the United States Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, CDC; 2019 <http://dx.doi.org/10.15620/cdc:82532>.
10. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-Net) — Annual Epidemiological Report 2019. Stockholm: ECDC; 2020.
11. WHO Global Priority List of Antibiotic-Resistant Bacteria to Guide Research, Discovery and Development of New antibiotics. Available at: [https://www.who.int/medicines/publications/WHO-PPL-Short\\_Summary\\_25Feb-ET\\_NM\\_WHO.pdf](https://www.who.int/medicines/publications/WHO-PPL-Short_Summary_25Feb-ET_NM_WHO.pdf). Accessed September 17, 2021
12. Manero A., Blanch A.R. Identification of *Enterococcus* spp. with a biochemical key. *Appl Environ Microbiol.* 1999; 65 (10): 4425–4430. doi:10.1128/AEM.65.10.4425-4430.1999.
13. Angeletti S., Lorino G., Gherardi G., Battistoni F., De Cesaris M., Dicuonzo G. Routine molecular identification of enterococci by gene-specific PCR and 16S ribosomal DNA sequencing. *J Clin Microbiol.* 2001; 39 (2): 794–797. doi:10.1128/JCM.39.2.794-797.2001.
14. Stepien-Pyśniak D., Hauschild T., Rózański P., Marek A. MALDI-TOF Mass Spectrometry as a Useful Tool for Identification of *Enterococcus* spp. from Wild Birds and Differentiation of Closely Related Species. *J Microbiol Biotechnol.* 2017; 27 (6): 1128–1137. doi: 10.4014/jmb.1612.12036.
15. Дехнич А.В., Кречикова О.И., Туркова Л.И., Страчунский Л.С. Энтерококковое носительство и антибиотикорезистентность в отделении выхаживания недоношенных новорождённых. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2001; 3 (1): 28–38. [Dekhnitch A.V., Kretchikova O.I., Turkova L.I., Strauchounski L.S. Enterococcal carriage and antimicrobial resistance in premature born unit. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy.* 2001; 3 (1): 28–38 (in Russian)]
16. Soheili S., Ghafourian S., Sekawi Z., Neela V.K., Sadeghifard N., Taherikalani M. et al. The mazEF toxin-antitoxin system as an attractive target in clinical isolates of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis*. *Drug Des Devel Ther.* 2015; 9: 2553–2561. doi: 10.2147/DDDT.S77263.
17. Hamada Y., Magarifuchi H., Oho M., Kusaba K., Nagasawa Z., Fukuoka M. et al. Clinical features of enterococcal bacteremia due to ampicillin-susceptible and ampicillin-resistant enterococci: An eight-year retrospective comparison study. *J Infect Chemother.* 2015 Jul; 21 (7): 527–530. doi: 10.1016/j.jiac.2015.04.001.
18. Sattari-Maraji A., Jabalameli F., Node Farahani N., Beigverdi R., Emameini M. Antimicrobial resistance pattern, virulence determinants and molecular analysis of *Enterococcus faecium* isolated from children infections in Iran. *BMC Microbiol.* 2019; 19 (1): 156. doi: 10.1186/s12866-019-1539-y.
19. Фёдорова А.В., Клясова Г.А., Фролова И.Н., Хрульнова С.А., Ветохина А.В., Капорская Т.С. и др. Антибиотикорезистентность *Enterococcus faecium* и *Enterococcus faecalis*, выделенных из гемокультуры от больных с опухолями системы крови, в разные периоды исследования. Онкогематология. 2021; 16 (1): 54–63. doi: 10.17650/1818-8346-2021-16-1-54-63. [Fedorova A.V., Klyasova G.A., Frolova I.N., Khrulnova S.A., Vetokhina A.V., Kaporskaya T.S. et al. Antimicrobial resistance of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis*, isolated from blood culture of patients with hematological malignancies during different study periods. *Oncohematology.* 2021; 16 (1): 54–63. doi: 10.17650/1818-8346-2021-16-1-54-63. (in Russian)]
20. Zhang Y., Du M., Chang Y., Chen L.A., Zhang Q. Incidence, clinical characteristics, and outcomes of nosocomial *Enterococcus* spp. bloodstream infections in a tertiary-care hospital in Beijing, China: a four-year retrospective study. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2017; 6: 73. Published 2017 Jul 4. doi: 10.1186/s13756-017-0231-y.
21. Tian Y., Yu H., Wang Z. Distribution of acquired antibiotic resistance genes among *Enterococcus* spp. isolated from a hospital in Baotou, China. *BMC Res Notes.* 2019; 12 (1): 27. doi: 10.1186/s13104-019-4064-z.
22. Růžicková M., Vítězová M., Kushkevych I. The characterization of *Enterococcus* genus: resistance mechanisms and inflammatory bowel disease. *Open Med (Wars).* 2020; 15: 211–224. doi: 10.1515/med-2020-0032.
23. Ramos S., Silva V., Dapkevicius Md.L.E., Igrejas G., Poeta P. Enterococci, from Harmless Bacteria to a Pathogen. *Microorganisms.* 2020; 8 (8): 1118. doi: 10.3390/microorganisms8081118.
24. Parameswarappa J., Basavaraj V.P., Basavaraj C.M. Isolation, identification, and antibiogram of enterococci isolated from patients with urinary tract infection. *Ann Afr Med.* 2013; 12 (3): 176–181. doi: 10.4103/1596-3519.117629.
25. Сидоренко С.В., Тишков В.И. Молекулярные основы резистентности к антибиотикам. Успехи биологической химии. 2004; 44: 263–306. [Sidorenko S.V., Tishkov V.I. Molekulyarnye osnovy rezistentnosti k antibiotikam. *Uspekhi Biologicheskoi Khimii.* 2004; 44: 263–306. (in Russian)]

## Информация об авторах

*Баранцевич Наталья Евгеньевна* — научный сотрудник, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация. eLIBRARY: SPIN-код: 3914-4499; Author ID: 785835. Scopus Author ID: 55880381000. ORCID: 0000-0002-1000-2240

*Волкова Светлана Владимировна* — заведующая клинической микробиологической лабораторией, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация

*Зарицкий Андрей Юрьевич* — д. м. н., профессор, директор Института онкологии и гематологии, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация. eLIBRARY Author ID: 109683. Scopus Author ID: 6506410026. WOS Research ID: A-8478-2016

*Баранцевич Елена Петровна* — д. м. н., заведующая научно-исследовательским отделом микробиологии и внутрибольничных инфекций, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация. eLIBRARY SPIN-код: 3534-1010. AuthorID: 268934. Scopus Author ID: 6601955793. WOS Research ID: S-1455-2016. ORCID: 0000-0002-4800-3345

## About the authors

*Natalia E. Barantsevich* — Almazov National Medical Research Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint-Petersburg, Russian Federation. eLIBRARY: SPIN: 3914-4499; Author ID: 785835. Scopus Author ID: 55880381000. ORCID: 0000-0002-1000-2240

*Svetlana V. Volkova* — Almazov National Medical Research Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint-Petersburg, Russian Federation.

*Andrey Yu. Zaritsky* — Almazov National Medical Research Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint-Petersburg, Russian Federation. eLIBRARY Author ID: 109683. Scopus Author ID: 6506410026. WOS Research ID: A-8478-2016

*Elena P. Barantsevich* — D.Sc. in medicine, Almazov National Medical Research Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint-Petersburg, Russian Federation. eLIBRARY SPIN: 3534-1010. AuthorID: 268934. Scopus Author ID: 6601955793. WOS Research ID: S-1455-2016. ORCID: 0000-0002-4800-3345

# Комбинация наносомальной формы доксорубина, интерферона альфа и нитроглицерина в терапии крыс Вистар с глиобластомой 101.8

\*В. В. КУДЕЛЬКИНА, А. С. ХАЛАНСКИЙ, А. И. АЛЕКСЕЕВА,  
П. Л. ГОРЕЛИКОВ, А. М. КОСЫРЕВА

ФГБНУ НИИ морфологии человека им. академика А. П. Авцына, Москва, Российская Федерация

## Combination of Nanosomal Form of Doxorubicin, Interferon Alpha, and Nitroglycerin in the Treatment of 101.8 Glioblastoma in Wistar Rats

\*VERA V. KUDELKINA, ALEXANDER S. KHALANSKY,  
ANNA I. ALEKSEEVA, PETR L. GORELIKOV, ANNA M. KOSYREVA

A. P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology, Moscow, Russian Federation

### Резюме

Поиск эффективных подходов лечения пациентов с глиобластомой является одной из сложных задач нейронкологии, стандартные методы терапии показывают ограниченные результаты. Комбинированная терапия, включающая разные противоопухолевые механизмы, позволяет повысить её эффективность. В нашей работе исследовали сочетание PLGA-наночастиц доксорубина (Докс-PLGA), противоопухолевого цитокина — интерферона  $\alpha$  (ИФН $\alpha$ ) и донора оксида азота (NO) нитроглицерина (НГ) как в системе *in vitro* (глиома С6 крысы), так и *in vivo* (глиобластома 101.8, крысы). МТТ-анализ на клеточной культуре С6 показал большую цитотоксичность и антипролиферативный эффект комбинации ИФН $\alpha$  с Докс-PLGA и НГ. Наименьшую выживаемость опухолевых клеток наблюдали при использовании высокой дозы ИФН $\alpha$  (10 нг/мл) в монорежиме. В эксперименте *in vivo* 32 самкам крыс Вистар с глиобластомой 101.8 проводили терапию в следующих режимах: Докс-PLGA+НГ; Докс-PLGA+ИФН $\alpha$ ; Докс-PLGA+ИФН $\alpha$ +НГ. Для всех групп с терапией отмечено достоверное увеличение медианной выживаемости и продолжительности жизни (УПЖ) относительно группы без лечения. Наибольшую медианную продолжительность жизни (27 сут), выживаемость до 100 сут (1 животное), УПЖ (131%) наблюдали у животных, получавших комбинацию Докс-PLGA+ИФН $\alpha$ +НГ, по сравнению с группой без лечения, в которой медианная продолжительность жизни составила 15 сут. Таким образом, терапия экспериментальной глиобластомы как в системе *in vivo*, так и *in vitro* комбинацией Докс-PLGA+ИФН $\alpha$ +НГ оказывает наиболее выраженный терапевтический и противоопухолевый эффект, что необходимо учитывать при разработке новых более эффективных методов лечения глиобластом человека.

**Ключевые слова:** глиобластома 101.8; глиома С6; оксид азота; доксорубин-PLGA; интерферон альфа, крысы Вистар

**Для цитирования:** Куделькина В. В., Халанский А. С., Алексеева А. И., Гореликов П. Л., Косырева А. М. Комбинация наносомальной формы доксорубина, интерферона альфа и нитроглицерина в терапии крыс Вистар с глиобластомой 101.8. *Антибиотики и химиотерапия*. 2021; 66: 9–10: 17–23. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-9-10-17-23.

### Abstract

The search for effective approaches to the treatment of patients with glioblastoma is one of the difficult tasks of neuro-oncology; standard methods of therapy show limited results. Combined therapy, which includes different antitumor mechanisms, can increase its effectiveness. The combination of PLGA nanoform of doxorubicin (Dox-PLGA), antitumor cytokine — interferon alfa (IFN- $\alpha$ ), and nitrogen oxide (NO) donor nitroglycerin (NG) was investigated in this work both *in vitro* (rat C6 glioma) and *in vivo* (rat 101.8 glioblastoma). MTT assay in the C6 cell line showed great cytotoxicity and antiproliferative effect of the combination of IFN- $\alpha$  with Dox-PLGA and NG. The lowest tumour cell survival was observed when using a high dose of IFN- $\alpha$  (10 ng/ml) in mono-mode. In the *in vivo* experiment, 32 female Wistar rats with 101.8 glioblastoma received therapy in the following modes: Dox-PLGA + NG; Dox-PLGA + IFN- $\alpha$ ; Dox-PLGA + IFN- $\alpha$  + NG. There was a significant increase in median survival and life expectancy (ILE) in all groups receiving therapy compared to the group that did not undergo treatment. The longest median lifespan (27 days), survival up to 100 days (1 animal), ILE (131%) were observed in animals that received the combination Dox-PLGA + IFN- $\alpha$  + NG, compared to the group without treatment, in which the median lifespan was 15 days. Thus, the therapy of experimental

© Коллектив авторов, 2021

\*Адрес для корреспонденции: ул. Цюрупы, д. 3, НИИ морфологии человека им. академика А. П. Авцына, г. Москва, Российская Федерация, 105077. E-mail: verakudelkina8047@gmail.com

© Team of Authors, 2021

\*Correspondence to: 3 Tsurupy st., A. P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology, Moscow, 105077 Russian Federation. E-mail: verakudelkina8047@gmail.com

**glioblastoma both *in vivo* and *in vitro* with the combination of Dox-PLGA + IFN- $\alpha$  + NG has the most pronounced therapeutic and antitumor effect, which must be taken into account when developing new more effective methods of treating human glioblastomas.**

**Keywords:** 101.8 glioblastoma; C6 glioma; nitrogen oxide; doxorubicin-PLGA; interferon alpha, Wistar rats

**For citation:** Kudelkina V. V., Khalansky A. S., Alekseeva A. I., Gorelikov P. L., Kosyreva A. M. Combination of nanosomal form of doxorubicin, interferon alpha, and nitroglycerin in the treatment of 101.8 glioblastoma in Wistar rats. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2021; 66: 9–10: 17–23. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-9-10-17-23.

## Введение

Глиобластома (ГБ) — наиболее часто встречаемая опухоль среди первичных злокачественных опухолей головного мозга взрослых с крайне неблагоприятным прогнозом. Существующий стандарт лечения включает хирургическое удаление с последующей радио- и химиотерапией темозоломидом. Несмотря на улучшение краткосрочной выживаемости пациентов с ГБ при стандартной терапии, пятилетняя выживаемость остаётся неудовлетворительной, составляя около 5% [1].

Противоопухолевый антибиотик доксорубин (Докс) широко используется в химиотерапии пациентов с разными солидными новообразованиями [2]. Отмечена его высокая цитотоксичность для клеток глиомы *in vitro*. Однако он не применяется в нейроонкологии, так как считается, что он не проникает через ГЭБ, являясь субстратом для одного из белков множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) — Р-гликопротеина. Для адресной доставки доксорубина к клеткам опухоли используют полимерные наночастицы PLGA, которые избирательно проникают через патологически изменённые сосуды опухоли, накапливаются в ткани ГБ и способствуют снижению МЛУ [3]. Ранее в работах показано повышение противоопухолевой эффективности Докс-PLGA, при этом в комплексе с сурфактантом PS 80 [4] и полоксамером P 188 [5] эффекты доксорубина усиливались [6]. Полагают, что при системном введении наночастиц PLGA, покрытых полоксамером P 188, на их поверхности адсорбируются аполипротеины E и A, которые взаимодействуют с рецепторами ЛПНП на мембранах эндотелиальных клеток и таким образом опосредуя эндоцитоз наночастиц в эти клетки с последующим их поступлением в ГБ трансцитозом [7].

Несмотря на более выраженный противоопухолевый эффект Докс-PLGA по сравнению с Докс, терапия ГБ остаётся сложной задачей. Необходимы новые терапевтические подходы для улучшения выживаемости больных с ГБ. Молекулярно-генетическая нестабильность и гетерогенность ГБ, иммуносупрессивная среда, выраженный инфильтративный рост и устойчивость к различным апоптотическим стимулам препятствуют успешной терапии [8, 9]. Известно, что в солидных опухолях экстравазация макромолекул

значительно усиливается, что связывают с феноменом повышенной проницаемости и удержания макромолекул (EPR — the enhanced permeability and retention effect). Атипичные кровеносные сосуды опухоли имеют неполноценное строение, которое обуславливает патологию кровообращения: окклюзии, эмболии, тромбозы, кровоизлияния, что препятствует поступлению противоопухолевых веществ в ткани опухоли при их системном введении. Установлено, что эффект EPR [10] опосредуется сосудистыми медиаторами: NO, брадикинином, простагландинами и факторами роста эндотелия сосудов [11, 12]. Для увеличения накопления в опухоли противоопухолевых веществ, в том числе в составе наноносителей, применяют вазодилататоры. Одни из них — нитроглицерин (НГ) и нитросорбид, которые используют в качестве доноров NO [13–15]. Известно, что NO, воздействуя на эндотелий сосудов опухоли, увеличивает его проницаемость, что может повышать противоопухолевый эффект доксорубина при терапии глиобластомы 101.8 у крыс [16, 17]. Иммуносупрессия в опухоли создаётся и поддерживается как самой опухолью [18], так и системной химиотерапией. Следовательно, преодоление иммуносупрессии, усиление проницаемости сосудов ГБ для противоопухолевых веществ, как и ингибирование МЛУ, имеют решающее значение для успешной противоопухолевой терапии [19]. Установлено, что иммуносупрессия, при химиотерапии, может быть скомпенсирована применением цитокина интерферона альфа (ИФН $\alpha$ ). ИФН $\alpha$  — это эндогенный гликопротеин, выделяемый различными иммунными клетками с противовирусной, антимикробной и противоопухолевой активностью, который применяется в терапии в рекомбинантной форме [20]. Известны противоопухолевые свойства ИФН I типа ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\omega$ ), которые используются при лейкемии, меланоме, карциноме почки, саркоме Капоши, волосатоклеточном лейкозе, филаделфия-отрицательных миелопролиферативных новообразованиях [20–23]. Имеются свидетельства противоопухолевой активности ИФН в комбинации с химиотерапией при ГБ *in vitro* [24] и *in vivo* [25]. ИФН I типа сенсibiliзируют резистентные клетки глиомы человека к терапии темозоломидом *in vitro* за счёт подавления экспрессии MGMT (ген O(6)-метил-

**Таблица 1. Экспериментальные группы, дозы исследуемых препаратов *in vitro*\***  
**Table 1. Experimental groups, *in vitro* doses of studied drugs\***

Контроль	—
ИФН $\alpha$ 5000	5000 МЕ/мл
ИФН $\alpha$ 500+НГ	ИФН $\alpha$ 500 МЕ/мл и НГ 10 $\mu$ моль/л
Докс-PLGA+НГ	Докс-PLGA 10 мкг/мл (по Докс) и 10 $\mu$ моль/л НГ
ИФН $\alpha$ 500+НГ+Докс-PLGA	ИФН $\alpha$ 500 МЕ/мл, НГ 10 $\mu$ моль/л и Докс-PLGA 10 мкг/мл (по Докс)

**Примечание.** \* — исследуемые препараты растворяли в 0,1% водном растворе полоксамера Р 188.

**Note.** \* — the studied preparations were dissolved in a 0.1% aqueous solution of poloxamer 188.

**Таблица 2. Режим и дозы введение исследуемых препаратов животным с глиобластомой 101.8**  
**Table 2. The regimen and doses of the studied drugs' administration to animals with 101.8 glioblastoma\***

Без лечения, n=9	—
Докс-PLGA+ИФН $\alpha$ , n=5	Докс-PLGA в дозе 1,5 мг/кг (по Докс) в/в на 2-е, 5-е и 8-е сутки после имплантации; ИФН $\alpha$ подкожно (холка) в дозе 450 тыс. МЕ/кг ежедневно со 2-го дня после имплантации, 10 дней
Докс-PLGA+НГ, n=10	Докс-PLGA в дозе 1,5 мг/кг (по Докс) в/в на 2-е, 5-е и 8-е сутки после имплантации; НГ в/в в дозе 62 мкг/кг с интервалом введения на 2-е, 5-е и 8-е сутки после имплантации
Докс-PLGA+ИФН $\alpha$ +НГ, n=7	Докс-PLGA в дозе 1,5 мг/кг (по Докс) в/в на 2-е, 5-е и 8-е сутки после имплантации; ИФН $\alpha$ подкожно в дозе 450 тыс. МЕ/кг ежедневно со 2-го дня после имплантации, 10 дней; НГ в/в в дозе 62 мкг/кг с интервалом введения на 2-е, 5-е и 8-е сутки после имплантации

гуанин-ДНК-метилтрансферазы, кодирует фермент репарации ДНК) и активации сигнального пути p53 (белок супрессор опухоли) [24], в некоторых случаях данная комбинация препаратов, была более эффективна у пациентов с ГБ, чем монорежим темозоломидом [22, 25].

Возможно, что эффективность Докс-PLGA терапии при ГБ можно повысить с помощью комбинации препаратов, усиливающих его действие: донором оксида азота (NO) НГ и провоспалительным цитокином ИФН $\alpha$ . Поэтому, цель нашей работы заключалась в оценке ранее не исследованного сочетанного действия наноформы химиопрепарата (Докс-PLGA) с вазодилататором НГ и с провоспалительным, антипролиферативным цитокином ИФН $\alpha$  на моделях ГБ *in vitro* и *in vivo*.

## Материал и методы

### Исследуемые препараты

1. Интерферон альфа, лиофилизат (ИНФ $\alpha$ , НПО Микрорен, Россия) для *in vitro*.
2. Интерферон альфа, лиофилизат (ИНФ $\alpha$ , ООО Агровет, Россия) для *in vivo*.
3. Нитроглицерин, лиофилизат (НГ, ООО ОЗОН, Россия).
4. Доксорубин-PLGA (Докс-PLGA, 50:50, партия 1941), лиофилизат. 79% Докс связано с полимером (ООО Технология лекарств, Россия).

### Исследование *in vitro*

**Объект исследования** — культура перевиваемой линии клеток глиомы С6 крысы, которая применяется в качестве биологической модели в системе доклинического скрининга противопухольных веществ [26].

**Культирование глиомы С6.** Для получения клеточной модели перевиваемую глиому С6, хранящуюся в атмосфере жидкого азота, размораживали и выращивали сначала в пластиковых флаконах, а затем на 96-луночных планшетах в количестве  $10^4$  клеток на лунку, инкубировали 24 ч до получения монослоя. Клетки культивировали в среде IMDM GLUTA MAX (GIBCO, США) с добавлением 10% фетальной телячьей сыворотки (Hyclone,

США) или без неё (бессывороточная культуральная среда), 0,1 мг/мл антибиотика пенициллина+стрептомицина (GIBCO, США) при  $t=37,0^{\circ}\text{C}$ , в атмосфере 5% углекислого газа.

**Оценка метаболической активности клеток С6, МТТ-тест.** Исследование метаболической активности клеток оценивали по восстановлению солей тетразолия МТТ (Sigma, США). Через 24 ч после субкультивирования на 96-луночных планшетах и образования монослоя к клеткам опытной группы добавляли исследуемые препараты или их комбинации (по 6 повторов на каждый препарат или комбинацию). Препараты растворяли в 1% растворе Р 188 или на бессывороточной среде (табл. 1). Через 24 ч после инкубации с исследуемыми препаратами был проведен цитотоксический тест: в лунки было добавлено 0,02 мл 5% раствора МТТ-реагента, после 2 ч инкубации среда была удалена из лунок и был добавлен растворитель ДМСО. Проводили спектрофотометрию на микропланшетном ридере (Anthos 2010, Австрия) при длине волны 495 нм. Жизнеспособность рассчитывали по формуле: % жизнеспособных клеток =  $\text{Do}/\text{Dk} \times 100\%$ ; где: Do — оптическая плотность раствора в опытной группе и Dk — оптическая плотность раствора в контроле [27].

### Исследование *in vivo*

**Объект исследования** — глиобластома 101.8 крыс, соответствующая требованиям ВОЗ для перевиваемой глиобластомы и имеющая высокую воспроизводимость при интракраниальной пересадке животным [28].

Эксперимент выполнен на 32 самках крыс Вистар массой тела 200–300 г. (филиал «Столбовая» НЦБТ ФМБА России). Животных содержали в условиях вивария при температуре  $23\pm 3^{\circ}\text{C}$  и относительной влажности 35–65%. Доступ к воде и корму был свободным. При работе с животными руководствовались Национальным стандартом Российской Федерации «Принципы надлежащей лабораторной практики» (Приказ Ростехрегулирования № 544-ст от 02.12.2009, ГОСТ Р 53434-2009), ГОСТ 33216-2014 «Правила работы с грызунами и кроликами», соблюдали принципы гуманного обращения в соответствии с директивой Европейского парламента и совета ЕС2010/63/EU статья 6 по охране животных, используемых в научных целях. На проведение работы было получено разрешение биоэтической комиссии ФГБНУ «НИИ морфологии человека». В работе использовали штамм глиобластомы 101.8 крыс Вистар из коллекции клеточных линий и штаммов опухолей нервной системы ФГБНУ «НИИ морфологии человека».

**Таблица 3. Жизнеспособность клеточной линии глиомы С6 при воздействии исследуемых препаратов и их сочетаний, Me (Q1; Q3)**

**Table 3. Viability of C6 glioma cell lines under the influence of the studied drugs and their combinations, Me (Q1; Q3)**

Контроль	100 (98; 101)
ИФН $\alpha$ 5000	14 (11; 16)*; $p < 0,001^{\#}$
Докс-PLGA+ИГ	47 (44; 49)
ИФН $\alpha$ 500+ИГ	54 (53; 60)*
ИФН $\alpha$ 500+ИГ+Докс-PLGA	30 (27; 34)*; $p < 0,001^{\#}$

**Примечание.** # — препараты растворяли в 0,1% водном растворе полоксамера Р 188; \* — относительно контрольной группы; # — бессывороточная культуральная среда.

**Note.** # — preparations were dissolved in 0.1% aqueous solution of poloxamer 188; \* — relative to the control group; # — serum-free culture medium.

**Таблица 4. Продолжительность жизни и выживаемость животных с глиобластомой 101.8**

**Table 4. Life expectancy and survival rate of animals with 101.8 glioblastoma**

Экспериментальные группы	N	N/ G+	N/ G-	СПЖ, сут.	Me (Q1; Q2), сут.	УПЖ (%)
ГБ без лечения	9	9	0	16	15 (14; 17)	
Докс-PLGA+ИФН $\alpha$	5	5	0	28	27 (23; 28); $p < 0,05^*$	75
Докс-PLGA+ИГ	10	10	0	29	27 (25; 35); $p < 0,001^*$	81
Докс-PLGA+ИФН $\alpha$ +ИГ	8	7	1	37	27 (26; 37); $p < 0,001^*$	131

**Примечание.** N/G — количество животных без (-) с (+) глиомой; СПЖ — средняя продолжительность жизни; Me — медианная продолжительность жизни; # — препараты растворяли в 1% водном растворе полоксамера Р 188; УПЖ — увеличение продолжительности жизни относительно группы без лечения; \* — статистические различия с группой без лечения.

**Note.** N/G — number of animals without (-) and with (+) glioma; ALE — the average life expectancy; Me — the median life expectancy; # — preparations were dissolved in 1% aqueous solution of poloxamer 188; ILE — increase in life expectancy relative to the group without treatment; \* — statistical differences compared to the group without treatment.

Моделирование глиобластомы 101.8 детально описано в статье ранее [29]. Ткань опухоли трансплантировали под наркозом (Золетил) в область полосатого тела головного мозга крыс.

Животные с имплантированной опухолью были разделены на группы (табл. 2).

Исследование противоопухолевого действия препаратов проводили в соответствии с руководством по доклиническому исследованию лекарственных средств [30]. Противоопухолевую активность тестируемых форм оценивали по средней продолжительности жизни (СПЖ, сут), выживаемости и показателям увеличения продолжительности жизни (УПЖ %).

$$\text{УПЖ} = (\text{СПЖ}_{\text{опыта}} - \text{СПЖ}_{\text{контроля}}) / \text{СПЖ}_{\text{контроля}} \times 100$$

Для графического изображения специфической активности препаратов также строили кривые Каплана–Мейера. Для этого на оси абсцисс отмечали дни наблюдения, а на оси ординат — процент выживших на данный момент животных. Наблюдение проводили в течение 100 сут жизни животных с последующим морфологическим исследованием головного мозга.

#### Статистическая обработка результатов

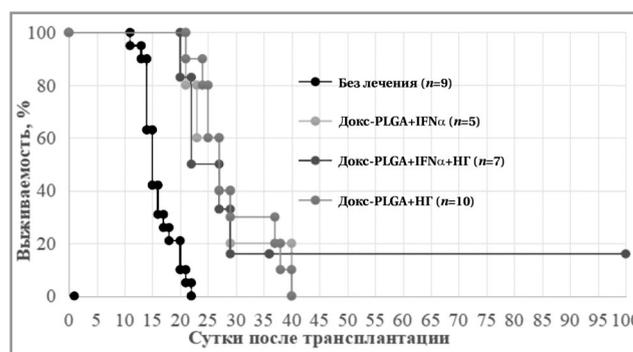
Данные анализировали в программе STATISTICA 8.1. Количественные данные между группами сравнивали с помощью непараметрического *H*-критерия Краскела–Уоллиса. Результаты представляли в виде медианы и квартилей. Различия считали значимыми при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

В системе *in vivo* мы оценивали цитотоксичность комбинации противоопухолевых веществ на клеточной линии глиомы С6. По результатам МТТ-теста выживаемость интактного контроля составила 100%. Все исследуемые препараты и их комбинации в указанных дозах статистически значимо снижали выживаемость клеток глиомы С6 (табл. 3). Выживаемость клеток при сочетании

Докс-PLGA+ИГ+ИФН $\alpha$  по сравнению с контрольной группой составила 30% ( $p < 0,001$ ) и была ниже, чем в группах Докс-PLGA+ИГ и Докс-PLGA+ИФН $\alpha$ . Анализ множественных сравнений выживаемости клеток глиомы С6 в исследованных группах показал наибольшее ( $p < 0,001$ ; 14% выживаемость) ингибирующее воздействие на клетки опухоли высокой дозы ИФН $\alpha$  (5000 МЕ/мл).

В эксперименте *in vivo* средняя продолжительность жизни крыс с глиобластомой 101.8 составила 16 сут, медианная продолжительность жизни — 15 сут (табл. 4, рисунок). Во всех группах животных с терапией статистически значимо уве-



**Кривые выживаемости Каплана–Мейера животных с глиобластомой 101.8 и при комбинированной терапии Докс-PLGA+ИФН $\alpha$ +ИГ, Докс-PLGA+ИГ, Докс-PLGA+ИФН $\alpha$**

**Kaplan–Meier survival curves in animals with 101.8 glioblastoma undergoing combined therapy with Dox-PLGA + IFN-a + NG, Dox-PLGA + NG, Dox-PLGA + IFN-a**

личивался показатель УПЖ относительно группы без лечения. УПЖ для групп животных, получавших Докс-PLGA+ ИФН $\alpha$  + ИГ, составило 131% (СПЖ 37 сут.; Me 27;  $p < 0,001$ ) относительно не получавших лечение животных. Комбинация Докс-PLGA и ИФН $\alpha$  увеличивало медиану продолжительности жизни животных до 27 сут (СПЖ 28 сут.;  $p < 0,05$ ; УПЖ 75%) относительно животных без терапии. Комбинация Докс-PLGA+ИГ увеличивала СПЖ до 29 сут (Me 27сут.;  $p < 0,05$ ), УПЖ составило 81% относительно группы животных без лечения.

Таким образом, показано значительное повышение цитотоксичности для клеток глиомы C6 *in vitro* при применении ИФН $\alpha$  +Докс-PLGA+ИГ, особенно при высокодозном монорегиме ИФН $\alpha$  (5000 МЕ/мл). На интракраниальной глиобластоме 101.8 крыс выявлено статистически значимое УПЖ в группе животных, получавших Докс-PLGA в комбинации с ИФН $\alpha$  и ИГ.

Модели глиальных опухолей головного мозга глиомы C6 и глиобластомы 101.8 используют в экспериментальной нейроонкологии *in vitro* и *in vivo* для оценки противоопухолевой активности разных веществ. Ранее нами было установлено, что Докс-PLGA оказывает более выраженное терапевтическое действие на глиобластому 101.8, чем Докс [5], однако проблема низкой продолжительности жизни и выживаемости не решена. Поэтому мы пробовали усилить терапевтический эффект Докс-PLGA сочетанием с донорами NO и ИФН $\alpha$ .

Известно, что эффекты доноров NO разнообразны: ингибирование Р-гликопротеина путём изменения его конформации [31], повышение проницаемости эндотелия сосудов [32], что способствует накоплению цитостатиков в опухоли [33] и увеличивает их терапевтическое действие при ГБ 101.8 у крыс [16]. Показано увеличение продолжительности жизни (на 75–125%) и уменьшение объёма ГБ 101.8 у крыс Вистар при комбинации Докс с NO [16]. NO в зависимости от дозы может оказывать двойное действие (про- и противоопухолевое) на опухоль, так эндогенные NO могут способствовать развитию новообразования, тогда как экзогенные NO могут наоборот быть цитотоксичны [34].

Поскольку одним из проявлений ГБ и побочным действием химиотерапии является выраженная иммуносупрессия [18], целесообразно применение ИФН $\alpha$ , который обладает как прямым антипролиферативным действием на опухолевые клетки [35], так и опосредованным — че-

рез активацию иммунной системы [36]. ИФН $\alpha$  в сочетании с цис-ретиноевой кислотой повышает чувствительность рецидивирующей ГБ к радиотерапии [37]. Большой терапевтический эффект ИФН $\alpha$  наблюдали при его сочетании с химиотерапией или таргетными препаратами [36, 38]. В эксперименте показано, что ИФН I типа подавляют продукцию факторов роста, замедляя рост опухоли, и препятствуют выработке факторов роста сосудов, блокируя ангиогенез опухоли [39]. ИФН $\alpha$  модулирует представление МНС класса I цитотоксическим Т-клеткам, тем самым выявляя опухолевую мишень [40]. Более высокая экспрессия МНС класса I повышает представление опухолевых пептидов цитотоксическим Т-клеткам, в то время как иммунопротеосома подготавливает опухолевые пептиды для загрузки в молекулу МНС класса I, увеличивая распознавание и уничтожение опухолевых клеток цитотоксическими Т-клетками. Известно, что ИФН $\alpha$  активирует НК-клетки и макрофаги, которые продуцируют ИФН $\gamma$ , регулирующий экспрессию МНС класса II для Т-хелперов и других CD 4+ клеток [41]. Нарушение передачи сигналов ИФН I типа коррелирует с худшим прогнозом и более низкой терапевтической реакцией опухоли [42, 43]. Есть предположение, что ИФН- $\alpha$  может сдерживать пролиферацию стволовых клеток опухоли [44–46]. Поскольку ИФН могут продуцироваться как опухолевыми клетками, так и иммунными клетками, понимание их взаимодействия позволит разработать лучшие методы лечения, которые используют сигнальные пути ИФН.

Необходимы дальнейшие исследования по изучению механизмов синергического действия терапевтических методов и комплексов препаратов, выявление молекулярных маркеров опухоли, от которых зависит чувствительность к данной терапии. Подбор носителей для эффективной таргетной доставки, режимов и доз препаратов также важны.

## Заключение

Таким образом, показано повышение эффективности терапии крыс с глиобластомой 101.8 цитостатиком доxorубицином в составе PLGA наночастиц в комбинации с вазодилатором NO нитроглицерином и провоспалительным цитокином ИФН $\alpha$ , что необходимо учитывать при разработке новых более эффективных методов лечения глиобластом человека.

## Литература/References

1. Ostrom Q.T., Gittleman H., Farah P. et al. CBTRUS statistical report: primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2006–2010. *Neuro Oncol.* 2013; 15 (Suppl 2): 1–56. doi: 10.1093/neuonc/not151.

2. Thorn C.F. Oshiro C., Marsh S., Hernandez-Boussard T. et al. Doxorubicin pathways: pharmacodynamics and adverse effects. *Pharmacogenet Genomics.* 2011; 21 (7): 440–446.
3. Балабаньян В.Ю. Гельперина С.Э. Основные механизмы доставки лекарственных веществ в мозг с помощью полимерных наночастиц. *Фармакокинетика и фармакодинамика.* 2012; 2: 3–9. [Balaba-

- n'yan V.Yu. Gel'perina S.E. Osnovnye mekhanizmy dostavki lekarstvennykh veshchestv v mozg s pomoshch'yu polimernykh nanochastits. Farmakokinetika i Farmakodinamika. 2012; 2: 3–9. (in Russian)]*
4. *Petri B., Bootz A., Khalansky A., Hekmatara T., Müller R., Uhl R. et al. Chemotherapy of brain tumour using doxorubicin bound to surfactant-coated poly(butyl cyanoacrylate) nanoparticles: revisiting the role of surfactants J Control Release. 2007 Jan 22; 117 (1): 51–58. doi: 10.1016/j.jconrel.2006.10.015.*
  5. *Федосеева В.В., Постовалова Е.А., А.С. Халанский, В.А. Разживина, С.Э. Гельперина, О.В. Макарова. Лекарственный патоморфоз глиобластомы 101.8 у крыс вистар при лечении наноразмерной формой доксорубина на основе полилактидных наночастиц. Современные технологии в медицине. 2018; 10: 4: 105–112. [Fedoseeva V.V., Postovalova E.A., A.S. Khalanskiy, V.A. Razzhivina, S.E. Gel'perina, O.V. Makarova. Lekarstvennyj patomorfoz glioblastomy 101.8 u krysv vistar pri lechenii nanorazmernoj formoj doksorubitsina na osnove polilaktidnykh nanochastits. Sovremennye tekhnologii v meditsine. 2018; 10: 4: 105–112. (in Russian)]*
  6. *Sanchez De Juan B., Von Briesen H., Gelperina S.E., Kreuter J. Cytotoxicity of doxorubicin bound to poly(butyl cyanoacrylate) nanoparticles in rat glioma cell lines using different assays J Drug Target. 2006 Nov; 14 (9): 614–622. doi: 10.1080/10611860600866872.*
  7. *Kreuter J. Drug delivery to the central nervous system by polymeric nanoparticles: what do we know? Adv Drug Deliv Rev. 2014; 71: 2–14. doi: 10.1016/j.addr.2013.08.008. Epub 2013 Aug 24.*
  8. *Hanahan D., Weinberg R.A. Hallmarks of cancer: the next generation. Cell. 2011; 144 (5): 646–674.*
  9. *Weller M., Wick W., Aldape K. et al. Glioma. Nat Rev Dis Primers. 2015; 1: 15017.*
  10. *Matsumura Y., Maeda H. A new concept for macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy: mechanism of tumoritropic accumulation of proteins and the antitumor agent smances. Cancer Res. 1986; 46: 6387–6392.*
  11. *Maeda H., Noguchi Y., Sato K., Akaike T. Enhanced vascular permeability in solid tumor is mediated by nitric oxide and inhibited by both new nitric oxide scavenger and nitric oxide synthase inhibitor. Jpn J Cancer Res. 1994; 85: 331–334.*
  12. *Wu J., Akaike T., Maeda H. Modulation of enhanced vascular permeability in tumors by a bradykinin antagonist, a cyclooxygenase inhibitor, and nitric oxide scavenger. Cancer Res. 1998; 58: 159–165.*
  13. *Fukuto J.M., Cho J.Y., Switzer C.H. The chemical properties of nitric oxide and related nitrogen oxides. In: L.J. Ignarro (ed.). Nitric Oxide: Biology and Pathobiology. San Diego, CA: Academic Press, 2000; 23–39.*
  14. *Feelisch M., Noack E.A. Correlation between nitric oxide formation during degradation of organic nitrates and activation of guanylate cyclase. Eur J Pharmacol. 1987; 139: 19–30.*
  15. *Chen Z., Stamler J.S. Bioactivation of nitroglycerin by the mitochondrial aldehyde dehydrogenase. Trends Cardiovasc Med. 2006; 16: 259–265.*
  16. *Алексеева А.И., Халанский А.С., Федосеева В.В., Гореликов П.Л., Гельперина С.Э. Влияние донора оксида азота на противоопухолевую активность доксорубина в отношении экспериментальной глиобластомы крыс. Антибиотики и химиотер. 2018; 63 (7–8): 17–21. doi: 10.24411/0235-2990-2018-00029. [Alekseeva A.I., Khalanskiy A.S., Fedoseeva V.V., Gorelikov P.L., Gel'perina S.E. Vliyanie donora oksida azota na protivopukhlevuju aktivnost' doksorubitsina v otnoshenii eksperimental'noj glioblastomy krysv. Antibiotiki i khimioter. 2018; 63 (7–8): 17–21. doi: 10.24411/0235-2990-2018-00029. (in Russian)]*
  17. *Seki T., Fang J., Maeda H. Enhanced delivery of macromolecular antitumor drugs to tumors by nitroglycerin application. Cancer Sci. 2009; 100: 2426–2430. doi: 10.1111/j.1349-7006.2009.01323*
  18. *Dix A.R., Brooks W.H., Roszman T.L., Morford L.A. Immune defects observed in patients with primary malignant brain tumors. J neuroimmunol. 1999 Dec; 100 (1–2): 216–232. doi: 10.1016/s0165-5728(99)00203-9*
  19. *Fang J., Islam R., Islam W., Yin H., Subr V., Etrych T. et al. Augmentation of EPR effect and efficacy of anticancer nanomedicine by carbon monoxide generating agents. Pharmaceutics. 2019 Jul; 11 (7): 43. doi: 10.3390/pharmaceutics11070343.*
  20. *Baron S., Tyring S.K., Fleischmann W.R. et al. The interferons. Mechanisms of action and clinical applications. JAMA. 1991; 266 (10): 1375–1383.*
  21. *Gogas H., Abali H., Ascierto P.A., Demidov L., Pehamberger H., Robert C. et al. Who benefits most from adjuvant interferon treatment for melanoma? Am J Ther. 2015 Jan–Feb; 22 (1): 54–60. doi: 10.1097/MJT.0b013e31829e883d.*
  22. *Kirkwood J. Cancer immunotherapy: the interferon-alpha experience. Semin Oncol. 2002 Jun; 29 (Suppl 7): 18–26. doi: 10.1053/sonc.2002.33078.*
  23. *Mondello P., Di Mirto C., Cuzzocrea S., Arrigo C., Mian M., Pitini V. Interferon alpha has a strong anti-tumor effect in philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms. Clin Lymphoma Myeloma Leuk. 2019 Aug; 19 (8): e489–e495. doi: 10.1016/j.clml.2019.03.027.*
  24. *Natsume A., Ishii D., Wakabayashi T. IFN-beta down-regulates the expression of DNA repair gene MGMT and sensitizes resistant glioma cells to temozolomide. Cancer Res. 2005; 65: 7573–7579.*
  25. *Groves M.D., Puduvalli V.K., Gilbert M.R. et al. Two phase II trials of temozolomide with interferon-alpha2b (pegylated and non-pegylated) in patients with recurrent glioblastoma multiforme. Br J Cancer. 2009; 101 (4): 615–620. doi: 10.1038/sj.bjc.6605189.*
  26. *Bouf-Muraille G., Rigaux G., Callewaert M., Zambranob N., Van Gulick L., Roullina V. et al. Evaluation of mTHPC-loaded PLGA nanoparticles for in vitro photodynamic therapy on C6 glioma cell line. Photodiagnosis Photodynamic Ther. 2019; 25 448–455. doi: 10.1016/j.pdpdt.2019.01.026. Epub 2019 Jan 29.*
  27. *Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application and cytotoxicity assay. J Immunol Meth. 1983; 65: 55–63.*
  28. *Халанский А.С., Кондакова Л.И. Перевиваемый штамм глиомы крысы 101.8. Биологическая характеристика. Клиническая и экспериментальная морфология. 2013; 4: 63–69. [Khalanskiy A.S., Kondakova L.I. Perevivaemyy shtamm gliomy krysy 101.8. Biologicheskaya kharakteristika. Klinicheskaya i Eksperimental'naya Morfologiya. 2013; 4: 63–69. (in Russian)]*
  29. *Куделькина В.В., Халанский А.С., Макарова О.В., Хомякова Т.И., Цветков И.С., Косырева А.М. с соавт. Сравнительная морфологическая и биохимическая характеристика токсического действия доксорубина и PLGA-доксорубина при лечении экспериментальной глиобластомы. Клиническая и экспериментальная морфология. 2021; 1 (10). [Kudel'kina V.V., Khalanskiy A.S., Makarova O.V., Khomyakova T.I., Tsvetkov I.S., Kosyreva A.M. s soavt. Sravnitel'naya morfologicheskaya i biokhimicheskaya kharakteristika toksicheskogo dejstviya doksorubitsina i PLGA-doksorubitsina pri lechenii eksperimental'noj glioblastomy. Klinicheskaya i Eksperimental'naya Morfologiya. 2021; 1 (10). (in Russian)]*
  30. *Трещалина Е., Жукова О., Герасимова Г. Методические рекомендации по доклиническому изучению противоопухолевой активности лекарственных средств. В кн.: Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Под общ. ред. А.Н. Миронова. М.: Гриф и К, 2012; 640–654. [Treshchalina E., Zhukova O., Gerasimova G. Metodicheskie rekomendatsii po doklinicheskomu izucheniyu protivopukholevoj aktivnosti lekarstvennykh sredstv. In: Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Ed. A.N. Mironov. Moscow: Grif i K, 2012; 640–654. (in Russian)]*
  31. *Riganti C., Miraglia E., Viarisio D., Costamagna C., Pescarmona G., Ghigo D., Bosia A. Nitric oxide reverts the resistance to doxorubicin in human colon cancer cells by inhibiting the drug efflux. Cancer Res. 2005 Jan 15; 65 (2): 516–525.*
  32. *Thiel V.E., Audus K.L. Nitric oxide and blood-brain barrier integrity. Antioxid Redox Signal. 2001 Apr; 3 (2): 273–278. doi: 10.1089/152308601300185223.*
  33. *Коновалова Н.П., Волкова Л.М., Якущенко О.И. и др. Влияние донора оксида азота на терапевтическую активность цитостатиков и синтез ДНК. Российский биотерапевтический журнал. 2003; 2 (2): 52–55. [Konovalova N.P., Volkova L.M., Yakushchenko O.I. i dr. Vliyanie donora oksida azota na terapevticheskuyu aktivnost' tsitostatikov i sintez DNK. Rossijskij bioterapevticheskij zhurnal. 2003; 2 (2): 52–55. (in Russian)]*
  34. *Vannini E., Kashfi K., Nath N. The dual role of iNOS in cancer. Redox Biol. 2015 Dec; 6: 334–343. doi: 10.1016/j.redox.2015.08.009.*
  35. *Parker B., Rautela J., Hertzog P. Antitumor actions of interferons: implications for cancer therapy Nat Rev Cancer. 2016; 16 (3): 131–144. doi: 10.1038/nrc.2016.14.*
  36. *Fritza J., Karakhanovaa S., Brechta R., Nachtigall B., Werner B., Bazhimb A. In vitro immunomodulatory properties of gemcitabine alone and in combination with interferon-alpha. Immunology Letters. 2015; 168: 111–119.*
  37. *Dillman R.O., Shea W.M., Tai D.E., Mahdavi K., Barth N.M., Kharkar B.R. et al. Interferon-alpha2a and 13-cis-retinoic acid with radiation treatment for high-grade glioma. Neuro Oncol. 2001 Jan; 3 (1): 35–41. doi: 10.1093/neuonc/3.1.35.*
  38. *Fragale A., Romagnoli G., Licursi V., Buoncervello M., Del Vecchio G., Giuliani C. et al. Antitumor effects of epidrug/IFN $\alpha$  combination driven by modulated gene signatures in both colorectal cancer and dendritic cells. Cancer Immunol Res. 2017; 5: 604–616. doi: 10.1158/2326-6066.CIR-17-0080.*
  39. *Jablonska J., Leschner S., Westphal K., Lienenklauss S., Weiss S. Neutrophils responsive to endogenous IFN-beta regulate tumor angiogenesis and growth in a mouse tumor model. J Clin Invest. 2010; 120 (4): 1151–1164. doi: 10.1172/JCI37223.*
  40. *Ferrantini M., Capone I., Belardelli F. Interferon-alpha and cancer: mechanisms of action and new perspectives of clinical use. Biochimie. 2007 Jun–Jul; 89 (6–7): 884–893. doi: 10.1016/j.biochi.2007.04.006.*
  41. *Litak J., Mazurek M., Grochowski C., Kamieniak P., Roliński J. PD-L1/PD-1 axis in glioblastoma multiforme. Int J Mol Sci. 2019 Nov; 20 (21): 5347. doi: 10.3390/ijms20215347.*
  42. *Katlinski K.V., Gui J., Katlinskaya Y.V., Ortiz A., Chakraborty R., Bhattacharya S. et al. Inactivation of interferon receptor promotes the establishment of immune privileged tumor microenvironment. Cancer Cell. 2017; 31: 194–207. doi: 10.1016/j.ccell.2017.01.004.*
  43. *Katlinskaya Y.V., Katlinski K.V., Yu Q., Ortiz A., Daniel P., Brice A. et al. Suppression of type I interferon signaling overcomes oncogene-induced senescence and mediates melanoma development and progression. CellRep. 2016; 15: 171–180. doi: 10.1016/j.celrep.2016.03.006.*

44. Yokota A., Hirai H., Sato R., Adachi H., Sato F., Hayashi Y. et al. C/EBP $\beta$  is a critical mediator of IFN- $\alpha$ -induced exhaustion of chronic myeloid leukemia stem cells. *Blood Adv.* 2019; 3: 476–488. doi: 10.1182/bloodadvances.2018020503.
45. Celià-Terrassa T., Liu D.D., Choudhury A., Hang X., Wei Y., Zamalloa J. et al. Normal and cancerous mammary stem cells evade interferon-induced constraint through the miR-199a–LCOR axis. *Nat Cell Biol.* 2017; 19: 711–723. doi: 10.1038/ncb3533.
46. Buoncervello M., Romagnoli G., Buccarelli M., Fragale A., Toschi E., Parlato S. et al. IFN- $\alpha$  potentiates the direct and immune-mediated antitumor effects of epigenetic drugs on both metastatic and stem cells of colorectal cancer. *Oncotarget.* 2016; 7: 26361–26373. doi: 10.18632/oncotarget.8379.

## Информация об авторах

*Куделькина Вера Владимировна* — научный сотрудник лаборатории нейроморфологии НИИ морфологии человека имени им. академика А. П. Авцына, Москва, Российская Федерация

*Халанский Александр Сергеевич* — к. б. н., ведущий научный сотрудник лаборатории нейроморфологии НИИ морфологии человека им. академика А. П. Авцына, Москва, Российская Федерация

*Алексеева Анна Игоревна* — младший научный сотрудник лаборатории нейроморфологии НИИ морфологии человека им. академика А. П. Авцына, Москва, Российская Федерация

*Гореликов Петр Леонидович* — д. б. н., старший научный сотрудник лаборатории нейроморфологии НИИ морфологии человека им. академика А. П. Авцына, Москва, Российская Федерация

*Косырева Анна Михайловна* — д. б. н., заведующая лабораторией нейроморфологии НИИ морфологии человека им. академика А. П. Авцына, Москва, Российская Федерация

## About the authors

*Vera V. Kudelkina* — Researcher, A. P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology, Moscow, Russian Federation

*Alexander S. Khalansky* — Ph. D. in biology, A. P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology, Moscow, Russian Federation

*Anna I. Alekseeva* — Junior Researcher, A. P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology, Moscow, Russian Federation

*Petr L. Gorelikov* — D. Sc. in biology, A. P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology, Moscow, Russian Federation

*Anna M. Kosyreva* — D. Sc. in biology, A. P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology, Moscow, Russian Federation

# Генетические различия штаммов *Helicobacter pylori*, выделенных у больных хроническим гастритом лёгкого и тяжёлого течения

\*Е. В. ГОЛУБКИНА<sup>1</sup>, В. М. СОРОКИН<sup>2</sup>, Б. Н. ЛЕВИТАН<sup>1</sup>,  
А. Р. УМЕРОВА<sup>1</sup>, Н. В. КАМНЕВА<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Астрахань, Российская Федерация

<sup>2</sup> ФКВЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Российская Федерация

## Genetic Differences Between *Helicobacter pylori* Strains Isolated from Patients With Chronic Mild and Severe Gastritis

\*ELENA V. GOLUBKINA<sup>1</sup>, VLADIMIR M. SOROKIN<sup>2</sup>, BOLESлав N. LEVITAN<sup>1</sup>,  
ADELYA R. UMEROVA<sup>1</sup>, NATALIA V. KAMNEVA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Astrakhan State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Astrakhan, Russian Federation

<sup>2</sup> Rostov-on-Don Plague Control Research Institute of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Rostov-on-Don, Russian Federation

### Резюме

**Актуальность.** Хеликобактерные хронические гастриты (ХГ), будучи весьма неоднородной группой, до сих пор не имеют деления на основе данных генотипирования *Helicobacter pylori* (Hp), по которым можно было бы прогнозировать клиническую форму ХГ.

**Цель.** Поиск преваляции *cagA* гена или какой-либо аллельной комбинации *vacA* гена, или устойчивых сочетаний *cagA* и какой-либо аллельной комбинации *vacA* в изолятах Hp от больных лёгкой и тяжёлой формой ХГ и больных язвенной болезнью (ЯБ).

**Методы.** Изоляты Hp из гастробиоптатов генотипировали по *cagA* и аллельным комбинациям *vacA* (s1m1, s2m1, s1m2, s2m2). Различия по встречаемости аллельных комбинаций *vacA* оценивали по Манну–Уитни; сцеплённость *cagA* и аллельных комбинаций *vacA* оценивали по величине коэффициента корреляции Спирмена ( $r_s$ ).

**Результаты.** Ген *cagA* обнаруживался более, чем в половине всех случаев как у больных ЯБ, так и у больных ХГ (лёгкое и тяжёлое течение). Встречаемость *vacAs1m1* (самая вирулентная аллельная комбинация) достоверно не отличалась при всех формах гастритов и при ЯБ; корреляция между *cagA* и *vacAs1m1* была достоверной во всех группах больных,  $r_s$  от 0,57 до 0,72. У больных ХГ лёгкого течения наблюдалось обилие неvirulentной аллельной комбинации *vacAs2m2*, достоверно отличающейся от встречаемости её как у больных ХГ тяжёлого течения, так и у больных ЯБ; совместная встречаемость *vacAs2m2* и *cagA* у больных ХГ лёгкого течения была хаотичной ( $r_s = -0,13$ ;  $p = 0,40$ ).

**Заключение.** При лёгком течении ХГ, несмотря на отсутствие достоверных различий по *cagA* и *vacAs1m1* (если сравнивать с тяжёлым течением ХГ и ЯБ), достоверно доминировали штаммы с неvirulentной аллельной комбинацией *vacAs2m2*; следовательно, обнаружение именно этой аллельной комбинации *vacA* говорит в пользу лёгкого течения ХГ.

**Ключевые слова:** хронический гастрит; язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки; *Helicobacter pylori*; *cagA* ген; аллельные комбинации *vacA* гена

**Для цитирования:** Голубкина Е. В., Сорокин В. М., Левитан Б. Н., Умерова А. Р., Камнева Н. В. Генетические различия штаммов *Helicobacter pylori*, выделенных у больных хроническим гастритом лёгкого и тяжёлого течения. *Антибиотики и химиотерапия*. 2021; 66: 9–10: 24–29. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-9-10-24-29.

### Abstract

**Background.** *Helicobacter pylori*-associated chronic gastritis (CG), being a very heterogeneous group, still does not have a division based on *Helicobacter pylori* (Hp) genotyping data, which could predict the clinical form of CG.

**The aim of the study** is to search for the prevalence of the *cagA* gene or any allelic combination of the *vacA* gene, or stable combinations of *cagA* and any allelic combination of *vacA* genes in Hp isolates from patients with mild and severe CG, as well as patients with peptic ulcer disease (PUD).

**Methods.** Hp isolates from gastrobiopsy specimens were genotyped for *cagA* and *vacA* allelic combinations (s1m1, s2m1, s1m2, s2m2). The difference in the occurrence of *vacA* allelic combinations was assessed by Mann–Whitney *U* test; the conjunction of *cagA* and *vacA* allelic combinations was assessed by the Spearman's rank correlation coefficient ( $r_s$ ).

© Коллектив авторов, 2021

\*Адрес для корреспонденции: Бакинская улица, 121, Астраханский ГМУ, г. Астрахань, Российская Федерация, 414000. E-mail: kamnevy@mail.ru

© Team of Authors, 2021

\*Correspondence to: 121 Bakinskaya str., Astrakhan State Medical University, Astrakhan, 414000 Russian Federation. E-mail: kamnevy@mail.ru

**Results.** The *cagA* gene was found in more than half of all cases, both in patients with ulcer and in patients with CG (mild and severe). The incidence of *vacAs1m1* (the most virulent allelic combination) showed no significant differences in all forms of gastritis and in PUD; the correlation between *cagA* and *vacAs1m1* was significant in all groups of patients,  $r_s$  ranged from 0.57 to 0.72. In patients with mild CG, an abundance of non-virulent allelic combination *vacAs2m2* was observed, which was significantly different from its occurrence both in patients with severe CG and in patients with ulcer; the joint occurrence of *vacAs2m2* and *cagA* in patients with mild CG was chaotic ( $r_s = -0.13$ ;  $P = 0.40$ ).

**Conclusion.** In mild CG, despite the absence of significant differences in *cagA* and *vacAs1m1* (when compared with severe CG and ulcer disease), strains with a non-virulent allelic combination *vacAs2m2* were significantly dominant; therefore, the detection of this particular allelic combination of *vacA* speaks in favor of a mild course of CG.

**Keywords:** chronic gastritis; peptic ulcer of the stomach and duodenum; *Helicobacter pylori*; *cagA* gene; allelic combinations of the *vacA* gene

**For citation:** Golubkina E. V., Sorokin V. M., Levitan B. N., Umerova A. R., Kamneva N. V. Genetic differences between *Helicobacter pylori* strains isolated from patients with chronic mild and severe gastritis. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2021; 66: 9–10: 24–29. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-9-10-24-29.

## Введение

Вопрос о степени вирулентности микроорганизма и тяжести клинических проявлений от повреждений, вызванных этим микроорганизмом, иногда имеет быстрый и однозначный ответ, но иногда определённости не удаётся достичь, несмотря на многочисленные исследования. Именно по второму пути развивается история изучения колонизации хеликобактером слизистой оболочки желудка. Действительно, *Helicobacter pylori* (*Hp*) обнаруживается и у здоровых лиц, включая штаммы, несущие вирулентные гены. Если же патологический процесс мы всё-таки наблюдаем клинически и эндоскопически, то генетический материал *Hp* можно, в принципе, пытаться использовать как маркёр той или иной клинической формы хеликобактериоза.

Обнаружение *cagA* гена в штамме *Hp* расценивается как безусловное указание на вирулентность штамма; ген *vacA*, который присутствует во всех штаммах *Hp*, анализируется с точки зрения аллельных вариаций отдельных участков гена: наличие *m2*, при любых вариантах *s*, позволяет говорить об отсутствии продукции вакуолизирующего цитотоксина, а выявление аллельных комбинаций с *m1*, наоборот, — о цитотоксической активности штамма (*slm1* — максимальная активность); выявление сочетания *cagA* гена с *vacAs1m1* может рассматриваться как маркёр язвообразования [1, 2]. Опираясь таким материалом как обнаружение *cagA* гена и выявление цитотоксин-продуцирующих аллельных комбинаций *vacA* гена, исследователи уже пытались соотнести генный состав штамма и нозологическую форму заболевания; результаты не были однозначны. В настоящем исследовании мы сохранили этот подход, но ввели более сложную систему сравнения. Нам удалось набрать две группы больных хеликобактерным хроническим гастритом (ХГ): одну (в Астрахани) — с широким диапазоном клинических проявлений (в основном, лёгкие формы), другую (Ростов-на-Дону) — с тяжёлым течением ХГ. При этом больные с язвенной болезнью (ЯБ)

образовывали тоже две группы, которые мало чем отличались друг от друга, кроме региона (Астрахань, Ростов-на-Дону); они сыграли роль групп сравнения (будучи сравнёнными и между собой, что увеличивало шансы увидеть разницу с группами ХГ).

## Материал и методы

Набор больных ХГ и ЯБ проводился в Городской клинической больнице № 3 г. Астрахани рандомизированно, без ограничений по полу и возрасту, из пациентов, направляемых поликлиникой для решения вопроса о госпитализации. Больные проходили эзофагогастродуоденоскопию с экспресс-тестом на *Hp*; при положительном результате экспресс-теста бралась повторная биопсия слизистой оболочки антрального отдела желудка, гастриобиоптат сохранялся при  $-20^{\circ}\text{C}$  для последующего генотипирования *Hp* в Ростовском противочумном институте. В группу больных ХГ, в основном, попадали больные, не требовавшие госпитализации, т. е. больные с относительно лёгким течением ХГ, оставшиеся на амбулаторном лечении. Группа больных ЯБ складывалась из больных язвенной болезнью желудка и больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки, в стадии клинического обострения, с эндоскопическим подтверждением либо активного язвообразования, либо наличия рубцовых изменений. Взятие гастриобиоптата происходило до начала курса антихеликобактерного лечения. Группа больных ХГ (41 человек) оказалась более многочисленной по сравнению с группой больных ЯБ (12 человек), число же больных в группе ЯБ должно было быть максимально приближено к численности групп больных ХГ и ЯБ из Ростова-на-Дону, т. е. не должно быть явно меньше этих групп (эти группы сложились ранее, в Ростовском противочумном институте, при отработке методик типирования *Hp* по *cagA* гену и четырём аллелям *vacA* гена). Средний возраст больных ХГ из Астрахани составил 32 года, стандартное отклонение 16 лет (12 мужчин, 29 женщин); средний возраст больных ЯБ — 42 года, стандартное отклонение 21 год (6 мужчин, 6 женщин).

Набор больных из клиник г. Ростова-на-Дону для программы генотипирования *Hp* в Ростовском противочумном институте проводился по тем же критериям, что и в Астрахани, с той разницей, что поступление гастриобиоптатов от больных ХГ шло от тех больных, диагноз которых обобщённо можно было представить как «обострение ХГ, тяжёлое течение» — поступление шло исключительно из стационаров, а это заведомо определяло таких больных ХГ как больных с тяжёлым течением гастрита. (В Астрахани, как было уже отмечено, при рандомизированном наборе группа больных ХГ имела широкий диапазон различий по тяжести течения гастрита, но преобладали больные с лёгким течением.) Группа ростовских больных ЯБ складывалась из больных язвенной

болезнью желудка и больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки, в стадии клинического обострения, с эндоскопическим подтверждением либо активного язвобразования, либо наличия рубцовых изменений. Взятие гастробиоптата происходило до начала курса антихеликобактерного лечения. Набор материала от больных ХГ и ЯБ (Ростов-на-Дону) формально не был рандомизированным (в течение отведённого промежутка времени), а происходил в течение нескольких лет, по мере освоения различных методик генотипирования *Hp* в Ростовском противочумном институте. Таким образом, для проведения настоящего исследования мы пользовались собранной в Ростовском противочумном институте коллекцией генотипированных штаммов *Hp*, состоящей из двух групп. Группу больных ХГ представляли штаммы 14, 20, 22, 46, 71, 73, 88, 97, 111, 114, 115, 116, 206 — всего 13; группу больных ЯБ представляли штаммы 18, 30, 48, 53, 59, 77, 90, 92, 100, 124, 134, 146, 155, 157, 216 — всего 15. Выборочность штаммов объясняется тем, что при отработке методики не все штаммы *Hp* удавалось одновременно типировать по *cagA* гену и четырём аллелям *vacA* гена, и, следовательно, такие образцы выпадали из зачисления в группы.

Клинические изоляты анализировались методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) на одновременное присутствие генов *cagA*, *vacA* (аллельные типы *vacAs1* и *vacAs2* и аллельные типы *vacAm1* и *vacAm2*). Выделение ДНК из клинических изолятов *Hp* проводили с помощью набора «Хеликопол II» производства НПФ «Литех» (Москва). Для генотипирования генов *cagA* и *vacA* использовали коммерческие наборы НПФ «Литех» (Москва). ПЦР проводили на амплификаторе «Терцик» НПФ «ДНК-Технология» (Москва) в условиях рекомендованных производителем. Продукты амплификации разделяли в 7,5% полиакриламидном геле с последующим окрашиванием бромистым этидием.

Использовалась программа «Биостатистика 4.03» для статистической обработки данных, в частности, для вычисления *T*-критерия по Манну–Уитни и коэффициента ранговой корреляции Спирмена ( $r_s$ ); различия считались достоверными при  $p < 0,05$ ; трактовка  $r_s$  была ориентирована на шкалу Чеддока [3].

## Результаты и обсуждение

В табл. 1 приводятся данные по обнаружению *cagA* гена и аллельных комбинаций *vacA* гена хеликобактера у больных ХГ и ЯБ (приведены абсолютные значения случаев обнаружения и их доли в процентах, что никак нельзя рассматри-

вать как статистически достоверную информацию, но лишь как ориентир для дальнейшей статистической обработки данных, см. табл. 2, 3). При рандомизированном наборе исследуемых групп (Астрахань) доля гастробиоптатов, в которых был обнаружен *cagA* ген, несколько отличалась у больных ЯБ (75%) и больных ХГ (59%); в ростовских образцах даже такой, не слишком большой, разницы практически не было: ХГ (69%) и ЯБ (67%). Однако эти различия (в процентном отношении) явно не имеют достоверности, и при отсутствии некоего контрастного значения (которое могло бы возникнуть в одной из групп) определять различия по Манну–Уитни (в отношении встречаемости *cagA* гена в группах) было заранее бесперспективно.

Присутствие в гастробиоптатах наиболее вирулентной аллельной комбинации *vacAs1m1* преобладало у больных ЯБ из Астрахани (50%) по сравнению с больными ХГ из Астрахани (27%). В коллекции Ростовского противочумного института аналогичного перекоса в пользу больных ЯБ не наблюдалось, даже имелась противоположная тенденция: ХГ (54%) и ЯБ (40%). Наличие среди групп такого перепада значений (в процентном отношении), как 27 и 54%, позволяло поискать достоверность различий между четырьмя группами в отношении частоты встречаемости *vacAs1m1*; результаты представлены в табл. 2. Очевидно, что различия недостоверны, и следовательно, мы не можем говорить, что встречаемость *vacAs1m1* в *Hp*, обнаруженных у больных ЯБ и ХГ, достоверно отличается, однако она варьирует в пределах двукратности (27–54%), в отличие от меньших отклонений, наблюдаемых как уже отмечалось, в отношении *cagA* гена. Что касается аллельной комбинации *vacAs2m1*, относящейся к весьма вирулентным, мы видим вообще лишь единичный случай, и следовательно, ни о какой статистической отработке здесь не может идти речи.

**Таблица 1.** Обнаружение *cagA* гена и аллельных комбинаций *vacA* гена в гастробиоптатах у больных ХГ (41) и ЯБ (12) в Астрахани при рандомизированном наборе больных, а также в образцах из коллекции Ростовского противочумного института, ХГ (13) и ЯБ (15)

**Table 1.** Detection of the *cagA* gene and allelic combinations of the *vacA* gene in gastrobiopsy specimens from a randomized group of patients with CG (41) and PUD (12) in Astrakhan, as well as in samples from the collection of the Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, CG (13) and PUD (15)

Группы больных	<i>cagA</i> (+)	<i>cagA</i> (-)	<i>vacAs1m1</i>	<i>vacAs2m1</i>	<i>vacAs1m2</i>	<i>vacAs2m2</i>
ХГ, Астрахань	24 (59%)	17 (41%)	11 (27%)	0	5 (12%)	25 (61%)
	41		41			
ЯБ, Астрахань	9 (75%)	3 (25%)	6 (50%)	1 (8%)	3 (25%)	2 (17%)
	12		12			
ХГ, Ростов-на-Дону	9 (69%)	4 (31%)	7 (54%)	0	3 (23%)	3 (23%)
	13		13			
ЯБ, Ростов-на-Дону	10 (67%)	5 (33%)	6 (40%)	0	6 (40%)	3 (20%)
	15	15				

**Примечание.** Жирным шрифтом выделены процентные отношения, которые затем оценивались на достоверность различий (см. табл. 2).

**Note.** Percentage ratios, which were then evaluated for the significance of differences, are highlighted in bold (see Table 2).

**Таблица 2. Достоверность различий между четырьмя группами в отношении встречаемости аллельных комбинаций vacAs1m1, vacAs1m2 и vacAs2m2****Table 2. Significance of differences between the four groups regarding the occurrence of allelic combinations vacAs1m1, vacAs1m2 and vacAs2m2**

vacAs1m1 у больных ХГ (Астрахань); 11 из 41 (27%) — самая низкая встречаемость	vacAs1m2 у больных ЯБ (Ростов-на-Дону); 6 из 15 (40%) — самая высокая встречаемость	vacAs2m2 у больных ХГ (Астрахань); 25 из 41 (61%) — самая высокая встречаемость
vacAs1m1 у больных ХГ (Ростов-на-Дону); 7 из 13 (54%) <b>T=429,5; p=0,161</b>	vacAs1m2 у больных ХГ (Ростов-на-Дону) 3 из 13 (23%) <b>T=172,0; p=0,385</b>	vacAs2m2 у больных ХГ (Ростов-на-Дону) 3 из 13 (23%) <b>T=256,5; p=0,020</b>
vacAs1m1 у больных ЯБ (Астрахань); 6 из 12 (50%) <b>T=361,0; p=0,455</b>	vacAs1m2 у больных ЯБ (Астрахань) 3 из 12 (25%) <b>T=154,5; p=0,446</b>	vacAs2m2 у больных ЯБ (Астрахань) 2 из 12 (17%) <b>T=215,0; p=0,008</b>
vacAs1m1 у больных ЯБ (Ростов-на-Дону); 6 из 15 (40%) <b>T=468,0; p=0,250</b>	vacAs1m2 у больных ХГ (Астрахань) 5 из 41 (12%) <b>T=513,0; p=0,086</b>	vacAs2m2 у больных ЯБ (Ростов-на-Дону) 3 из 15 (20%) <b>T=301,5; p=0,008</b>

**Примечание.** Сравнилось наиболее отклонённое значение со значениями остальных трёх групп. Различия определялись по Манну–Уитни (*T*-критерий); численность групп во всех случаях была достаточной для применения нормального распределения при проверке значимости *T*; различия считались достоверными при  $p < 0,05$ . **Note.** The most deviated value was compared with the values of the other three groups. The differences were determined according to Mann–Whitney U test (*T*-test); the number of groups in all cases was sufficient to apply the normal distribution when testing the significance of *T*; differences were considered significant at  $p < 0,05$ .

**Таблица 3. Корреляция между обнаружением cagA гена и выявлением различных аллельных комбинаций vacA гена (при наличии достаточных данных) у больных ХГ и ЯБ из Астрахани при рандомизированном наборе больных, а также в образцах из коллекции Ростовского противочумного института, ХГ и ЯБ****Table 3. Correlation between the detection of the cagA gene and the detection of various allelic combinations of the vacA gene (if sufficient data are available) in patients with CG and PUD from Astrakhan from the randomized group of patients, as well as in samples from the collection of the Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, CG and PUD**

vacA ген	s1m1		s2m1		s1m2		s2m2	
	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)
cagA ген								
ХГ (41), Астрахань	11	0	0	0	4	1	9	16
	$r_s=0,68; p<0,01$		(?)		(?)	$rs=-0,13; p=0,40$		
ЯБ (12), Астрахань	6	0	0	1	2	1	0	2
	$r_s=0,72; p=0,01$		(?)		(?)	(?)		
ХГ (13), Ростов-на-Дону	6	1	0	0	1	2	1	2
	$r_s=0,57; p=0,04$		(?)		(?)	(?)		
ЯБ (15), Ростов-на-Дону	6	0	0	0	3	3	1	2
	$r_s=0,71; p<0,01$		(?)		(?)	(?)		

**Примечание.**  $r_s$  — коэффициент корреляции Спирмена, (?) — мало данных для поиска корреляции; корреляция расценивалась как достоверная при  $p < 0,05$ .

**Note.**  $r_s$  — Spearman's correlation coefficient, (?) — little data was available to search for correlation; the correlation was regarded as significant at  $p < 0,05$ .

Значительный разброс данных по встречаемости vacAs1m2 (невирулентная аллельная комбинация) и, в частности, высокие значения у ростовских больных ЯБ (40%) (см. табл. 1), что, вроде бы, должно быть более характерно для ХГ, чем для ЯБ, были оценены на достоверность различий. Тем не менее, достоверных различий выявлено не было, но ориентировочный диапазон встречаемости vacAs1m2 был не так уж мал — от 12 до 40%.

И наконец, об аллельной комбинации vacAs2m2. Особенностью астраханских образцов от больных ХГ лёгкого течения была высокая частота встречаемости vacAs2m2 — 61%, при полном отсутствии аналогичной тенденции в ростовских образцах ХГ тяжёлого течения. Наличие аллели m2, как известно, лишает vacA ген цитотоксичности; соответственно, высокая частота встречаемости vacAs2m2 у больных ХГ (Астрахань) — когда

обнаружилось преимущественное поступление больных с гастритами лёгкого течения — вполне объяснима. Однако привлекал внимание контраст по встречаемости vacAs2m2 между группами (см. табл. 1), что позволяло попробовать найти достоверные различия, и они действительно оказались таковыми, что следует из третьего столбца табл. 2. Таким образом, обилие аллельной комбинации vacAs2m2 в *Hp*, выделенных от больных ХГ лёгкого течения (Астрахань) достоверно контрастировало с данными как от больных ХГ тяжёлого течения (Ростов-на-Дону), так и с данными от обеих групп «язвенников».

В табл. 3 приведены результаты поиска сцепленности cagA гена со всеми четырьмя аллельными комбинациями vacA гена путём определения корреляции между частотой встречаемости cagA гена и каждой из аллельных комбинаций vacA гена (в гастробиоптатах разных групп больных). Поиск

корреляции предполагает, в качестве гипотезы, наличие линейной связи между двумя массивами данных; в тех случаях, когда некоторые аллельные комбинации (например, s2m1 или s1m2) встречались редко, то предполагать наличие линейной связи было невозможно, а потому поиск корреляции терял смысл. В графах, отсылающих к каждой из четырёх аллельных комбинаций *vacA* гена, имеется два столбца, где, в первом столбце (+), в абсолютных значениях приведено количество случаев парного обнаружения *cagA* гена и соответствующей аллельной комбинации *vacA* гена, а в другом столбце (-) указано, в скольких случаях такой парности не наблюдалось.

Сразу обращает внимание тот факт, что в абсолютных значениях парное выявление *cagA* гена и самой вирулентной аллельной комбинации *vacAs1m1* было весьма значительным (от четверти до половины от численности всех четырёх групп, т. е. 11 из 41, 6 из 12, 6 из 13 и 6 из 15, соответственно; см. табл. 3), что позволяло предполагать наличие линейной связи. Это предположение вылилось в вычисление коэффициентов корреляции достаточно высоких и достоверных во всех группах больных ХГ и ЯБ. Согласно шкале Чеддока, значения коэффициента корреляции 0,5–0,7 трактуются как «заметная корреляция», а значения 0,7–0,9 — как «высокая корреляция» [3]; соответственно, связь между обнаружением *cagA* гена и самой вирулентной аллельной комбинацией *vacAs1m1* можно характеризовать именно такими терминами, глядя на все четыре группы больных ХГ и ЯБ. Различия в коэффициентах корреляции вряд ли могут быть отправной точкой для рефлексии на различия нозологических форм, т. е. если  $r_s$  выше, то это, якобы, характерно для ЯБ, а если  $r_s$  ниже, то — для ХГ. Здесь важнее видеть то, что разные нозологии, — даже при разных способах набора групп больных, — демонстрируют следующее свойство: если у *Hp* есть *cagA* ген и есть *vacAs1m1*, то с достаточно высокой вероятностью они будут наблюдаться вместе.

Что касается других аллельных комбинаций *vacA* гена, то, как уже отмечалось, встречаемость их была весьма низкая (в абсолютных значениях), и статистика по ним была бы неубедительной, за исключением одной группы больных, — рандомизированно набранной группы ХГ из Астрахани, где основным контингентом были больные ХГ лёгкого течения. Здесь выявилось обилие штаммов *Hp*, содержащих невирулентную аллельную комбинацию *vacAs2m2* (61%). Имело смысл вычислить её корреляцию с *cagA* геном; оказалось, что *cagA* ген и *vacAs2m2* сочетаются хаотично, т. е. что они не сцеплены, в том числе, и через отрицательную регрессию: корреляция была отрицательной и недостоверной  $r_s = -0,13$ ,  $p = 0,40$  (см. табл. 3). Напомним, что корреляция вирулентной аллельной

комбинации *vacAs1m1* с *cagA* геном у этих же больных ХГ лёгкого течения была на грани с высокой ( $r_s = 0,68$ ,  $p < 0,01$ ), но при этом в количественном плане этих вирулентных *vacAs1m1* было относительно мало (27%), а генов *cagA* — относительно много (59%). В противоположность, не вирулентных *vacAs2m2*, демонстрирующих полное отсутствие сродства к сцеплению с *cagA* геном, было рекордно много (61%). Остаётся предположить, что для ХГ лёгкого течения это является трендом: иметь малое количество вирулентных *vacAs1m1*, сильно сцепленных с *cagA* геном, и при этом иметь много невирулентных *vacAs2m2*, не создающих тандем с *cagA* геном, т. е. что невирулентная аллельная комбинация *vacA* гена, не сцепляющаяся с *cagA* геном, возможно, вытесняет вирулентную аллельную комбинацию *vacA* гена, имеющую сродство к сцеплению с *cagA* геном. Однако данная гипотеза требует отдельного исследования.

Репутация *cagA* гена, экспрессирующего цитотоксин, повреждающий слизистую оболочку желудка (вплоть до ulcerации и онкогенеза), однозначна, а также уже два десятилетия как выяснена роль различных аллельных вариаций *vacA* гена в отношении экспрессии вакуолизирующего цитотоксина, и существуют исследования, которые пытаются оценить всю популяцию *Hp* (например, региона), не разделяя от кого взяты гастробиоптаты — от больных ЯБ или ХГ [4]. В материалах по распространённости различных генов *Hp* по России указывается, что, например, *cagA* ген выявляется в разбросе от 55 до 100% всех случаев исследований, *vacAs1* — от 33 до 100%, *vacAm1* — от 0 до 33%, что говорит лишь о большей или меньшей вероятности сочетанного выявления этих генов [5].

В противоположность к такому подходу, известны исследования сочетаний *cagA* гена и аллельных генов *vacA*, которые проводились путём подсчёта числа случаев или вычисления процента выявляемости того или иного гена при близких, но всё-таки разных патологиях. Как пример, в данных по Башкортостану указывается, что обнаружение *cagA* гена в сочетании с *vacAs1* встречалось в 2 раза чаще у больных ЯБ, чем у больных ХГ [6]. Такой подход можно развить, шире используя методы статистики и разделение на специфически очерченные клинические группы, например, клинически дифференцируя типы гастритов или изучая штаммы *Hp* у больных ЯБ на разных сроках после антихеликобактерной терапии [7].

В настоящей работе, где была поставлена цель связать генный состав *Hp* (в рамках *cagA* гена и аллельных комбинаций *vacA* гена) с клиническими формами хеликобактериоза (в рамках ЯБ и ХГ), мы пришли к следующим выводам. Во-первых, во всех четырёх группах, включая и легко протекающие

ХГ, имела высокая частота встречаемости *cagA* гена (более половины всех случаев в каждой из четырёх групп). Во-вторых, встречаемость вирулентной аллельной комбинации *vacAs1m1* также была довольно высокой — от четверти до половины случаев во всех четырёх группах (различия между группами не были статистически достоверными); корреляция между обнаружением *cagA* гена и *vacAs1m1* во всех четырёх группах была до-

стоверной, а также заметной или высокой ( $r_s$  составлял от 0,57 до 0,72). В-третьих, у больных ХГ лёгкого течения превалировала аллельная комбинация *vacAs2m2* (не вирулентная), встречаемость которой достоверно отличалась от встречаемости таковой как у больных ХГ тяжёлого течения, так и у больных ЯБ; обнаружение этой аллельной комбинации не коррелировало с обнаружением *cagA* гена ( $r_s = -0,13$ ,  $p = 0,40$ ).

## Литература/References

1. Хеликобактериоз. Под ред. В. А. Исакова, И. В. Домарадского. М.: Медпрактика-М, 2003. [Khelikobakterioz. V. A. Isakova, I. V. Domaradskogo (ed.). Moscow: Medpraktika-M, 2003. (In Russian)]
2. Сорокин В.М., Писанов Р.В., Водопьянов А.С., Голубкина Е.В., Березняк Е.А. Сравнительный анализ генотипов штаммов *Helicobacter pylori* в Ростовской и Астраханской областях. Медицинский вестник Юга России. 2018; 9 (4): 81–86. doi: 10.21886/2219–8075–2018–9–4–81–86. [Sorokin V.M., Pisanov R.V., Vodopyanov A.S., Golubkina E.V., Bereznyak E.A. Sravnitel'nyi analiz genotipov shtammov *Helicobacter pylori* v Rostovskoi i Astrakhanskoi oblastiakh. Meditsinskii Vestnik Yuga Rossii. 2018; 9 (4): 81–86. doi: 10.21886/2219–8075–2018–9–4–81–86. (in Russian)]
3. Котеров А.Н., Ушенкова Л.Н., Зубенкова Э.С., Калинина М.В., Бирюков А.П., Ласточкина Е.М. и др. Сила связи. Сообщение 2. Градации величины корреляции. Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2019; 64 (6): 12–24. doi: 10.12737/1024-6177-2019-64-6-12-24. [Koterov A.N., Ushenkova L.N., Zubenkova E.S., Kalinina M.V., Biryukov A.P., Lastochkina E.M. i dr. Sila svyazi. Soobshchenie 2. Gradatsii velichiny korrelyatsii. Meditsinskaya Radiologiya i Radiatsionnaya Bezopasnost. 2019; 64 (6): 12–24. doi: 10.12737/1024-6177-2019-64-6-12-24. (in Russian)]
4. Березняк Е.А., Сорокин В.М., Карпова И.О., Ступина Н.А., Терентьев А.Н. Особенности генотипов штаммов *Helicobacter pylori*, циркулирующих в Ростовской области. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2013; 4 (71). [Bereznyak E.A., Sorokin V.M., Karpova I.O., Stupina

- N.A., Terent'ev A.N. Osobennosti genotipov shtammov *Helicobacter pylori*, tsirkuliruyushchikh v Rostovskoi oblasti. Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika. 2013; 4 (71). (in Russian)]
5. Орлов С.В., Калашиникова В.А., Барышникова Н.В., Успенский Ю.П. Генетические особенности инфекции *Helicobacter pylori* у низших приматов и человека. Дневник Казанской медицинской школы. 2015; 1: 15–21. [Orlov S.V., Kalashnikova V.A., Baryshnikova N.V., Uspenskii Yu.P. Geneticheskie osobennosti infektsii *Helicobacter pylori* u nizshikh primatov i cheloveka. Dnevnik Kazanskoi Meditsinskoi Shkoly. 2015; 1: 15–21. (in Russian)]
6. Нижевич А.А., Ахмадеева Э.Н., Кучина Е.С., Туйгунов М.М., Сатаев В.У. Региональные генотипы *Helicobacter pylori* среди детей с гастродуоденальными заболеваниями в республике Башкортостан. Медицинский вестник Юга России. 2013; 2: 94–97. [Nizhevich A.A., Akhmadeeva E. N., Kuchina E. S., Tuigunov M. M., Sataev V. U. Regional'nye genotipy *Helicobacter pylori* среди detei s gastroduodenal'nymi zabolevaniyami v respublike Bashkortostan. Meditsinskii Vestnik Yuga Rossii. 2013; 2: 94–97. (in Russian)]
7. Голубкина Е.В., Сорокин В.М., Левитан Б.Н., Умерова А.Р., Камнева Н.В. Эрадикация, сохранение штамма, смена штамма — исходы антихеликобактерной терапии. Антибиотики и химиотерапия. 2021; 66 (3–4): 18–26. doi: 10.37489/0235-2990-2021-66-3-4-18-26. [Golubkina E.V., Sorokin V.M., Levitan B.N., Umerova A.R., Kamneva N.V. Eradikatsiya, sokhranenie shtamma, smena shtamma — iskhody antikhelikobakternoi terapii. Antibiotiki i khimioter. 2021; 66 (3–4): 18–26. doi: 10.37489/0235-2990-2021-66-3-4-18-26. (in Russian)]

## Информация об авторах

Голубкина Елена Вадимовна — к. м. н., доцент кафедры клинической фармакологии ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России, Российская Федерация. ORCID 0000-0001-9203-5857. eLIBRARY SPIN-код: 1410-3092

Сорокин Владимир Михайлович — к. б. н., старший научный сотрудник, лаборатория туляремии ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-1835-1496. Scopus: 7201463407

Левитан Болеслав Наумович — д. м. н., профессор, заведующий кафедрой факультетской терапии и профессиональных болезней с курсом последипломного образования ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России, Астрахань, Российская Федерация. ORCID 0000-0001-6725-8290. Scopus ID: 7003706105

Умерова Аделя Равильевна — д. м. н., доцент, заведующая кафедрой клинической фармакологии ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России, Астрахань, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-3129-2443

Камнева Наталия Вячеславовна — д. м. н., доцент кафедры пропедевтики внутренних болезней ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России, Астрахань, Российская Федерация. ORCID: 0000-0003-4453-8614

## About the authors

Elena V. Golubkina — Ph. D. in medicine, Astrakhan State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Astrakhan, Russian Federation. ORCID 0000-0001-9203-5857. eLIBRARY SPIN-код: 1410-3092

Vladimir M. Sorokin — Ph. D. in biology, Rostov-on-Don Plague Control Research Institute of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-1835-1496. Scopus: 7201463407

Boleslav N. Levitan — D. Sc. in medicine, Professor, Astrakhan State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Astrakhan, Russian Federation. ORCID 0000-0001-6725-8290. Scopus ID: 7003706105

Adelya R. Umerova — D. Sc. in medicine, Astrakhan State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Astrakhan, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-3129-2443

Natalia V. Kamneva — D. Sc. in medicine, Astrakhan State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Astrakhan, Russian Federation

# Влияние полиморфных маркеров гена *NAT2* на эффективность и безопасность лечения пациентов с впервые выявленным туберкулёзом лёгких по динамике показателей эритроцитарного звена периферической крови

\*Н. М. КРАСНОВА<sup>1</sup>, С. Г. ЕФРЕМЕНКО<sup>2</sup>, Н. Е. ЕВДОКИМОВА<sup>2</sup>, О. И. ФИЛИППОВА<sup>2</sup>, Я. В. ЧЕРТОВСКИХ<sup>3</sup>, Е. А. АЛЕКСЕЕВА<sup>3</sup>, О. В. ТАТАРИНОВА<sup>3</sup>, А. И. ГОТОВЦЕВА<sup>2</sup>, Е. С. ПРОКОПЬЕВ<sup>2</sup>, А. Ф. КРАВЧЕНКО<sup>2</sup>, А. И. ВЕНГЕРОВСКИЙ<sup>4</sup>, Д. А. СЫЧЕВ<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Медицинский институт «Северо-Восточный федеральный университет им. М. К. Аммосова», Якутск, Российская Федерация

<sup>2</sup> Научно-практический центр «Фтизиатрия» им. Е. Н. Андреева», Якутск, Российская Федерация

<sup>3</sup> Республиканская клиническая больница № 3, Якутск, Российская Федерация

<sup>4</sup> Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Российская Федерация

<sup>5</sup> Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования, Москва, Российская Федерация

## Influence of the *NAT2* Gene Polymorphic Markers on the Effectiveness and Safety of Treatment in Patients With Newly Diagnosed Pulmonary Tuberculosis Based on Peripheral Red Blood Cell Dynamics

\*NATALIA M. KRASNOVA<sup>1</sup>, SOFIA G. EFREMENKO<sup>2</sup>, NADEZHDA E. EVDOKIMOVA<sup>2</sup>, OLGA I. FILIPPOVA<sup>2</sup>, YANA V. CHERTOVSKIKH<sup>3</sup>, ELIZAVETA A. ALEKSEEVA<sup>3</sup>, OLGA V. TATARINOVA<sup>3</sup>, ANNA I. GOTOVTSOVA<sup>2</sup>, EGOR S. PROKOPEV<sup>2</sup>, ALEXANDER F. KRAVCHENKO<sup>2</sup>, ALEXANDER I. VENGEROVSKIY<sup>4</sup>, DMITRY A. SYCHEV<sup>5</sup>

<sup>1</sup> M. K. Ammosov North-East Federal University, Yakutsk, Russian Federation

<sup>2</sup> E. N. Andreev Phthisiology Scientific and Practical Center, Yakutsk, Russian Federation

<sup>3</sup> Republican Clinical Hospital No. 3, Yakutsk, Russian Federation

<sup>4</sup> Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

<sup>5</sup> Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow, Russian Federation

### Резюме

**Обоснование.** Индивидуальная восприимчивость больных туберкулёзом к действию изониазида обусловлена присутствием в геноме аллельных вариантов гена фермента N-ацетилтрансферазы 2 (*NAT2*). Количественные и качественные изменения в периферической крови позволяют диагностировать заболевание, оценить его тяжесть, служат ориентиром эффективности и безопасности противотуберкулёзной терапии. **Цель** — установить взаимосвязь между типом ацетилирования и динамикой показателей эритроцитарного звена периферической крови, определить влияние скорости ацетилирования при участии *NAT2* на эффективность и безопасность лечения пациентов с впервые выявленным туберкулёзом лёгких, проживающих в Республике Саха (Якутия). **Методы** — в исследование включены 146 пациентов с различными формами впервые выявленного туберкулёза лёгких. Пациенты принимали внутрь изониазид, рифампицин, пипразинамид, этамбутол. Генотипирование проводили методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. **Результаты.** У быстрых и промежуточных ацетиляторов после курса химиотерапии повышались концентрация и содержание гемоглобина в эритроцитах ( $p < 0,05$ ). В группе промежуточных ацетиляторов снижалась частота анемий по сравнению с частотой у быстрых и медленных ацетиляторов ( $p = 0,013$ ). Установлена отрицательная корреляция между абсолютным количеством эритроцитов и медленным типом ацетилирования ( $p = 0,017$ ). У пациентов с быстрым типом ацетилирования возрастали индексы RDW-CV и RDW-SD ( $p < 0,05$ ). **Выводы.** При лечении пациентов с промежуточным типом ацетилирования адекватный терапевтический эффект достигался при приёме противотуберкулёзных средств в стандартных дозах. При быстром и медленном типах ацетилирования необходима коррекция дозы противотуберкулёзных средств. Генотипирование по гену фермента *NAT2* пациентов с туберкулёзом лёгких позволяет подобрать оптимальную дозу противотуберкулёзных средств, в частности дозу изониазида.

**Ключевые слова:** туберкулёз; изониазид; N-ацетилтрансфераза 2 (*NAT2*); тип ацетилирования; эритроциты; эритроцитарные индексы; анемия

© Коллектив авторов, 2021

\*Адрес для корреспонденции: ул. Белинского, д. 58, Северо-Восточный федеральный университет им. М. К. Аммосова, г. Якутск, Саха, Российская Федерация, 677000.  
E-mail: krasnova14@mail.ru

© Team of Authors, 2021

\*Correspondence to: 58 Belinskogo st., M. K. Ammosov North-Eastern Federal University, Yakutsk, Sakha, 677000 Russian Federation. E-mail: krasnova14@mail.ru

**Для цитирования:** Краснова Н.М., Ефременко С.Г., Евдокимова Н.Е., Филиппова О.И., Чертовских Я.В., Алексеева Е.А., Татарнинова О.В., Готовцева А.И., Прокопьев Е.С., Кравченко А.Ф., Венгеровский А.И., Сычев Д.А. Влияние полиморфных маркеров гена NAT2 на эффективность и безопасность лечения пациентов с впервые выявленным туберкулёзом лёгких по динамике показателей эритроцитарного звена периферической крови. *Антибиотики и химиотерапия*. 2021; 66: 9–10: 30–38. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-9-10-30-38.

## Abstract

**Background.** Individual sensitivity to isoniazid in tuberculosis patients is determined by the presence of N-acetyltransferase 2 (NAT2) enzyme gene allelic variants in genome. Evaluation of quantitative and qualitative alterations in peripheral blood can be used for diagnosis, disease severity estimation, or as a clue for estimation of anti-tuberculosis chemotherapy effectiveness and safety. **Aim:** Find associations between acetylation type and peripheral red blood cell (RBC) dynamics; determine the effect of NAT2 acetylation rate on the effectiveness and safety of treatment in patients with newly identified pulmonary tuberculosis (TB) residing in the Sakha Republic (Yakutia). **Methods.** This study included 146 patients with various clinical forms of newly diagnosed pulmonary TB. Oral isoniazid, rifampicin, pyrazinamide, and ethambutol were administered patients. Genotyping was performed via real time PCR. **Results.** Rapid and intermediate acetylators showed an increase in hemoglobin concentrations and RBC erythrocyte hemoglobin content by the end of chemotherapy ( $P<0.05$ ). Incidence of anemia was lower in intermediate acetylators, compared to rapid or slow acetylators ( $P=0.013$ ). Negative correlation was established between absolute RBC count and slow acetylation type ( $P=0.017$ ). Patients with rapid acetylation type showed increased RBC distribution width indexes RDW-CV and RDW-SD ( $P<0.05$ ). **Conclusions.** An adequate therapeutic effect was achieved with standard doses of anti-TB medications in patients with intermediate acetylation type. Rapid and slow acetylators required anti-TB medication dose correction. Genotyping for NAT2 gene in patients with pulmonary TB enables clinicians to choose the optimal dose of anti-TB medications, specifically, isoniazid dose.

**Keywords:** tuberculosis; isoniazid; N-acetyltransferase 2 (NAT2); acetylation type; erythrocytes; red blood cell index; anemia.

**For citation:** Krasnova N. M., Efremenko S. G., Evdokimova N. E., Filippova O. I., Chertovskikh Y. V., Alekseeva E. A., Tatarinova O. V., Gotovtseva A. I., Prokopenko E. S., Kravchenko A. F., Vengerovskiy A. I., Sychev D. A. Influence of the NAT2 gene polymorphic markers on the effectiveness and safety of treatment in patients with newly diagnosed pulmonary tuberculosis based on peripheral red blood cell dynamics. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2021; 66: 9–10: 30–38. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-9-10-30-38.

## Введение

Диагностика и лечение туберкулёза остаются одной из наиболее актуальных медико-социальных проблем. Для диагностики туберкулёза, мониторинга эффективности и безопасности его лечения не утратили значения традиционные лабораторные методы исследования, в том числе клинический анализ крови [1]. Количественные и качественные изменения в периферической крови при туберкулёзе позволяют врачу судить об активности патологического процесса, тяжести эндогенной интоксикации, нарушениях нутритивного статуса и наличии сопутствующей патологии [2]. У пациентов с туберкулёзом чаще всего диагностируют лейкоцитоз, лимфоцитопению, повышение количества тромбоцитов [3, 4], уменьшение концентрации гемоглобина и количества эритроцитов [5, 6]. Достижение референсных значений показателей гемограммы служит ориентиром эффективности противотуберкулёзной химиотерапии [7].

В большинстве случаев при впервые выявленном туберкулёзе микобактерия туберкулёза чувствительна к бактерицидному действию рифампицина и изониазида, поэтому для лечения лекарственно-чувствительного туберкулёза применяют стандартные режимы химиотерапии, включающие лекарственные средства первого ряда (изониазид, рифампицин, пиразинамид, этамбутол) [1]. Все эти противотуберкулёзные средства могут вызывать побочные реакции: оказывать нейротоксическое, кардиотоксическое, нефротокси-

ческое влияние, нарушать функции системы крови. Гематологические нарушения при терапии туберкулёза возникают у 0,06–93,6% пациентов, их тяжесть варьирует от лёгкой, обратимой до крайне тяжёлой, необратимой патологии [8–10].

При химиотерапии туберкулёза изменения в крови развиваются по различным патофизиологическим механизмам и могут охватывать весь спектр показателей гемограммы. Наиболее часто возникают гемолитическая, мегалобластическая, апластическая анемия, нейтропения, лимфоцитопения, эозинофилия, тромбоцитопения [2, 8, 11, 12]. Гематологические побочные реакции противотуберкулёзных средств снижают шансы на прекращение выделения микобактерий, способствуют развитию их приобретённой резистентности, препятствуют закрытию кавернозных полостей, удлиняют сроки интенсивной фазы химиотерапии, повышают летальность [13].

Фармакокинетика противотуберкулёзных средств широко варьирует у пациентов, принимающих их в стандартных дозах. Известно, что 20,0–95,0% вариаций фармакокинетики обусловлены генетическими факторами — полиморфизмом генов, кодирующих ферменты биотрансформации и белки-транспортёры [14]. Полиморфизм гена N-ацетилтрансферазы 2 (NAT2) значительно влияет на концентрацию изониазида в плазме. Активность изофермента NAT2 изменяется в результате однонуклеотидных замен (single nucleotide polymorphism, SNP) в структурной области кодирующего гена. Нуклеотидные замены в гене NAT2 могут модифицировать белковую структуру

фермента, уменьшать его синтез и изменять активность [15]. В зависимости от генетически детерминированной скорости ацетилирования выделяют три генотипа ацетиляторов изониазида: быстрый, промежуточный и медленный [16, 17].

В настоящее время не изучены показатели эритроцитарного звена периферической крови и не установлено влияние генотипов ацетилирования NAT2 на динамику этих показателей до и после проведения интенсивной фазы химиотерапии лекарственно-чувствительного туберкулёза у пациентов, проживающих в Республике Саха (Якутия).

Цель исследования: определить влияние скорости ацетилирования изониазида при участии изофермента NAT2 на эритроцитарное звено периферической крови как показатель эффективности и безопасности лечения пациентов с впервые выявленным туберкулёзом лёгких.

## Материал и методы

Ретроспективное сравнительное одноцентровое когортное исследование проведено на базе государственного бюджетного учреждения Республики Саха (Якутия) «Научно-практический центр «Фтизиатрия», Якутск (далее ГБУ РС(Я) НППЦ «Фтизиатрия»). Протокол исследования рассмотрен и одобрен этическим комитетом при ГБУ РС(Я) НППЦ «Фтизиатрия», протокол № 3 от 26.09.2018 г.

В исследовании участвовали 146 пациентов с впервые выявленным туберкулёзом лёгких, госпитализированных в терапевтическое отделение в период с ноября 2018 г. по декабрь 2019 г. Среди них были 59 (40,4%) женщин и 87 (59,6%) мужчин в возрасте от 18 до 83 лет (средний возраст —  $39,3 \pm 14,1$  лет). Масса тела пациентов —  $60,6 \pm 12,8$  кг. Якуты составляли 78,8% (115 пациентов), русские — 21,2% (31). Критерии включения: 1) впервые в жизни выявленный туберкулёз лёгких; 2) возраст 18 лет и старше; 3) интенсивная фаза противотуберкулёзной химиотерапии с обязательным включением изониазида; 4) информированное согласие, подписанное пациентом. Критерии невключения: генерализованный туберкулёз, ВИЧ-инфекция, наличие злокачественных новообразований, беременность, длительность интенсивной фазы менее 60 дней, приём других лекарственных средств. В соответствии с клиническими рекомендациями «Туберкулёз органов дыхания у взрослых» (2018), утверждёнными Минздравом России, и инструкцией по применению противотуберкулёзных средств все пациенты в интенсивной фазе лечения туберкулёза получали изониазид в дозе 5–10 мг/кг/сут (не более 600 мг/сут), рифампицин в дозе 10 мг/кг/сут (не более 600 мг/сут), этамбутол в дозе 15–25 мг/кг/сут (не более 2000 мг/сут), пирразинамид в дозе 25–30 мг/кг/сут (более 2500 мг/сут), пиридоксин в дозе 10–30 мг/сут. Длительность стационарного лечения составила  $110,74 \pm 47,09$  койко-дней.

Для клинического анализа крови у всех пациентов до начала противотуберкулёзной терапии и в конце интенсивной фазы лечения утром натощак из локтевой вены в вакуумные пробирки без наполнителя забирали 8–9 мл крови (Zhejiang Gongdong Medical Technology Co., Ltd, Китай). Клинический анализ крови выполняли на автоматическом 5-DiFF гематологическом анализаторе BC-5300 Mindray (Mindray Medical International Limited, Китай). Определяли абсолютное количество эритроцитов (RBC,  $\times 10^{12}/л$ ), концентрацию гемоглобина (HGB, г/л), гематокрит (HCT, %), средний объём эритроцитов (MCV, фл), среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH, пг), среднюю концентрацию гемоглобина в эритроци-

тах (MCHC, г/л), широту распределения эритроцитов по объёму, стандартное отклонение (RDW-SD, фл) коэффициент вариации (RDW-CV, %). При анализе количества эритроцитов, концентрации гемоглобина и значения гематокрита учитывали гендерные различия. Согласно критериям Всемирной организации здравоохранения, анемию диагностировали, если уровень гемоглобина у мужчин составлял менее 130 г/л, у женщин — менее 120 г/л. При содержании гемоглобина от 90–119 г/л диагностировали анемию лёгкой степени тяжести, при содержании 70–89 г/л — анемию средней степени тяжести, при содержании меньше 70 г/л — тяжёлую анемию [18].

Для генотипирования из цельной крови выделяли ДНК с помощью наборов реагентов ExtractDNA Blood («Евроген», Россия). Носительство полиморфных вариантов NAT2\*5 (rs1801280, T341C), NAT2\*6 (rs1799930, G590A), NAT2\*7 (rs1799931, G857A), NAT2\*11 (rs1799929, C481T), NAT2\*12 (rs1208, A803G), NAT2\*13 (rs1041983, C282T) определяли методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени на амплификаторе Real-Time CFX96 Touch (Bio-Rad, США) с помощью набора реагентов «ГенТест-М NAT2» (НОМОТЕК, Россия). Для генетического исследования из локтевой вены забирали 3–4 мл крови в вакуумные пробирки с помощью закрытой вакуумной системы (Zhejiang Gongdong Medical Technology Co., Ltd, Китай). Пробирки имели мелкодисперсное напыление К3 этилендиаминтетрауксусной кислоты. Генетически детерминированную скорость метаболизма рассчитывали с помощью онлайн-калькулятора NATpred с учётом 6 SNP в гене NAT (<http://nat2pred.rit.albany.edu/help.html#batch>) [19]. Распределение генотипов полиморфных вариантов гена NAT2 соответствовало закону Харди–Вайнберга ( $p > 0,005$ ).

Статистический анализ результатов проводили с использованием программы IBM SPSS Statistics v.23. Исходную информацию накапливали и корректировали в электронных таблицах Microsoft Office Excel 2016. Количественные показатели оценивали по критериям Шапиро–Уилка или Колмогорова–Смирнова на соответствие нормальному распределению. При нормальном распределении рассчитывали среднее арифметическое значение величин ( $M$ ) и стандартное отклонение ( $SD$ ), вычисляли  $t$ -критерий Стьюдента, при  $p < 0,05$  различия показателей считали статистически значимыми. Для номинальных данных указывали абсолютные значения и доли в процентах. Для проверки различий между двумя сравниваемыми парными выборками применяли  $W$ -критерий Уилкоксона, для каждого пациента вычисляли величину изменений признака. При сравнении нескольких выборок количественных данных с распределением, отличным от нормального, использовали критерий Краскела–Уоллиса. Корреляцию анализировали с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Сравнение номинальных данных проводили при помощи критерия  $\chi^2$  Пирсона. В тех случаях, когда число ожидаемых наблюдений в любой из ячеек четырёхпольной таблицы было менее 5, для оценки уровня значимости различий использовали точный критерий Фишера, где  $p < 0,05$  свидетельствует о наличии статистически значимых различий.

## Результаты и обсуждение

У пациентов с впервые выявленным туберкулёзом лёгких, включённых в исследование, преобладал инфильтративный туберкулёз (75/146, 51,40%), реже диагностировали диссеминированное (35/146, 24,0%) и очаговое поражение (36/146, 24,60%). При рентгенологическом исследовании у 53/146 (36,3%) пациентов выявляли двустороннее поражение лёгочной ткани, у 93/146 (67,30%) — одностороннее. При одностороннем поражении у 61/93 (65,60%) пациента патологи-

**Таблица 1.** Динамика показателей эритроцитарного звена периферической крови у пациентов до и после лечения туберкулёза**Table 1.** Erythrocyte indicator dynamics in peripheral blood of patients before and after tuberculosis treatment

Параметр	Референсный интервал	Значения до лечения (M±SD)	Значения после лечения (M±SD)	p*
Эритроциты, ×10 <sup>12</sup> /л (RBC)	3,90–5,00	4,50±0,57	4,49±0,47	0,819
Гемоглобин, г/л (HGB)	120,00–160,00	129,42±18,67	132,26±17,19	0,026*
Гематокрит, % (HCT)	36,00–42,00	42,37±5,94	42,79±4,98	0,321
Объём эритроцитов, фл (MCV)	80,00–100,00	94,34±8,08	95,17±7,25	0,075
Содержание гемоглобина в эритроците, пг (MCH)	27,00–34,00	28,79±2,90	29,48±2,79	0,000*
Концентрация гемоглобина в эритроцитах, г/л (MCHC)	320,00–360,00	305,01±13,58	308,94±13,25	0,003*
Широта распределения эритроцитов по объёму, % (RDW-CV)	11,00–16,00	14,15±1,79	14,37±1,83	0,116
Широта распределения эритроцитов по объёму, фл (RDW-SD)	35,00–56,00	55,27±6,71	56,85±6,99	0,022*

**Примечание.** M — среднее значение; SD — стандартное отклонение; \* — статистически значимые различия; p\* — t-критерий Стьюдента для сравнения двух зависимых (парных) выборок; p<0,05.

**Note.** M — average value; SD — standard deviation; \* — statistically significant differences; p\* — Student's t-test for comparing two dependent (paired) samples; P<0.05.

ческий процесс распространялся на 1–2 сегмента лёгких. У 43/146 (29,50%) пациентов диагностировали фазу распада. Выделение микобактерий туберкулёза установлено у 93/146 (63,70%) пациентов. В интенсивной фазе химиотерапии туберкулёза лёгких пациенты принимали изониазид в дозе 519,37±86,61 мг/сут; рифампицин в дозе 520,14±80,18 мг/сут; пиперазинид в дозе 1485,73±338,20 мг/сут; этамбутол в дозе 1209,25±303,77 мг/сут. Длительность терапии составляла 95,39±29,69 доз.

На старте лечения туберкулёза среднее абсолютное количество эритроцитов (RBC), гематокрит (HCT), концентрация гемоглобина в крови (HGB), объём эритроцитов (MCV), содержание гемоглобина в эритроците (MCH), широта распределения эритроцитов по объёму (RDW) находились в диапазоне референсных значений, концентрация гемоглобина в эритроцитах (MCHC) была уменьшена (табл. 1).

После завершения лечения туберкулёза количество эритроцитов и гематокрит значимо не изменялись, концентрация гемоглобина повышалась на 0,34–5,33 г/л (t=-2,25, p=0,026). У этих пациентов индекс MCH увеличивался на 0,31–1,08 пг и определялся в пределах референсного интервала (t=-3,57, p=0,000). Индекс MCHC возрастал на 1,34–6,51 г/л (t=-3,00, p=0,003), но оставался ниже показателей референсного интервала. Индекс RDW-SD возрастал в среднем на 0,23–2,93 фл (t=-2,30, p=0,000) и превышал референсный интервал. Число пациентов с индексом PDW-SD выше референсного диапазона увеличивалось на 11,73% (p=0,022). Значения эритроцитарных индексов MCV и RDW-CV значимо не изменялись (табл. 1).

При поступлении в стационар анемию диагностировали у 51/146 (34,93%) пациента: у 24/146 (16,43%) женщин и у 27/146 (18,49%) мужчин. У

48/146 (32,87%) пациентов выявлена анемия лёгкой степени, у 3/146 (2,05%) — средней степени тяжести, тяжёлая анемия не регистрировалась. К концу интенсивной фазы лечения туберкулёза анемия сохранялась у 26/146 (17,81%) женщин и 16/146 (10,96%) мужчин (42/146, 28,77%). Число пациентов с анемией лёгкой степени тяжести уменьшилось на 4,8% (41/146, 20,08%), с анемией средней степени тяжести на 1,37% (1/146, 0,68%). После приёма противотуберкулёзных средств анемию впервые установили у 10/146 (6,8%) пациентов: у 7/146 женщин (4,79%) и у 3/146 мужчин (2,05%).

На старте лечения туберкулёза клинические проявления анемии (слабость, утомляемость, сонливость, сердцебиение, головокружение, шум в ушах) выявляли у 17/51 (33,33%) пациентов. К концу интенсивной фазы лечения туберкулёза анемия клинически проявлялась у 10/42 (23,81%) пациентов.

После проведения фармакогенетического исследования и определения типа ацетилирования были выделены 3 группы пациентов: 33/146 (22,60%) быстрых ацетилятора, 64/146 (43,84%) промежуточных ацетиляторов, 49/146 (33,56%) медленных ацетиляторов. В начале лечения статистически значимых различий показателей эритроцитарного звена периферической крови между всеми группами не обнаружено (p>0,05) (табл. 2). До лечения туберкулёза абсолютное количество эритроцитов у пациентов исследуемых групп находилось в диапазоне референсных значений и после химиотерапии не изменялось, но статистически значимо различалось между группами быстрых и медленных ацетиляторов (p=0,024) (см. табл. 2).

При поступлении в стационар гематокрит у всех пациентов превышал референсный интервал. Перед выпиской из стационара гематокрит у пациентов с быстрым и промежуточным типом

**Таблица 2.** Динамика показателей эритроцитарного звена периферической крови у быстрых, промежуточных и медленных ацетиляторов до и после лечения туберкулёза лёгких

**Table 2.** Erythrocyte indicator dynamics in peripheral blood in rapid, intermediate, and slow acetylators before and after pulmonary tuberculosis treatment

Тип ацетилирования	Референсный интервал		Быстрые метаболизаторы, n=33		Промежуточные метаболизаторы, n=64		Медленные метаболизаторы, n=49			
	значения до лечения (M±SD)	значения после лечения (M±SD)	значения до лечения (M±SD)	значения после лечения (M±SD)	значения до лечения (M±SD)	значения после лечения (M±SD)	значения до лечения (M±SD)	значения после лечения (M±SD)		
Эритроциты, $\times 10^{12}/л$ (RBC)	3,90–5,00	4,58±0,59	4,63±0,35	0,653	4,45±0,54	4,50±0,48	0,400	4,52±0,60	4,38±0,51	0,051
Гемоглобин, г/л (HGB)	120,00–160,00	128,61±14,38	133,94±16,22	0,048*	128,80±18,17	132,81±17,34	0,035*	130,78±21,87	130,41±17,79	0,870
Гематокрит, % (HCT)	36,00–42,00	42,20±4,88	43,41±4,44	0,141	42,01±5,66	43,14±5,07	0,093	42,94±6,93	41,93±5,17	0,184
Объём эритроцитов, фл (MCV)	80,00–100,00	92,60±8,16	93,80±6,47	0,254	94,83±6,85	95,55±6,58	0,212	94,88±9,41	95,61±8,50	0,447
Содержание гемоглобина в эритроците, пг (MCH)	27,00–34,00	28,25±2,71	28,93±2,55	0,103	28,98±2,71	29,53±2,23	0,043*	28,90±3,26	29,80±3,52	0,022*
Средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах, г/л (MCHC)	320,00–360,00	305,03±11,24	308,06±11,04	0,170	305,38±15,50	307,58±13,39	0,318	304,51±12,57	311,26±14,31	0,003*
Ширина распределения эритроцитов по объёму, % (RDW-CV)	11,00–16,00	14,06±1,50	14,64±1,82	0,037*	14,20±1,84	14,34±1,93	0,512	14,13±1,92	14,21±1,71	0,754
Ширина распределения эритроцитов по объёму, фл (RDW-SD)	35,00–56,00	54,08±5,50	57,45±5,76	0,009*	55,56±7,21	56,99±8,65	0,248	55,69±6,81	56,25±5,19	0,557

**Примечание.** M — среднее значение; SD — стандартное отклонение; \* — статистически значимые различия,  $p < 0,05$ .  
**Note.** M — average value; SD — standard deviation; \* — statistically significant differences,  $P < 0,05$ .

ацетилирования повышался выше референсного диапазона. У медленных ацетиляторов гематокрит снижался в пределах референсных значений. При сравнительном анализе не выявлено значимых различий гематокрита у пациентов исследуемых групп (см. табл. 2).

На старте лечения туберкулёза концентрация гемоглобина в крови пациентов всех групп определялась в диапазоне референсных значений. Перед выпиской из стационара концентрация гемоглобина у пациентов с быстрым типом ацетилирования повышалась в среднем на 0,06–10,61 г/л ( $t = -2,06$ ,  $p = 0,048$ ), при промежуточном типе — на 0,28–7,75 г/л ( $t = -2,15$ ,  $p = 0,035$ ), соответственно (см. табл. 2). После химиотерапии концентрация гемоглобина у медленных ацетиляторов значимо не изменялась и оставалась в пределах референсных значений. Значимых различий динамики концентрации гемоглобина между исследуемыми группами не установлено (см. табл. 2).

До лечения индексы MCV, MCH, RDW-CV и RDW-SD в крови пациентов с быстрым, промежуточным и медленным типом ацетилирования находились в пределах референсного диапазона, индекс MCHC определялся ниже этого диапазона. Перед выпиской из стационара у всех пациентов индекс MCV значимо не изменялся и оставался в пределах референсных значений. Различий показателя MCV между пациентами исследуемых групп не установлено. Индекс MCH у промежуточных ацетиляторов увеличился на 0,01–1,08 пг ( $t = -2,06$ ,  $p = 0,043$ ), у медленных — на 0,13–1,66 пг ( $t = -2,36$ ,  $p = 0,022$ ) и определялся в пределах референсного интервала. Значения MCH на зависели от типа ацетилирования (см. табл. 2).

При химиотерапии туберкулёза у медленных ацетиляторов индекс MCHC увеличивался на 2,33–11,18 г/л ( $t = -3,07$ ,  $p = 0,003$ ), у пациентов с быстрым и промежуточным типом ацетилирования — значимо не изменялся. Индекс MCHC после лечения туберкулёза у пациентов трёх групп оставался ниже референсного диапазона и не зависел от типа ацетилирования (см. табл. 2).

У быстрых ацетиляторов после окончания интенсивной фазы лечения туберкулёза индекс RDW-CV повышался на 0,04–1,13% ( $t = -2,17$ ,  $p = 0,037$ ) и определялся в диапазоне референсных значений. Индекс RDW-SD возрастал на 0,89–5,85 фл ( $t = -2,77$ ,  $p = 0,009$ ) и превышал референсный интервал. Индексы RDW-CV и RDW-SD у пациентов с промежуточным и медленным типом ацетилирования значимо не изменялись (см. табл. 2). Индексы RDW-CV и RDW-SD в группах ацетиляторов мало различались.

При поступлении в стационар у 11/33 (33,33%) быстрых ацетиляторов диагностировали анемию лёгкой степени тяжести. У пациентов с промежуточным типом ацетилирования анемия регистри-

ровалась у 26/64 (40,62%) пациентов, анемию легкой степени выявляли у 25/64 (39,06%) пациентов, средней — 1/64 (1,56%) пациента. В группе медленных ацетиляторов анемию диагностировали у 14/49 (28,57%) пациентов, лёгкая степень анемии была установлена у 12/49 (24,49%) пациентов, средняя степень — у 2/49 (4,08%) пациентов.

К концу интенсивной фазы лечения туберкулёза анемию диагностировали у 30,30% быстрых ацетиляторов (10/33) и у 30,61% (15/49) медленных, при этом анемию впервые выявляли у 3/33 (9,09%) быстрых ацетиляторов и у 5/49 (10,20%) медленных. При промежуточном типе ацетилирования анемия уменьшилась на 14,06% и была диагностирована у 17/64 (26,56%) пациентов, только у 2/64 (3,13%) выявлена впервые.

При поступлении в стационар клинические проявления анемии отмечали у 2/33 (6,06%) пациентов с быстрым типом ацетилирования, у 10/64 (15,62%) — с промежуточным типом, у 5/49 (10,20%) — с медленным типом. Перед выпиской из стационара анемия клинически проявлялась у 2/33 (6,06%) быстрых ацетиляторов, у 5/64 (7,81%) промежуточных и у 3/49 (6,12%) медленных.

В выполненном нами исследовании у пациентов с впервые выявленным туберкулёзом лёгких диагностированы изменения эритроцитарного звена периферической крови. На старте химиотерапии туберкулёза эритроцитопения регистрировалась у 11,64% пациентов, эритроцитоз в сочетании с повышенным гематокритом — у 15,07%. Отметим, что у 56,16% пациентов, включённых в исследование, до начала интенсивной фазы химиотерапии туберкулёза гематокрит определялся выше референсных значений, что свидетельствует о гемоконцентрации. При туберкулёзе лёгких абсолютный вторичный эритроцитоз обусловлен повышенным образованием эритропоэтина и/или высокой чувствительностью к нему эритроидных клеток вследствие ухудшения регионарного газообмена и гипоксии. Относительный вторичный эритроцитоз возникает из-за снижения объёма циркулирующей крови (гемоконцентрации) [20]. После химиотерапии туберкулёза эритроцитоз в сочетании с повышенным гематокритом у 14,38% пациентов оставался на уровне, как до лечения.

К моменту госпитализации у 34,93% пациентов отмечалось снижение концентрации гемоглобина, у 33,33% диагностирована эритропения. Анемия и тканевая гипоксия часто сопровождают заболевание туберкулёзом, ослабляют защитные и компенсаторные реакции организма, способствуют утяжелению и удлинению специфического воспалительного процесса, замедляют выздоровление [21–23].

Патогенез анемии при туберкулёзе обусловлен продукцией провоспалительных цитокинов — ин-

терлейкинов-1, -6, фактора некроза опухоли- $\alpha$ , интерферона у [23]. Провоспалительные цитокины прямо нарушают пролиферацию и дифференцировку эритроидных клеток-предшественников в костном мозге, тормозят продукцию эритропоэтина, ослабляют ответ эритроидных предшественников на эритропоэтин, сокращают продолжительность жизни эритроцитов [24], снижают концентрацию железа в крови и его биодоступность для красного ростка кроветворения [25].

До начала химиотерапии туберкулёза у 94,12% пациентов преобладала анемия лёгкой степени тяжести, при этом у 47,06% определялся нормоцитоз в сочетании с нормохромией эритроцитов, у 21,56% развивались нормоцитоз и гипохромия, у 17,65% — микроцитоз и гипохромия, у 13,73% — макроцитоз и нормохромия. После лечения туберкулёза у 62,74% пациентов анемия сохранялась. В конце интенсивной фазы химиотерапии туберкулёза у 6,84% пациентов анемию диагностировали впервые, у 30,95% она характеризовалась нормоцитозом с нормохромией эритроцитов, у 35,71% — нормоцитозом с гипохромией.

До лечения эритроцитарный индекс МСНС был снижен, после лечения оставался ниже референсного интервала. Этот индекс не зависит от объёма клетки и поэтому является чувствительным показателем нарушения синтеза гемоглобина [26]. После химиотерапии туберкулёза индекс RDW-SD повышался и становился больше референсного значения. Рост индекса RDW указывает на нарушение продукции эритроцитов в костном мозге, усиленное разрушение эритроцитов, патологию обмена железа [27]. Высокий индекс RDW-SD в сочетании со снижением содержания и концентрации гемоглобина в эритроцитах позволяют диагностировать у пациентов с туберкулёзом железodefицитную анемию. Железо необходимо для роста и размножения микобактерий туберкулёза [28], но при воспалении доступ микобактерий к железу ограничен [29]. Важную роль в снижении доступности железа для микобактерий играет изменение продукции гепсидина [29–31]. Провоспалительные интерлейкин-6 и фактор некроза опухоли- $\alpha$  стимулируют синтез гепсидина [29]. Этот пептид уменьшает всасывание железа в тонком кишечнике и тормозит высвобождение железа из макрофагов, поглотивших стареющие эритроциты [32]. При дефиците железа размножение микобактерий туберкулёза останавливается.

После химиотерапии туберкулёза установлена различная динамика эритроцитарных показателей периферической крови в зависимости от типов ацетилирования при участии NAT2 (см. табл. 2). У пациентов с быстрым и промежуточными типами ацетилирования повышались содержание и концентрация гемоглобина в эритроцитах. В группе промежуточных ацетиляторов уменьшалась ча-

стота анемий по сравнению с частотой у быстрых и медленных ацетиляторов ( $\chi^2=6,192$ ;  $p=0,013$ ). Полученные результаты свидетельствуют о том, что пациентам с промежуточным типом ацетилирования во время интенсивной фазы лечения туберкулёза противотуберкулёзные средства назначали в адекватных дозах и оптимальном режиме. У этих пациентов увеличивалась продукция эритропоэтина, в костном мозге ускорялось созревание эритроцитов, в этих клетках повышалось содержание гемоглобина.

К концу интенсивной фазы лечения туберкулёза анемия впервые развивалась у 10,20% медленных ацетиляторов, у 9,09% быстрых и только у 3,13% пациентов с промежуточным типом ацетилирования. Выявлена отрицательная корреляция между абсолютным количеством эритроцитов и медленным типом ацетилирования ( $p=0,017$ ). Можно предположить, что снижение абсолютного количества эритроцитов и концентрации гемоглобина в крови пациентов с медленным типом ацетилирования связано с гематотоксическим действием противотуберкулёзных средств [33, 34]. При химиотерапии туберкулёза гематотоксические нежелательные реакции чаще всего обусловлены уменьшением пула клеток красной крови вследствие миелосупрессии или ускоренным разрушением эритроцитов в кровяном русле [2]. Лекарственно-индуцированная анемия является распространённой нежелательной побочной реакцией при лечении туберкулёза [8–10], её в большинстве случаев вызывает изониазид [33].

Обращает на себя внимание значимое увеличение индексов RDW-CV и RDW-SD у пациентов с быстрым типом ацетилирования после лечения туберкулёза. Полученные данные могут свидетельствовать о незавершённости воспалительной реакции и прогрессировании дефицита железа. Возможно, стандартная доза изониазида для пациентов с быстрым типом ацетилирования является недостаточной, и у них развилась лекарственная устойчивость микобактерий туберкулёза [35, 36]. У быстрых ацетиляторов для достижения максимальной концентрации изониазида в плазме требуется назначать его в дозе, в 1,5 раза превышающей рекомендуемую стандартную дозу [37].

Таким образом, исследование показателей эритроцитарного звена периферической крови и правильная интерпретация полученных результатов являются важным инструментом диагностики и контроля за лечением туберкулёза лёгких. Генотипирования по полиморфизмам гена NAT2 может быть полезным врачу-фтизиатру для подбора оптимальной дозы изониазида, улучшения результатов лечения, снижения частоты нежелательных побочных реакций со стороны периферической крови.

**Ограничения исследования.** В нашем исследовании есть ограничения. Ограничениями исследования являются малый размер выборки. Однако размер выборки сопоставим с выборками в других аналогичных исследованиях, результаты которых опубликованы. В среднем за год (по данным 2018–2019 гг.) в Республике Саха (Якутия) впервые туберкулёзом органов дыхания заболевают 465 жителей (со стандартным отклонением 6,36). В исследование было включено 146 пациентов, что составляет 31,4% от числа всех лиц с впервые выявленным (в течение 12 мес.) туберкулёзом органов дыхания. Таким образом, можно предположить, что выборочная совокупность достаточно репрезентативна по отношению к генеральной совокупности пациентов с туберкулёзом органов дыхания.

## Заключение

На сегодняшний день необходимость проведения клинического анализа крови у пациентов с туберкулёзом лёгких не вызывает сомнений. Анализ позволяет уточнить диагноз заболевания, оценить его тяжесть и прогноз, служит ориентиром эффективности и безопасности противотуберкулёзной терапии. В исследовании установлена динамика показателей эритроцитарного звена периферической крови пациентов до и после лечения впервые выявленного лекарственно-чувствительного туберкулёза лёгких. До лечения часто диагностируются анемия со снижением индекса МСНС и повышением гематокрита. Ответной реакцией на лечение туберкулёза становится значимое повышение концентрации гемоглобина, увеличение индексов МСН, МСНС, RDW-SD в периферической крови.

Впервые установлена разнонаправленная динамика показателей эритроцитарного звена крови в зависимости от типов ацетилирования. По нашим результатам, можно предположить, что при лечении противотуберкулёзными средствами в стандартных дозах пациентов с промежуточным типом ацетилирования был достигнут адекватный терапевтический эффект. При быстром типе ацетилирования уменьшается эффективность химиотерапии, при медленном типе — возрастает риск гематотоксических побочных реакций.

## Дополнительная информация

**Конфликт интересов.** Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

**Участие авторов.** Н. М. Краснова — разработка модели, анализ и интерпретация результатов, написание текста; Н. Е. Евдокимова, С. Г. Ефременко, О. И. Филиппова, А. И. Готовцева, Е. С. Прокопьев — участие в наборе участников исследования; Я. В. Чертовских, Е. А. Алексеева, О. В. Татарина — проведение

фармакогенетического исследования; А. И. Венгеровский, А. Ф. Кравченко — проверка и редактирование

## Литература/References

1. Туберкулёз у взрослых. Клинические рекомендации. Москва; 2020. Доступно по: [https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/16\\_1](https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/16_1). Ссылка активна на 24.09.2021. [Tuberculosis in adults. Clinical guidelines. Moscow: 2020. Dostupno po: [https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/16\\_1](https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/16_1). Ssylka aktivna na 24.09.2021. (in Russian)]
2. Иванова Д.А. Гематологические реакции при лечении больных туберкулёзом. Туберкулёз и социально-значимые заболевания. 2014; 4: 56–65. [Ivanova D.A. Gematologicheskie reaktsii pri lechenii bol'nykh tuberkulezom. Tuberkulez i Sotsial'no-Znachimye Zabolevaniya. 2014; 4: 56–65. (in Russian)]
3. Thatoi P.K., Khadanga S. Pulmonary Tuberculosis and its hematological correlates. *Transworld Med J.* 2013; 1 (1): 11–13.
4. Колобовникова Ю.В., Уразова О.И., Новицкий В.В., Михеева К.О., Гончаров М.Д. Молекулярные механизмы формирования эозинофилии крови при туберкулёзе лёгких. Вестник Российской академии медицинских наук. 2012; 67 (5): 58–62. doi: 10.15690/vramn.v67i5.276. [Kolobovnikova Yu.V., Urazova O.I., Novitskii V.V., Mikhееva K.O., Goncharov M.D. Molekulyarnye mekhanizmy formirovaniya eozinofilii krovi pri tuberkuleze legkikh. Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk. 2012; 67 (5): 58–62. doi: 10.15690/vramn.v67i5.276. (in Russian)]
5. Shareef H.A. Abnormalities of hematological parameters in newly diagnosed Pulmonary tuberculosis patients in Kirkuk city. *Pakistan Journal of Medical Sciences.* 2012; 20 (5): 1486–1492.
6. Kumar S., Saxena K., Pharcam I.J., Bio S., Singh U.N., Saxena R. Comparative study of acute proteins in case of Anemia of Chronic Disease (ACD) and Iron Deficiency Anemia (IDA) and its relationship with erythropoietin. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences.* 2013; 3 (3): 323–328.
7. Hasan Z., Cliff J.M., Dockrell H.M., Jamil B., Irfan M., Ashraf M., Hussain R. CCL2 responses to Mycobacterium tuberculosis are associated with disease severity in tuberculosis. *PLoS One.* 2009; 4(12):e8459. doi:10.1371/journal.pone.0008459.
8. Muzaifur T.M., Shaifuzain A.R., Imran Y., Haslina M.N. Hematological changes in tuberculous spondylitis patients at the Hospital Universiti Sains Malaysia. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2008; 39 (4): 686–689.
9. Yaranal P.J., Umashankar T., Harish S.G. Hematological profile in pulmonary tuberculosis. *Int J Health Rehabil Sci.* 2013; 2 (1): 50–55.
10. Koju D., Rao B., Shrestha B., Shakra R., Makaju R. Occurrence of side effects from anti-tuberculosis drugs in urban Nepalese population under DOTS treatment. *Kathmandu University J. Sci. Eng Technol.* 2005; 1 (1): 1–2.
11. Остроумова О.Д., Шахова Е.Ю., Кочетков А.И. Лекарственно-индуцированная эозинофилия. Безопасность и риск фармакотерапии. 2019; 7 (4): 176–189. doi: 10.30895/2312-7821-2019-7-4-176-189. [Ostroumova O.D., Shahova E.Yu., Kochetkov A.I. Drug-Induced Eosinophilia. Safety and Risk of Pharmacotherapy. 2019; 7 (4): 176–189. doi: 10.30895/2312-7821-2019-7-4-176-189. (in Russian)]
12. Остроумова О.Д., Кравченко Е.В., Кочетков А.И. Лекарственно-индуцированная тромбоцитопения. Клиническая фармакология и терапия. 2019; 28 (4): 56–64. doi: 10.32756/0869-5490-2019-4-56-64. [Ostroumova O.D., Kravchenko E.V., Kochetkov A.I. Drug-induced thrombocytopenia. Klinicheskaya farmakologiya i terapiya. Clin Pharmacol Ther. 2019; 28(4):56-64. doi: 10.32756/0869-5490-2019-4-56-64. (in Russian)]
13. Kwon B.S., Kim Y., Lee S.H., Lim S.Y., Lee Y.J., Park J.S. et al. The high incidence of severe adverse events due to pyrazinamide in elderly patients with tuberculosis. *PLoS One.* 2020; 15 (7): e0236109. doi:10.1371/journal.pone.0236109.
14. Ramachandran G., Swaminathan S. Role of pharmacogenomics in the treatment of tuberculosis: a review. *Pharmacogenomics Pers Med.* 2012; 5: 89–98. doi:10.2147/PGPM.S15454.
15. Wei Z., Zhang M., Zhang X., Yi M., Xia X., Fang X. NAT2 gene polymorphisms and endometriosis risk: A PRISMA-compliant meta-analysis. *PLoS One.* 2019; 14 (12): e0227043. doi: 10.1371/journal.pone.0227043.
16. Yadav D., Kumar R., Dixit R.K., Kant S., Verma A., Srivastava K. et al. Association of NAT2 gene polymorphism with antitubercular drug-induced hepatotoxicity in the Eastern Uttar Pradesh population. *Cureus.* 2019; 11 (4): e4425. doi: 10.7759/cureus.4425.
17. Wichukhinda N., Pakdee J., Kunhapan P., Imunchot W., Toyo-oka L., Tokunaga K. et al. Haplotype-specific PCR for NAT2 diplotyping. *Hum Genome Var.* 2020; 7 (13). doi: 10.1038/s41439-020-0101-7.
18. World Health Organization (WHO). Haemoglobin concentrations for the diagnosis of anaemia and assessment of severity [Internet]. WHO; 2011. Available from: <http://www.who.int/vmnis/indicators/haemoglobin.pdf>.
19. Kuznetsov I.B., McDuffie M., Moslehi R. A web-server for inferring the human N-acetyltransferase-2 (NAT2) enzymatic phenotype from NAT2 genotype. *Bioinformatics.* 2009; 25 (9): 1185–1186. doi: 10.1093/bioinformatics/btp121.
20. Лутвицкий П.Ф. Патология системы эритроцитов. Вопросы современной педиатрии. 2015; 14 (4): 450–463. doi: 10.15690/vsp.v14.i4.1384.
- [Litvitsky P.F. Pathology in the System of Red Blood Cells. *Current Pediatrics.* 2015; 14 (4): 450–463. doi: 10.15690/vsp.v14.i4.1384. (in Russian)]
21. Abay F., Yalaw A., Shibabaw A., Enawgaw B. Hematological abnormalities of pulmonary tuberculosis patients with and without HIV at the University of Gondar Hospital, Northwest Ethiopia: a comparative cross-sectional study. *Tuberc Res Treat.* 2018; 30: 2018: 5740951. doi: 10.1155/2018/5740951.
22. Yaranal P.J., Umashankar T., Harish S.G. Hematological Profile in Pulmonary Tuberculosis. *International Journal of Health and Rehabilitation Sciences.* 2013; 2 (1): 50–55.
23. Mohammed Abaker Saeed Mohammed. Some hematological parameters among patients with pulmonary tuberculosis — Khartoum State. *Scholars Journal of Applied Medical Sciences.* 2016; 4 (1B): 99–111.
24. Рукавицын О.А. Анемия хронических заболеваний: отдельные аспекты патогенеза и пути коррекции. Онкогематология. 2016; 11 (1): 37–46. doi: 10.17650/1818-8346-2016-11-1-37-46. [Rukavitsyn O.A. Anemia of chronic diseases: the important aspects of pathogenesis and treatment. *Oncohematology.* 2016; 11 (1): 37–46. doi: 10.17650/1818-8346-2016-11-1-37-46. (in Russian)]
25. Будневский А. В., Овсянников Е. С., Воронина Е. В., Лабжания Н. Б., Жусина Ю. Г. Новые подходы к лечению анемии хронических заболеваний. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2018; 62 (3): 106–112. doi: 10.25557/0031-2991.2018.03.106-112. [Budnevskiy A.V., Ovsyannikov E.S., Voronina E.V., Labzhaniya N.B., Zhuzina Yu.G. New approaches to the treatment of anemia of chronic diseases. *Pathological Physiology and Experimental Therapy.* 2018; 62 (1): 106–112. doi: 10.25557/0031-2991.2018.03.106-112. (in Russian)]
26. Егорова Е.Н., Пустовалова Р.А., Горшкова М.А. Клинико-диагностическое значение эритроцитарных индексов, определяемых автоматическими гематологическими анализаторами. Верхневолжский медицинский журнал. 2014; 12 (3): 34–41. [Egorova E.N., Pustovalova R.A., Gorshkova M.A. Kliniko-diagnosticheskoe znachenie eritrotsitarnykh indeksov, opredelyaemykh avtomaticheskimi gematologicheskimi analizatorami. Verkhnevolskii Meditsinskii Zhurnal. 2014; 12 (3): 34–41. (in Russian)]
27. Peng He, Jin-Ping Hu, Huan Li, Xiu-Juan Tian, Li-Jie He, Shi-Ren Sun, Chen Huang. Red blood cell distribution width and peritoneal dialysis-associated peritonitis prognosis. *Ren Fail.* 2020; 42 (1): 613–621. doi: 10.1080/0886022X.2020.1786401.
28. Лямин А.В., Халиулин А.В., Исмагуллин Д.Д., Козлов А.В., Балдина О.А. Железо как эссенциальный фактор роста микобактерий. Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2016; 18 (5–2): 320–327. [Lyamin A.V., Khalilulin A.V., Ismatullin D.D., Kozlov A.V., Baldina O.A. Zhelezo kak essential'nyi faktor rosta mikobakterii. Izvestiya Samarskogo Nauchnogo Tsentra Rossiiskoi Akademii Nauk. 2016; 18 (5–2): 320–327. (in Russian)]
29. Абдуллаев Р.Ю., Комиссарова О.Г., Терентьева О.Р. Особенности обмена железа при туберкулёзе. Туберкулёз и болезни лёгких. 2021; 99 (3): 58–66. doi:10.21292/2075-1230-2021-99-3-58-66. [Abdullaev R.Yu., Komissarova O.G., Terentieva O.R. Specific parameters of iron metabolism in tuberculosis. *Tuberculosis and Lung Diseases.* 2021; 99 (3): 58–66. doi:10.21292/2075-1230-2021-99-3-58-66. (in Russian)]
30. Орлов Ю.П., Говорова Н.В., Лукач В.Н., Батугаева Г.А., Клементьев А.В., Какуля Е.Н. Метаболизм железа в условиях инфекции. Обзор литературы. Вестник интенсивной терапии им. А.И. Салтанова. 2020; 1: 90–99. doi: 10.21320/1818-474X-2020-1-90-99. [Orlov Yu.P., Govorova N.V., Lukach V.N., Baitugaeva G.A., Klement'ev A.V., Kakulya E.N. Metabolizm zheleza v usloviyakh infektsii. Obzor literatury. Vestnik Intenzivnoi Terapii im. A.I. Saltanova. 2020; 1: 90–99. doi: 10.21320/1818-474X-2020-1-90-99. (in Russian)]
31. Абатуров А.Е., Крючко Т.А. Медикаментозное ограничение доступности ионов железа для патогенных бактерий (часть 1). Здоровье ребёнка. 2018; 13 (4): 416–424. doi: 10.22141/2224-0551.13.4.2018.137030. [Abaturov A.E., Kryuchko T.A. Medikamentoznoe ograniichenie dostupnosti ionov zheleza dlya patogennykh bakterii (chast' 1). Zdorov'e Rebenka. 2018; 13 (4): 416–424. doi: 10.22141/2224-0551.13.4.2018.137030. (in Russian)]
32. Тарасова Н.Е., Теплякова Е.Д. Феррокинетика и механизмы её регуляции в организме человека. Журнал фундаментальной медицины и биологии. 2012; 1: 10–16. [Tarasova N.E., Teplyakova E.D. Ferrokinetika i mekhanizmy ee regulyatsii v organizme cheloveka. Zhurnal Fundamental'noi Meditsiny i Biologii. 2012; 1: 10–16. (in Russian)]
33. Бородулина Б.Е., Яковлева Е.В., Бородулина Е.А., Комиссарова О.Г. Обмен железа при туберкулёзе и железосодержащие химиотерапевтические препараты в его лечении. Наука и инновации в медицине. 2020; 5 (3): 193–196. doi: 10.35693/2500-1388-2020-5-3-193-196. [Borodulina B.E., Yakovleva E.V., Borodulina E.A., Komissarova O.G. Iron metabolism in tuberculosis and iron-containing chemotherapeutic drugs in its treatment. *Science & Innovations in Medicine.* 2020; 5 (3): 193–196. doi: 10.35693/2500-1388-2020-5-3-193-196. (in Russian)]
34. Maryam-Sadat Mirlohi, Alireza Ekrami, Saeed Shirali, Mehdi Ghobeishavi, Fatemeh Pourmotahtari. Hematological and liver toxicity of anti-tuber-

- culosis drugs. *Electron Physician*. 2016; 8 (9): 3005–3010. doi: 10.19082/3010.
35. *Mithiyane T, Millard J, Adamson J, Balakrishna Y, Connolly C, Owen A.* N-acetyltransferase 2 genotypes among zulu-speaking south africans and isoniazid and N-acetyl-isoniazid pharmacokinetics during antituberculosis treatment. *Antimicrob Agents Chemother*. 2020; 64 (4): e02376–19. doi: 10.1128/AAC.02376-19.
36. *Pasipanodya J.G., Srivastava S., Gumbo T.* Meta-analysis of clinical studies supports the pharmacokinetic variability hypothesis for acquired drug resistance and failure of antituberculosis therapy. *Clin Infect Dis*. 2012; 55 (2): 169–77. doi: 10.1093/cid/cis353.
37. *Hemanth Kumar A.K., Ramesh K., Kannan T., Sudha V., Hemalatha Haribabu, Lavanya J. et al.* N-acetyltransferase gene polymorphisms & plasma isoniazid concentrations in patients with tuberculosis. *Indian J Med Res*. 2017; 145 (1): 118–123. doi: 10.4103/ijmr.IJMR\_2013\_15.

## Информация об авторах

*Краснова Наталья Михайловна* — к. м. н., доцент, Медицинский институт «Северо-Восточный федеральный университет им. М. К. Аммосова», Якутск, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-4811-7801. SPIN-код: 8703-8169. Scopus Author ID: 57205162915

*Ефременко Софья Геннадьевна* — Научно-практический центр «Фтизиатрия» им. Е. Н. Андреева», Якутск, Российская Федерация.

*Евдокимова Надежда Евстафьевна* — врач фтизиатр Научно-практический центр «Фтизиатрия» имени Е.Н. Андреева», Якутск, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-0187-280X. SPIN-код: 1169-5154

*Филиппова Ольга Ивановна* — Научно-практический центр «Фтизиатрия» им. Е. Н. Андреева», Якутск, Российская Федерация. ORCID: 0000-0003-4213-2901. SPIN-код: 4293-2220

*Чертовских Яна Валерьевна* — Республиканская клиническая больница № 3, Якутск, Российская Федерация. ORCID: 0000-0003-0941-8633. SPIN-код: 8485-9530

*Алексеева Елизавета Александровна* — Республиканская клиническая больница № 3, Якутск, Российская Федерация. ORCID: 0000-0001-6116-5720. SPIN-код: 8918-7035

*Татаринова Ольга Викторовна* — Республиканская клиническая больница № 3, Якутск, Российская Федерация. ORCID: 0000-0001-7717-9174. SPIN-код: 3346-0980

*Готовцева Анна Ивановна* — Научно-практический центр «Фтизиатрия» им. Е. Н. Андреева», Якутск, Российская Федерация. SPIN-код: 4490-6953

*Проккопьев Егор Спиридонович* — Научно-практический центр «Фтизиатрия» им. Е. Н. Андреева», Якутск, Российская Федерация. SPIN-код: 8046-5639

*Кравченко Александр Фёдорович* — Научно-практический центр «Фтизиатрия» им. Е. Н. Андреева», Якутск, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-9210-3407. SPIN-код: 3188-6796. Scopus Author ID: 7202732143

*Венгеровский Александр Исаакович* — Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Российская Федерация. ORCID: 0000-0001-5094-3742. SPIN-код: 8818-0543. Scopus Author ID: 6602839346

*Сычёв Дмитрий Алексеевич* — д. м. н., профессор, член-корр. РАН, ректор Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования, Москва, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-4496-3680. SPIN-код: 4525-7556. Scopus Author ID: 7801389135

## About the authors

*Natalia M. Krasnova* — Ph. D. in medicine, M. K. Ammosov North-East Federal University, Yakutsk, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-4811-7801. SPIN: 8703-8169. Scopus Author ID: 57205162915

*Sofia G. Efremenko* — phthisiologist, E. N. Andreev Phthisiology Scientific and Practical Center, Yakutsk, Russian Federation

*Nadezhda E. Evdokimova* — phthisiologist, E. N. Andreev Phthisiology Scientific and Practical Center, Yakutsk, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-0187-280X. SPIN: 1169-5154

*Olga I. Filippova* — Head of the Department for Patients with Respiratory Tuberculosis, E. N. Andreev Phthisiology Scientific and Practical Center, Yakutsk, Russian Federation. ORCID: 0000-0003-4213-2901. SPIN: 4293-2220

*Yana V. Chertovskikh* — Head of the Personalized Medicine Center, Republican Clinical Hospital No. 3, Yakutsk, Russian Federation. ORCID: 0000-0003-0941-8633. SPIN code: 8485-9530

*Elizaveta A. Alekseeva* — biologist, Republican Clinical Hospital No. 3, Yakutsk, Russian Federation. ORCID: 0000-0001-6116-5720. SPIN: 8918-7035

*Olga V. Tatarinova* — D.Sc. in medicine, Republican Clinical Hospital No. 3, Yakutsk, Russian Federation. ORCID: 0000-0001-7717-9174. SPIN: 3346-0980

*Anna I. Gotovtseva* — Ph. D. in medicine, E. N. Andreev Phthisiology Scientific and Practical Center, Yakutsk, Russian Federation. SPIN-code: 4490-6953

*Egor S. Prokopev* — Ph. D. in medicine, E. N. Andreev Phthisiology Scientific and Practical Center, Yakutsk, Russian Federation. SPIN-code: 8046-5639

*Alexander F. Kravchenko* — D. Sc. in medicine, E. N. Andreev Phthisiology Scientific and Practical Center, Yakutsk, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-9210-3407. SPIN: 3188-6796. Scopus Author ID: 7202732143

*Alexander I. Vengerovskiy* — D. Sc. in medicine, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation. ORCID: 0000-0001-5094-3742. SPIN code: 8818-0543. Scopus Author ID: 6602839346

*Dmitry A. Sychev* — D. Sc. in medicine, Professor, Corresponding Member of the RAS, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-4496-3680. SPIN code: 4525-7556. Scopus Author ID: 7801389135

# Метааналитическая оценка клинической эффективности комплексного метаболического нейропротектора у больных с хронической ишемией головного мозга

\*М. В. ЖУРАВЛЕВА<sup>1,2</sup>, Г. И. ГОРОДЕЦКАЯ<sup>1,2</sup>, Т. С. РЕЗНИКОВА<sup>2,3</sup>,  
Н. С. ВАСЮКОВА<sup>4</sup>, В. В. АРХИПОВ<sup>1</sup>, С. Ю. СЕРЕБРОВА<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» (НЦЭСМП) Минздрава России, Москва, Российская Федерация

<sup>2</sup> ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова (Сеченовский Университет)» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

<sup>3</sup> ГБУ «Научно-исследовательский институт организации здравоохранения и медицинского менеджмента Департамента здравоохранения города Москвы», Москва, Российская Федерация

<sup>4</sup> ФГБНУ «Федеральный научный центр — Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко Российской академии наук», Москва, Российская Федерация

## Meta-Analytical Evaluation of The Clinical Efficacy of A Complex Metabolic Neuroprotector In Patients With Chronic Cerebral Ischemia

\*MARINA V. ZHURAVLEVA<sup>1,2</sup>, GALINA I. GORODETSKAYA<sup>1,2</sup>, TATIANA S. REZNIKOVA<sup>2,3</sup>,  
NATALIA S. VASYUKOVA<sup>4</sup>, VLADIMIR V. ARKHIPOV<sup>1</sup>, SVETLANA YU. SEREBROVA<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup> I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

<sup>3</sup> Research Institute for Healthcare and Medical Management of Moscow Healthcare Department, Moscow, Russian Federation

<sup>4</sup> All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after K. I. Scriabin and Y. R. Kovalenko (Federal Scientific Center), Moscow, Russian Federation

### Резюме

**Цель исследования:** на основе систематического обзора данных, опубликованных клинических исследований оценить клиническую эффективность, безопасность и влияние на качество жизни комплексного метаболического нейропротектора (КМН) Цитофлавин в виде таблеток и в курсе ступенчатой фармакотерапии больных хронической ишемией головного мозга (ХИГМ) различной этиологии, с последующим метаанализом. **Материал и методы.** Осуществлялся отбор рандомизированных контролируемых исследований за последние 15 лет в которых КМН Цитофлавин применялся в лекарственной форме таблетки или ступенчатым курсом терапии у не менее чем 25 пациентов с диагнозом хроническая ишемия головного мозга продолжительностью общего курса терапии не менее 25 дней. Проведена оценка клинической эффективности КМН и анализ формализованных показателей клинической эффективности (относительный риск, отношение шансов, частота исходов, величины абсолютной и относительной пользы и др.) **Результаты и заключение.** Было проанализировано 403 публикации за 2000–2017 гг., описывающих применение КМН Цитофлавин. Для систематического обзора отобрано 16 исследований, в метаанализ включено 6 рандомизированных клинических исследований и одно нерандомизированное исследование применения КМН у пациентов с ХИГМ. Данные систематического обзора и метаанализа показали достаточную эффективность применения комплексного метаболического нейропротектора у пациентов с хронической ишемией головного мозга. Однако метаанализ выявил существенную гетерогенность между исследованиями. Препарат оказывает благотворное влияние на качество жизни пациентов, повышает вероятность наступления позитивного исхода в отношении купирования астенического и вестибулярно-атактического синдромов, применительно к жалобам на повышенную утомляемость, головную боль, головокружение, шум в голове, нарушение координации, способствует улучшению когнитивных функций, проявляет достаточно высокую переносимость и безопасность.

**Ключевые слова:** метаболический нейропротектор; инозин; никотинамид; рибофлавин; янтарная кислота; цитофлавин; хроническая ишемия головного мозга; систематический обзор

**Для цитирования:** Журавлева М.В., Городецкая Г.И., Резникова Т.С., Васюкова Н.С., Архипов В.В., Сереброва С.Ю. Метааналитическая оценка клинической эффективности комплексного метаболического нейропротектора у больных с хронической ишемией головного мозга. *Антибиотики и химиотерапия.* 2021; 66: 9–10: 39–53. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-9-10-39-53.

© Коллектив авторов, 2021

\*Адрес для корреспонденции: Петровский бульвар, 8, стр. 2, НЦЭСМП, г. Москва, Российская Федерация, 127051. E-mail: mvzhuravleva@mail.ru

© Team of Authors, 2021

\*Correspondence to: 8 bld 2 Petrovsky boulevard, Moscow, 127051 Russian Federation. E-mail: mvzhuravleva@mail.ru

## Abstract

*The aim of the study is to evaluate the clinical efficacy, safety, and impact of the complex metabolic neuroprotector on the patients' quality of life (CMN) Cytoflavin in tablets, as well as in the course of stepwise pharmacotherapy of patients with chronic cerebral ischemia (CCI) of various etiologies, followed by meta-analysis, on the basis of a systematic review of published clinical studies.*

*Material and methods.* A selection of randomized controlled trials was carried out over the past 15 years, in which CMN Cytoflavin was used in the tablet dosage form or in a stepwise course of therapy in at least 25 patients diagnosed with chronic cerebral ischemia with a total course of therapy of at least 25 days. The assessment of CMP clinical efficacy and the analysis of formalized indicators of clinical efficacy (relative risk, odds ratio, frequency of outcomes, values of absolute and relative benefits, etc.) was carried out.

*Results and conclusion.* 403 publications for 2000–2017 describing the use of CMN Cytoflavin were analyzed. 16 studies were selected for the systematic review, the meta-analysis included 6 randomized clinical trials and one non-randomized study of the use of CMN in patients with CCI. The data of the systematic review and meta-analysis showed a sufficient efficacy of complex metabolic neuroprotector use in patients with chronic cerebral ischemia. However, the meta-analysis revealed significant heterogeneity between the studies. The drug has a beneficial effect on the quality of life of patients, increases the likelihood of a positive outcome in relation to the relief of asthenic and vestibular-atactic syndromes, in relation to complaints of increased fatigue, headache, dizziness, noise in the head, impaired coordination. It improves cognitive functions, exhibits sufficiently high tolerance and safety.

*Keywords:* metabolic neuroprotector; inosine; nicotinamide; riboflavin; succinic acid; cytoflavin; chronic cerebral ischemia; systematic review

**For citation:** Zhuravleva M. V., Gorodetskaya G. I., Reznikova T. S., Vasyukova N. S., Arkhipov V. V., Serebrova S. Yu. Meta-analytical evaluation of the clinical efficacy of a complex metabolic neuroprotector in patients with chronic cerebral ischemia. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy.* 2021; 66: 9–10: 39–53. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-9-10-39-53.

## Введение

Цереброваскулярные заболевания являются важнейшей медико-социальной проблемой во всём мире. Число пациентов с явлениями дисциркуляторной энцефалопатии (ДЭ) в нашей стране неуклонно растёт, составляя не менее 700 на 100000 населения [1, 2]. Сосудистые заболевания головного мозга являются к одной из ведущих причин смертности и потери трудоспособности. Стоимость расходов на длительное лечение и социальную реабилитацию одного пациента с прогрессирующей хронической ишемией головного мозга (ХИГМ) составляет 50–60 тыс. долларов в год, что сопоставимо с расходами на реабилитацию больного с инсультом [3]. Терапевтические стратегии, позволяющие снизить энергозатраты и уменьшить выраженность постгипоксических церебральных функционально-морфологических расстройств, являются одним из наиболее разрабатываемых методов первичной и вторичной нейропротекции. Учитывая высокую социальную значимость хронических форм нарушения мозгового кровообращения, представляется крайне важным изучение данного вопроса и поиск новых метаболических препаратов, способных облегчить состояние пациентов [1].

В плане изложенных выше проблем представляет интерес комплексный метаболический нейропротектор (КМН) Цитофлавин (ООО НТФФ «ПОЛИСАН», Россия). Фармакологические эффекты препарата Цитофлавин обусловлены комплексным воздействием входящих в состав препарата компонентов (Инозин + Никотинамид + Рибофлавин + Янтарная кислота). Все ком-

поненты Цитофлавина являются естественными метаболитами организма [4, 5].

Цель работы — на основе систематического обзора данных опубликованных клинических исследований, оценить клиническую эффективность, безопасность и влияние на качество жизни КМН Цитофлавин в виде таблеток и в курсе ступенчатой фармакотерапии больных ХИГМ различной этиологии в сравнении с плацебо, базисной терапией, препаратами, применяемыми для лечения данной патологии, с последующим метаанализом.

## Материал и методы

Систематический поиск осуществлялся более чем в двух электронных библиографических базах данных, включая PubMed, MEDLINE, Library.ru, Medi.ru. Осуществлялся отбор рандомизированных контролируемых исследований за последние 15 лет в которых КМН Цитофлавин применялся в лекарственной форме таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой (таблетки) или ступенчатым курсом терапии (раствор для внутривенного применения (раствор) 10 дней с переходом на таблетки) у не менее чем 25 пациентов с диагнозом хроническая ишемия головного мозга различной этиологии (ХИГМ, ДЭ) продолжительностью общего курса терапии не менее 25 дней. При проведении исследования принято допущение о сопоставимости 25–35-дневного курса терапии КМН Цитофлавин в таблетированной форме с 35-дневным курсом ступенчатой терапии по 10 мл внутривенно с переходом на таблетированную форму курсом в 25 дней. Курс терапии мог быть продлён до 70 дней, что могло послужить одним из рисков гетерогенности полученных данных, однако было принято допущение о сопоставимости длительности курсов терапии. Группы сравнения обозначали как контрольную/сравнения, в которой пациенты получали только базисную терапию (БТ), и основную/исследуемую — в которой пациенты наряду с БТ получали КМН Цитофлавин (БТ+КМН). В качестве препаратов сравнения и

**Таблица 1. Расчёт унифицированных показателей эффективности\* [9]**  
**Table 1. Calculation of unified performance indicators \* [9]**

Показатель	Формула вычисления и единицы измерения	Примечание
ПАП	ПАП=ЧИЛ—ЧИК, (%)	
ПОП	ПОП=(ЧИЛ—ЧИК)100/ЧИК, (%)	
ОШ позитивных исходов в группах наблюдения	ОШ=(А/Б)/(В/Г) (усл. ед.)	А — число пациентов с позитивным исходом в группе БТ+Ц, Б — число пациентов с негативным исходом в этой же группе, В — число позитивных исходов в группе БТ, Г — число негативных исходов в этой же группе;
ЧБНЛ	ЧБНЛ=1*100/ПАП (усл. е д.)	

**Примечание.** \* — указанный формат представления данных соответствует формату, выбранному в аналогичном исследовании [9].

**Note.** \* — The specified data presentation format corresponds to the format chosen in a similar study [9].

базисной терапии в исследованиях использовались препараты разных фармакотерапевтических групп, что могло стать одним из рисков гетерогенности полученных данных об исходах применения медицинских технологий.

Собранные данные включались в систематический обзор и метаанализ с использованием стандартных методологических процедур. Методологическое качество отобранных исследований оценивалось в соответствии с «Методическими рекомендациями по оценке сравнительной клинической эффективности и безопасности лекарственного препарата», с применением «Вопросника для оценки риска систематических ошибок в РКИ» [6, 7]. В метаанализ включались исследования, содержащие частотные бинарные характеристики положительных и отрицательных исходов вмешательства в исследуемой группе, группах сравнения/контроля. Из исследования исключались исследования не соответствующие критериям включения [8].

Метаанализ и оформление результатов были проведены с использованием пакета статистических программ Rv3.4.3, пакет metaforv.2.0-0 (Viechtbauer W, 2017). Использовался метод ограниченной максимальной вероятности (REML), модель случайных эффектов, метод пошагового дискриминантного анализа.

Для оценки сравнительной эффективности КМН были рассчитаны относительный риск (RR, OR) и отношение шансов (OR, ОШ) в исходных и логарифмически преобразованных единицах, а также 95% доверительные интервалы для RR и OR. Формализованная совокупность показателей для поэтапного метаанализа была создана в общепринятом формате в виде частот исходов (ЧИЛ) в группе базисной терапии и Цитофлавина и частот исходов в группе сравнения и/или контроля (ЧИК) только базисной терапии. Из этих показателей рассчитывали унифицированные показатели эффективности (табл. 1) — величины абсолютной (ПАП) и относительной (ПОП) пользы от дополнительного введения КМН и по сравнению с базисной терапией (БТ) или препаратом сравнения, ОШ позитивного исхода и число больных, которым необходимо дополнительное лечение (ЧБНЛ), чтобы достичь благоприятного исхода или предотвратить неблагоприятный исход у больного [9]. Использование данных показателей является одним из возможных подходов к представлению данных в рамках метааналитических исследований [10].

Гетерогенность данных оценивалась на основании значения  $I^2$ , рассчитываемого по формуле  $I^2 = 100\% \times (Q - d_f)/Q$ , где Q — критерий Кохрена (W. G. Cochran), а  $d_f$  — число степеней свободы [8].

В анализируемых исследованиях есть вероятность риска публикационного смещения — систематической ошибки метаанализа, связанной с тенденцией к публикации только положительных результатов и/или статистически значимых результатов, в то время как статистически незначимые результаты, неоднозначные данные или результаты исследо-

ваний, противоречащие ожидаемым, не всегда публикуются или подаются исследователями для публикации [11]. Для исключения потенциального риска смещения, вся анализируемая информация приводилась посредством по возможности дословного цитирования оригинальных статей.

## Результаты и обсуждение

Было проанализировано 403 публикации за 2000–2017 гг. по оценке клинической эффективности КМН Цитофлавин у пациентов с диагнозом ХИГМ. Анализ проводился поэтапно. После скрининга было выявлено 42 источника (на 15.09.2018), объединённых в результате анализа дублирования данных и исключения неопубликованных отчётов и данных клинических исследований в 16 исследованиях, включающих 2539 пациентов в возрасте от 18 до 80 лет. Основную группу, получавшую КМН Цитофлавин таблетки и ступенчатым курсом, составил 1491 пациент, группу сравнения — 1048 пациентов. В систематический обзор включено 15 рандомизированных клинических исследований (РКИ) и одно нерандомизированное исследование. Из них 7 исследований терапии КМН Цитофлавин таблетки (1119 пациентов) и 9 исследований применения КМН Цитофлавин ступенчатым курсом (1420 пациентов). Перечень включенных в систематический обзор исследований представлен в табл. 2.

В исследованиях использованы стандартные диагностические тесты, используемые при диагностике ХИГМ, которые в дальнейшем подвергались анализу. Статистическая обработка и включение в метаанализ проводилось только для исследований, содержащих частотные (бинарные) характеристики положительных и отрицательных исходов вмешательства в исследуемой группе, группах сравнения/контроля [10]. Обоснованием для выполнения метаанализа являлось обнаружение по итогам выполненного систематического поиска как минимум одного релевантного РКИ, не включённого в опубликованные метаанализы, а также отсутствие опубликованных метаанализов при условии, что отобрано более одного релевантного РКИ [11].

**Таблица 2.** Общая характеристика включенных в систематический обзор исследований  
**Table 2.** General characteristics of the studies included in the systematic review

Ссылка на Авторы, год публикации	Название верифицированной нозологии	Препарат (курс применения препарата, сутки = продолжительность исследования, сутки)	Число пациентов n (ОГ+КГ)
[1]* Шуккин И. А., 2014	ХИГМ на фоне астенического синдрома.	КМН Цитофлавин таблетки (25+25+7перерыв=57)	75
[3, 12–22]* Федин А. И., 2006; Федин А. И., 2009; Федин А. И., 2009; Суслина, 2005; Скоромец А. А., 2006; Суслина З. А., 2007; Суслина, 2007; Суслина З. А., 2010; Суслина З. А., 2011; Суслина З. А., 2012; Сирина Е. В., 2013	Хроническая ишемия головного мозга и конституциональная венозная недостаточность	КМН Цитофлавин таблетки (25=55–60) Плацебо+БГ (25=55–60)	600 (320+280)
[23, 24]* Белова Л. А., 2012; Белова Л. А., 2013	Хроническая ишемия головного мозга и конституциональная венозная недостаточность	КМН Цитофлавин таблетки + БГ (25=25) Ацетилсалициловая кислота (25=25)	60 (30+30)
[25–27]* Колотик-Каменова, Белова, 2013; Белова, 2014; Белова, 2014	Гипертоническая энцефалопатия с конституциональной венозной недостаточностью	КМН Цитофлавин таблетки (25=25) БГ (25=25)	140 (74+66)
[28–31] Белова, 2016; Белова, 2017;	ХИГМ на фоне гипертонической болезни	КМН Цитофлавин раствор + таблетки + БГ (10+60=70) Базисная антигипертензивная терапия (70)	140 (74+66)
[31] Маджидова Е. Н., 2012	Дисциркуляторная энцефалопатия I и II стадии	КМН Цитофлавин раствор + таблетки (10+25=35)	60 (30+30)
[32] Маджидова Е. Н., 2011	ХИМ (Дисциркуляторная энцефалопатия) I и II стадии	Пирацетам раствор + таблетки (10+25=35) КМН Цитофлавин раствор + таблетки (10+25=35) Пирацетам раствор + таблетки (10+25=35)	40 (24+16)
[33] Маджидова Е. Н., 2013	Дисциркуляторная энцефалопатия I–III	КМН Цитофлавин таблетки + БГ (60=60)	44 (34+10)
[34] Гацких И. В., Петрова М. М., 2016	Сахарный диабет 2 типа.	КМН Цитофлавин раствор + таблетки + Базисная сахароснижающая терапия (10+25=35) Тиоктовая кислота (40)	61 (32+29)
[35] Гацких И. В., 2015	Сахарный диабет 2 типа.	КМН Цитофлавин раствор + таблетки + БГ (10+25=35) Метформин (35)	60 (30+30)
[36] Гацких И. В., Веселова О. Ф., 2015	Сахарный диабет 2 типа.	КМН Цитофлавин раствор + таблетки + БГ (10+25=35) Метформин (35)	60 (30+30)
[37]* Еркебаева С. К., 2012	Дисциркуляторная энцефалопатия с депрессивным синдромом	Цитофлавин раствор + таблетки + БГ (10+25=35) Плацебо + БГ (35)	59 (29+30)
[38] Еркебаева С. К., 2013	ХИГМ с транзиторными ишемическими атаками	КМН Цитофлавин раствор + таблетки (10+25=35) Базисная терапия (35)	230 (120+110)
[39] Пудкова А. Н., Полуннина А. Г., 2013	Депрессивное расстройство органической природы (F06.36) лёгкой и средней тяжести	КМН Цитофлавин таблетки + БГ (21–28=28)	100 (48+52)
[40] Полуннина А. Г., 2014	Органическое эмоционально-лабильное (астеническое) расстройство (F06.6 по МКБ-10)	Стандартная терапия антидепрессантами (21–28=28) КМН Цитофлавин таблетки + БГ (21–28=28) Базисная терапия (21–28=28)	100 (50+50)
[41]* Ивлева И. Ю., 2017	Хроническая ишемия головного мозга	КМН Цитофлавин раствор + таблетки + БГ (10+25=35) Базисная терапия (35)	710 (490+220)

**Примечание.** \* — Выделены исследования, включенные в метаанализ.

**Note.** \* — Highlighted studies were included in the meta-analysis.

**Таблица 3.** Оценка влияния терапии с применением КМН на уменьшение интенсивности жалоб пациентов методом пошагового дискриминантного анализа [26]**Table 3.** Evaluation of the effect of CMN therapy on reducing the intensity of patient complaints by the method of stepwise discriminant analysis [26]

Показатель	Wilks Lambda*	Partial Lambda**	$p^{***}$
Интенсивность цефалгического синдрома по ВАШ	0,12	0,91	0,001
Объективная вегетативная шкала	0,12	0,92	0,008
Шкала качества сна	0,12	0,94	0,008
Субъективная вегетативная шкала	0,12	0,95	0,03
Головокружение	0,12	0,92	0,002
Головная боль	0,12	0,94	0,01
Шкала астении	0,12	0,95	0,02
Симптом «песка в глазах»	0,12	0,95	0,01
Психический компонент здоровья	0,11	0,96	0,05
Отёчность лица в утренние часы	0,11	0,96	0,05

**Примечание.** \* — Лямбда Уилкса — отношение меры внутригрупповой изменчивости к мере общей изменчивости, критерий, показывающий, значимо ли различаются между собой средние значения дискриминантной функции в исследуемых группах; \*\* — частная лямбда — характеризует единичный вклад переменной в разделение группы; \*\*\* — уровень значимости, характеризующей вероятность того, что различия между группами являются случайными.

**Note.** \* — Wilks' lambda — the ratio of intragroup variability to total variability, a criterion showing whether the mean values of the discriminant function in the studied groups differ significantly; \*\* — partial lambda — characterizes the single contribution of the variable to the division of the group; \*\*\* — the level of significance characterizing the likelihood that the differences between the groups are random.

Метаанализ выполнялся с использованием информации о числе пациентов с альтернативными значениями оцениваемого исхода в каждой из групп сравнения ( $n_1$ ,  $n_2$  и т. д.) и общем числе пациентов в каждой группе сравнения ( $N_1$  и  $N_2$ , и т. д.). В качестве обобщённой меры исхода использовались ОР или ОШ — в зависимости от оцениваемого исхода.

Учитывая вышесказанное, метаанализ проводился по результатам 6 рандомизированных клинических исследований (РКИ) и одного нерандомизированного исследования эффектов применения Цитофлавина (таблетки и ступенчатый курс) в составе комплексной химиотерапии ХИГМ различной этиологии. Всего в метаанализ включено 1874 пациента. Исследования ранее не были включены в опубликованные метаанализы по применению КМН Цитофлавин в лекарственной форме таблетки и ступенчатым курсом при ХИГМ (см. табл. 2).

Анализ отобранных для систематического обзора исследований выявил эффективность КМН Цитофлавин таблетки и ступенчатым курсом по сравнению с базисной терапией у пациентов с ХИГМ. Положительная динамика неврологического статуса чаще всего касалась цефалгического, астенического, вестибуло-мозжечкового и кохлео-вестибулярного синдромов, а также расстройств в эмоционально-волевой сфере, результаты нейropsихологического тестирования зафиксировали положительное влияние Цитофлавина на когнитивно-мнестические функции больных с ХИГМ [12–27, 38, 41].

На эффективность терапии Цитофлавином указали пациенты в 83,5% наблюдений и в 86,9%

наблюдений — исследователи. Субъективно пациенты оценивали эффект применения КМН Цитофлавин как отличный в 29,4%, как хороший — 54,1%, отсутствие эффекта наблюдалось у 3,5% и отрицательный — у 0,9%, в группе сравнения отличный и хороший эффект наблюдался у 8,1 и 22,2%, отсутствие и отрицательный эффект — у 13,6 и 2,6% пациентов, соответственно. Врачи оценили эффект КМН как значимый и умеренный у 68 и 18,0% пациентов, тогда как в группе сравнения эффект — у 9,1 и 23,8%, соответственно. Все результаты статистически достоверны ( $p < 0,05$ ) [12–14, 22].

Субъективно оценивая действие препарата, пациенты указывали на уменьшение выраженности и частоты головных болей, головокружений, ощущения тяжести в голове, снижение утомляемости, эмоциональной лабильности, жалоб на снижение работоспособности. Несколько меньше препарат влиял на нарушение слуха, речи, неустойчивость при ходьбе, потерю сознания [12–14].

Для оценки эффективности применения Цитофлавина в отношении жалоб больных ГЭ проведён пошаговый дискриминантный анализ (табл. 3).

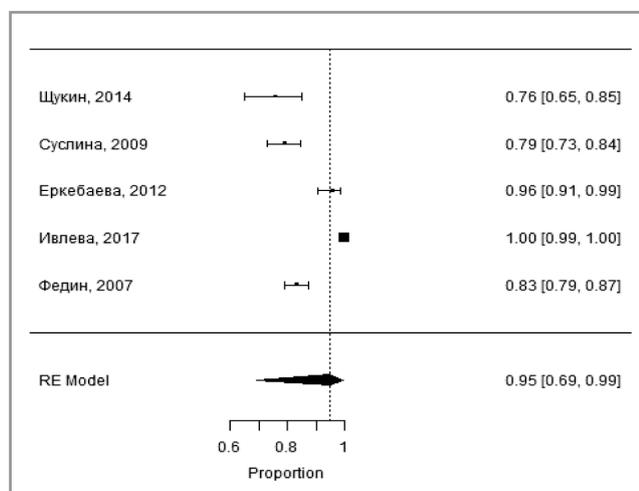
Анализ выявил эффективность препарата в отношении частоты развития головной боли и её интенсивности, головокружения, вегетативных и астенических расстройств, качества сна и качества жизни, клинических проявлений венозной дисциркуляции. Таким образом показано наиболее значительное влияние препарата на выраженность цефалгического синдрома, вегетативных расстройств и нарушений качества сна [26]. Наиболее заметный лечебный эффект Цитофлавина по сравнению с плацебо наблю-

**Таблица 4. Клиническая эффективность КМН при ХИГМ**  
**Table 4. Clinical efficacy of CMN in CCI**

Клиническая эффективность Цитофлавина	%	Абс. число n/N
Шукин И. А., 2014 [1], таблетки	76	57/75
Суслина З. А. Румянцева С. А. 2010 [10], таблетки	79	158/200
Еркебаева С. К., 2012 [37], ступенчатая терапия	96	115/120
Ивлева И. Ю., 2017 [41], ступенчатая терапия	100	490/490
Федин А. И., 2007 [12], таблетки	83,5	267/320

**Примечание.** \* — n/N — количество пациентов, у которых отмечался изучаемый исход/общее количество пациентов, у которых оценивался изучаемый исход.

**Note.** \* — n/N — the number of patients whose studied therapy outcome was noted/the total number of patients whose studied therapy outcome was assessed.



**Рис. 1. Частота достижения ответа на терапию КМН при ХИГМ (объединённый эффект).**

**Fig. 1. The frequency of achieving a response to CMN therapy in CCI (combined effect).**

дался в отношении таких проявлений цереброваскулярной недостаточности, как концентрация внимания, качество кратковременной и долговременной памяти. Также отмечено, что если до начала лечения улучшение состояния за последние 12 мес. отмечали только 1% пациентов, то после применения двух 25-дневных курсов терапии КМН Цитофлавин таблетки, улучшение состояния отмечали 76% [1].

Субъективный клинический эффект терапии у большинства пациентов начал проявляться к 10–14 дню лечения и стабилизировался, в среднем, к 18–21 суткам [3, 12–14]. Достигнутый положительный эффект сохранялся в течение 30 сут наблюдения после окончания терапии [3, 12–14].

По данным пяти независимых исследований был проведён метаанализ с целью оценки субъективной клинической эффективности Цитофлавина. При проведении метаанализа использовался модуль `rma.glm` (метаанализ с помощью обобщённых линейных (смешанных эффектов) моделей). Объединённый эффект составил 95% [69%; 99%] [10]. Клиническая эффективность (частота достижения ответа на терапию) Цитоф-

лавина в среднем составила 96% (95% доверительный интервал для среднего составил 67–100%) (табл. 4, рис. 1).

Таким образом, можно говорить о высокой клинической эффективности препарата Цитофлавин при лечении ХИГМ, при этом метаанализ выявил существенную неоднородность между исследованиями, наблюдается существенная гетерогенность ( $I^2=98,71\%$ ,  $p=0,0030$ ) и достаточно широкий разброс значений по величине клинической эффективности, что характерно для объединения небольшого количества данных и для метаанализа, выполненного на малом количестве исследований [8–10].

Анализ показателей опросника качества жизни SF-36 показал статистически значимое повышение всех показателей по субшкалам качества жизни (КЖ) как в основной группе, так и в группах сравнения. При этом рост показателей КЖ в группе больных, получавших Цитофлавин таблетки, был более выраженным и составил в среднем 10–40 баллов, а в группе сравнения — только 6–19 баллов. Почти по всем базовым значениям субсфер опросника SF-36 у пациентов обеих групп был превышен 60-балльный барьер, что свидетельствовало о достижении пациентами уровня удовлетворительного качества жизни. Наибольший прирост в основной группе отмечен по показателям SF — социальной активности (34 балла), VT — жизнеспособность (33 балла), RE-роль эмоциональных проблем в ограничении жизнедеятельности (31 балл). Пациенты, принимавшие Цитофлавин таблетки, выполняя обычные повседневные обязанности, отмечали повышение физической активности, что обеспечивало рост оценок по шкалам GH — общее восприятие здоровья и VT — жизнеспособность. Улучшение общего физического состояния положительно влияло на МН — психическое здоровье (29,4 балла), обеспечив повышение в 1,5 раза уровня социальной активности (SF). Пациенты отмечали, что стали более энергичными, легче выполняли свои повседневные обязанности, физическая боль меньше влияла на поведение и активность. Улучшился и психический компонент здоровья: пациенты в меньшей степени фиксировались на плохом са-

**Таблица 5.** Влияние КМН на частоты позитивных эффектов при ХИГМ и увеличение ОШ позитивных исходов под влиянием лечения**Table 5.** Influence of CMN on the frequency of positive effects in CCI and the increase in OR of positive outcomes under the influence of treatment

Исследование	Критерий (бинарный исход)	ЧИЛ	ЧИК	ПАП	ПОП	ЧБНЛ	ОШ (95% ДИ) <i>p</i>
<b>Выраженность астенического синдрома</b>							
[41]	<b>Отсутствие жалоб на головную боль</b>	90,11	17,01	73,11	4,30	1,37	44,48
[37]		96,67	62,07	34,60	0,56	2,89	17,72
[23, 24]		71,43	7,14	64,29	9,00	1,56	32,50
[26]		54,41	11,11	43,30	3,90	2,31	9,55
По всем исследованиям (точечная оценка, 95% ДИ)		84,38	19,48	64,90	3,33	1,54	23,35 [9,65; 56,54] <i>p</i> <0,0001
[37]	<b>Снижение работоспособности</b>	96,67	76,67	20,00	0,26	5,00	
[41]	<b>Отсутствие жалоб на повышенную утомляемость и общую слабость</b>	79,92	16,42	63,50	3,87	1,57	20,26
[37]		96,67	78,57	18,10	0,23	5,53	7,91
[23, 24]		87,50	0,00	87,50	—	1,14	75,00
[26]		41,67	3,23	38,44	11,92	2,60	21,43
По всем исследованиям (точечная оценка, 95% ДИ)		73,64	19,91	53,73	2,70	1,86	19,98 [12,11; 32,97] <i>p</i> <0,0001
[41]	<b>Отсутствие жалоб на нарушение сна</b>	81,76	15,11	66,65	4,41	1,50	25,18
[24]		100,00	50,00	50,00	1,00	2,00	7,00
[26]		20,34	16,36	3,98	0,24	25,16	1,30
По всем исследованиям (точечная оценка, 95% ДИ)		64,76	16,16	48,60	3,01	2,06	6,11 [0,78; 48,42] <i>p</i> =0,0643
<b>Вертебро-базиллярный синдром</b>							
[41]	<b>Отсутствие жалоб на головокружение</b>	81,10	7,97	73,13	9,17	1,37	49,55
[37]		96,67	55,17	41,49	0,75	2,41	23,56
[24]		65,00	25,00	40,00	1,60	2,50	5,57
[26]		74,07	4,00	70,07	17,52	1,43	68,57
По всем исследованиям (точечная оценка, 95% ДИ)		80,45	14,35	66,10	4,61	1,51	24,53 [8,58; 85,63]
[41]	<b>Отсутствие жалоб на шум в ушах, голове</b>	72,80	19,26	53,54	2,78	1,87	11,22
[37]		96,67	57,14	39,52	0,69	2,53	21,75
По всем исследованиям (точечная оценка, 95% ДИ)		75,36	25,77	49,59	1,92	2,02	11,59 [7,10; 19,11] <i>p</i> <0,0001
[41]	<b>Отсутствие жалоб на нарушение координации и неустойчивость при ходьбе</b>	74,59	10,61	63,98	6,03	1,56	24,74
[24]		77,78	11,76	66,01	5,61	1,51	26,25
По всем исследованиям (точечная оценка, 95% ДИ)		74,81	10,74	64,07	5,97	1,56	24,78 [13,74; 45,15] <i>p</i> <0,0001
<b>Нейропсихологический статус и синдром когнитивных нарушений</b>							
[41]	<b>Отсутствие жалоб на снижение памяти</b>	69,23	8,51	60,72	7,13	1,65	24,19
[37]		71,43	37,50	33,93	0,90	2,95	4,17
По всем исследованиям (точечная оценка, 95% ДИ)		62,98	10,00	52,98	5,30	1,89	9,39 [2,14; 41,26] <i>p</i> =0,003
[41]	<b>Отсутствие жалоб на снижение внимания</b>	71,30	8,47	62,82	7,41	1,59	26,83
[37]		96,67	81,48	15,19	0,19	6,59	6,59
По всем исследованиям (точечная оценка, 95% ДИ)		53,77	17,77	36,00	2,03	2,78	4,26 [0,30; 60,94] <i>p</i> =0,2865
<b>Влияние на проявление синдром венозной церебральной недостаточности</b>							
[24]	<b>Отсутствие пастозности лица, век в утренние часы</b>	40,00	13,33	26,67	2,00	3,75	
[26]		57,63	13,21	44,42	3,36	2,25	
		52,38	13,25	39,13	2,95	2,56	
[24]	<b>Купирование синдрома тугого воротничка</b>	100,00	57,14	42,86	0,75	2,33	
[26]		54,55	13,33	41,21	3,09	2,43	
		61,54	27,27	34,27	1,26	2,92	
[24]	<b>Отсутствие жалоб на ощущение песка в глазах</b>	95,24	16,67	78,57	4,71	1,27	
[26]		67,65	3,57	64,08	17,94	1,56	
		78,18	8,70	69,49	7,99	1,44	
[24]	<b>Купирование синдрома высокой подушки</b>	100,00	33,33	66,67	2,00	1,50	
[26]		79,69	5,08	74,60	14,67	1,34	
		80,88	7,69	73,19	9,51	1,37	68
<b>Влияние на эмоционально-аффективные расстройства, тяжесть депрессивных проявлений, снижение уровня тревоги</b>							
[41]	<b>Отсутствие жалоб на эмоциональную лабильность</b>	65,79	10,79	55,00	5,10	1,82	
[26]	<b>Отсутствие жалоб на раздражительность</b>	43,48	18,03	25,45	1,41	3,93	
[26]	<b>Отсутствие жалоб на слезливость</b>	81,82	23,53	58,29	2,48	1,72	
[41]	<b>Отсутствие жалоб на снижение настроения</b>	71,52	13,39	58,14	4,34	1,72	

Продолжение табл. 5  
Table 5. Table 5 continued

Показатели эффективности применения препарата цитофлавин при ХИГМ*					
	ЧИЛ	ЧИК	ПАП	ПОП	ЧБНЛ
M	71,76	23,89	47,87	4,46	2,89
SD	25,23	23,37	22,52	4,77	7,22
Me	74,33	14,25	51,77	3,23	1,84
Min	1,64	0,00	-4,13	-0,72	-24,21
Max	100,00	81,48	87,50	17,94	28,00

**Примечание.** ОШ — отношение шансов; ДИ — доверительный интервал;  $p$  — показатель статистической значимости; M — средняя арифметическая значений показателя; SD — стандартное отклонение, Min–Max — минимальное и максимальное значение показателя в выборке; Me — медиана.

**Note.** OR — odds ratio; CI — confidence interval;  $p$  — indicator of statistical significance; M — arithmetic mean of the indicator values; SD — standard deviation, Min–Max — minimum and maximum value of the indicator in the sample; Me — median.

мочувствии, больше контактировали с окружающими, принимали активное участие в текущих событиях [20–24].

У пациентов с гипертонической болезнью (ГБ), получивших Цитофлавин по ступенчатой схеме, улучшились показатели КЖ по показателям эмоционального состояния (RE), психического здоровья (MH), психического (MCS) и физического (PCS) благополучия, что показывает эффективность применения препарата Цитофлавин при ХИГМ ассоциированной с ГБ [28].

При оценке КЖ по европейскому опроснику качества жизни EQ5D на момент включения в исследование 42,7% пациентов испытывали проблемы с мобильностью, 16,7% — имели сложности с самообслуживанием, 52,0% — не могли в полной мере справляться с повседневной деятельностью, у 57,3% отмечался болевой синдром или дискомфорт, 58,7% жаловались на тревогу или депрессию, 98,7% не почувствовали улучшения своего состояния за последние 12 мес. Терапия Цитофлавином таблетки оказывала благоприятное влияние на качество жизни пациентов. К концу исследования 84% пациентов не испытывали проблемы с мобильностью, 99% не имели сложности с самообслуживанием, 94% могли в полной мере справляться с повседневной деятельностью, у 82% не отмечался болевой синдром или дискомфорт, 76% не предъявляли жалоб на тревогу или депрессию, только 1% не почувствовали улучшения своего состояния [1].

Ввиду существенной гетерогенности формата представления данных, опубликованных по результатам различных исследований эффективности КМН Цитофлавина, метаанализ и объединённая оценка параметров опросников качества жизни не представлялась возможной.

Серьёзных нежелательных реакций при применении КМН Цитофлавин не наблюдалось. Отмечены следующие побочные эффекты: боль в эпигастрии; кожные аллергические реакции в виде кратковременного покраснения, высыпания, зуда; подъём артериального давления у пациентов,

получавших ингибиторы АПФ, головные боли. Также отмечена возможность нарушения сна при позднем вечернем приёме препарата (позже 20–22 ч), ощущение умеренной сухости во рту, умеренные седативные эффекты. Данные особенности препарата следует учитывать при применении, ограничивая приём препарата в вечернее время. Таблетки Цитофлавин не влияли на клинические и биохимические показатели крови.

Терапия Цитофлавином, применяемом по ступенчатой схеме, хорошо переносилась больными, и побочных эффектов не наблюдалось [37].

В большинстве случаев нежелательные реакции не требовали отмены препарата. КМН Цитофлавин таблетки и ступенчатым курсом показал хорошую переносимость и безопасность при применении у больных ХИГМ.

В метаанализ клинической эффективности КМН Цитофлавин при ХИГМ были включены частотные бинарные характеристики положительных и отрицательных суррогатных (биологических) исходов вмешательства в исследуемой группе, группах сравнения/контроля по показателям выраженности астенического, вертебро-базиллярного синдромов, нейропсихологического статуса и синдрома когнитивных нарушений, эмоционально-аффективных расстройств, тяжести депрессивных проявлений, уровня тревожности, синдрома венозной церебральной недостаточности. Анализировались абсолютные числа пациентов с признаком заболевания в исследуемой и контрольной группе на начало и завершение исследования и унифицированные объединённые показатели ЧИЛ, ЧИК, ПАП, ПОП, ЧБНЛ, ОР и ОШ позитивных исходов при применении Цитофлавина.

Ввиду гетерогенности анализируемых показателей в метааналитическом исследовании в табл. 5 приведены анализируемые данные по эффективности и безопасности лекарственного препарата Цитофлавин таблетки и по ступенчатой схеме у пациентов с ХИГМ в отношении критериев с выявленными бинарными исходами [10].

**Таблица 6. Анализ ОР и ОШ позитивного исхода по показателю «жалобы на повышенную утомляемость»**  
**Table 6. Analysis of OR and RR of a positive outcome in terms of «complaints of increased fatigue»**

Номер исследования, ссылка	Жалоба	OR	lnOR	RR	LnRR
1. Ивлева И. Ю., 2017 [41], ступенчатая терапия	Повышенная утомляемость	20,26	3,01	4,87	1,58
2. Еркебаева С. К., 2012 [37], ступенчатая терапия		7,91	2,07	1,23	0,21
3. Белова, 2013 [24], таблетки		75,00	4,32	13,33	2,59
4. Белова Л. А., 2012 [23] таблетки		21,43	3,06	12,92	2,56
По всем исследованиям (точечная оценка, 95% ДИ)		19,98 [12,11; 32,97]	2,99 [2,49; 3,50]	4,34 [1,35; 13,94]	1,47 [0,30; 2,63]

Метаанализ влияния Цитофлавина на выраженность астенического синдрома, проведённый по данным четырёх исследований, показал эффективность КМН в отношении снижения жалоб пациентов на повышенную утомляемость. Использовался метод ограниченной максимальной вероятности (REML), модель случайных эффектов. ОР составил 4,34 [1,35÷13,94] (точечная оценка, 95% ДИ), различия между исследуемой группой и группой сравнения (ГС) статистически значимые ( $p=0,0135$ ). Нижняя граница 95% доверительного интервала для логарифма ОР превышает единицу. Между исследованиями наблюдается существенная гетерогенность ( $I^2=93,96\%$ ,  $p<0,0001$ ) (табл. 6).

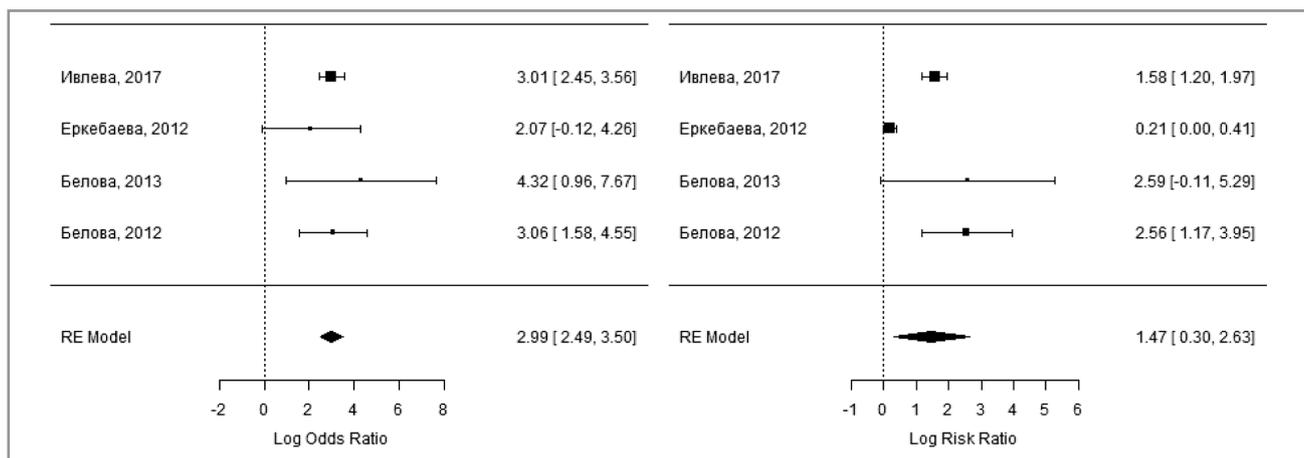
ОШ составило 19,98 [12,11÷32,97], различия между исследуемой группой и группой сравнения статистически значимые ( $p<0,0001$ ). Логарифм ОШ, а также 95% доверительный интервал для данного показателя превышает единицу, что свидетельствует о статистической значимости интегральной оценки эффективности Цитофлавина. Исследования достаточно однородны по данному параметру ( $p=0,730$ ) [8–10] (рис. 2).

Значение ОР более чем в 4 раза выше единицы, что свидетельствует о выраженном преимуществе терапии с использованием Цитофлавина в отношении устранения такого аспекта

астенического синдрома, как повышенная утомляемость.

По данным трёх различных исследований [23, 24, 41], был проведён метаанализ с целью оценки значимости влияния терапии с использованием Цитофлавина на снижение выраженности симптома «нарушение сна». Использовался метод ограниченной максимальной вероятности (REML), модель случайных эффектов. ОР составил 2,44 [0,95÷6,17] (точечная оценка, 95% ДИ), различия между исследуемой группой и группой сравнения статистически незначимые ( $p=0,0643$ ). Между исследованиями наблюдается существенная гетерогенность ( $I^2=81,65\%$ ,  $p=0,0013$ ). ОШ составило 6,11 [0,78÷48,42], различия между исследуемой группой и ГС статистически незначимые ( $p=0,0850$ ). Между исследованиями наблюдается существенная гетерогенность ( $I^2=89,24\%$ ,  $p<0,0001$ ). Нижняя граница 95% доверительного интервала для логарифма ОР не превышает единицу, что не позволяет сделать вывод о преимуществе терапии Цитофлавином в отношении устранения симптома «нарушение сна», что может быть обусловлено недостаточностью объёма выборки.

По данным четырёх различных исследований был проведён метаанализ с целью оценки значимости влияния терапии с использованием Цитофлавина на купирование цефалгического син-



**Рис. 2. Анализ ОР и ОШ исхода по показателю «жалобы на повышенную утомляемость» при применении КМН при ХИГМ**

**Fig. 2. Analysis of the OR and RR of the outcome according to the indicator of «complaints of increased fatigue» in the use of CMP in CCI**

**Таблица 7. Анализ ОР и ОШ исхода «жалобы на головную боль»**  
**Table 7. Analysis of RR and OR of the outcome of «complaints of headache»**

Номер исследования, ссылка	Жалоба	OR	lnOR	RR	LnRR
1. Ивлева И. Ю., 2017 [41], ступенчатая терапия	Головная боль	44,48	3,79	5,30	1,67
2. Еркебаева С. К., 2012 [37], ступенчатая терапия		17,72	2,87	1,56	0,44
3. Белова Л. А., 2013 [24], таблетки		32,50	3,48	10,00	2,30
4. Белова Л. А., 2012 [23], таблетки		9,55	2,26	4,90	1,59
По всем исследованиям (точечная оценка, 95% ДИ)		23,35	3,15	3,97	1,38
		[9,65÷56,54]	[2,27÷4,03]	[1,85÷3,97]	[0,62÷2,13]

**Таблица 8. Анализ ОР и ОШ исхода «жалобы на головокружение»**  
**Table 8. Analysis of RR and OR of the outcome of «complaints of dizziness»**

Номер исследования, ссылка	Жалоба	OR	lnOR	RR	LnRR
1. Ивлева И. Ю., 2017 [41], ступенчатая терапия	Головокружение	49,55	3,90	10,17	2,32
2. Еркебаева С. К., 2012 [37], ступенчатая терапия		23,56	3,16	1,75	0,56
3. Белова Л. А., 2013 [24], таблетки		5,57	1,72	2,60	0,96
4. Белова Л. А., 2012 [23], таблетки		68,57	4,23	18,52	2,92
По всем исследованиям (точечная оценка, 95% ДИ)		24,53	3,20	4,95	1,60
		[8,58÷85,63]	[2,15÷4,45]	[1,72÷14,30]	[0,54÷2,66]

дрома. Использовался метод ограниченной максимальной вероятности (REML), модель случайных эффектов. ОР составил 3,97 [1,85÷3,97] (точечная оценка, 95% ДИ), различия между исследуемой группой и ГС статистически значимые ( $p=0,0004$ ). Между исследованиями наблюдается гетерогенность ( $I^2=59,50\%$ ,  $p=0,04$ ) (табл. 7).

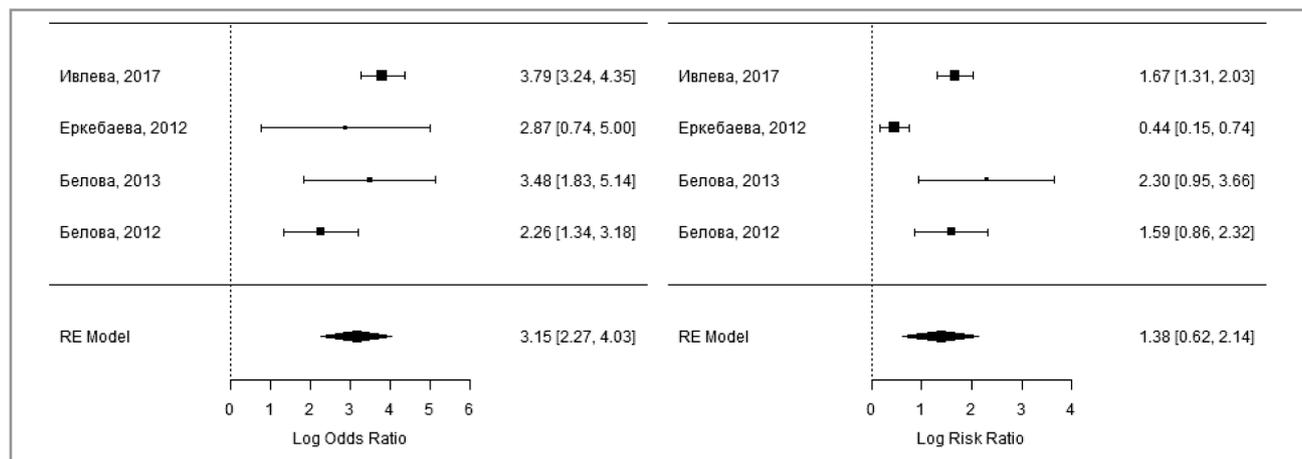
ОШ составило 23,35 [9,65÷56,54], различия между исследуемой группой и группой сравнения статистически значимые ( $p<0,0001$ ). Точечные оценки и 95% доверительные интервалы для ОШ в каждом из исследований превышают единицу, за исключением нижней границы доверительного интервала в исследовании С. К. Еркебаевой 2012 г. (связано с низким объёмом выборки в данном исследовании). Между исследованиями наблюдается существенная гетерогенность ( $I^2=88,58\%$ ,  $p<0,0001$ ) (рис. 3).

Значение ОР почти в 4 раза выше единицы, что свидетельствует о выраженном преимуществе терапии с использованием Цитофлавина в отношении устранения цефалгического синдрома. Логарифм ОШ, а также 95% доверитель-

ный интервал для данного показателя превышает единицу, что также свидетельствует о статистической значимости интегральной оценки эффективности Цитофлавина в отношении цефалгического синдрома.

Влияние препарата Цитофлавин на выраженность вестибулярно-атактического (дискоординаторного) синдрома оценивалось по данным четырёх различных исследований. Был проведен метаанализ с целью оценки значимости влияния терапии с использованием Цитофлавина на редукцию симптома «головокружение». Использовался метод ограниченной максимальной вероятности (REML), модель случайных эффектов. ОР составил 4,95 [1,72÷14,30] (точечная оценка, 95% ДИ), различия между исследуемой группой и группой сравнения статистически значимые ( $p=0,0031$ ). Между исследованиями наблюдается гетерогенность ( $I^2=90,53\%$ ,  $p<0,0001$ ) (табл. 8).

ОШ составило 24,53 [8,58÷85,63], различия между исследуемой группой и группой сравнения статистически значимые ( $p<0,0001$ ). Между ис-



**Рис. 3. Анализ ОР и ОШ исхода «жалобы на головную боль».**  
**Fig. 3. Analysis of the RR and OR of the outcome of «complaints of headache».**

**Таблица 9. Анализ ОР и ОШ исхода «жалобы на шум и тяжесть в голове»****Table 9. Analysis of RR and OR of the outcome of «complaints of noise and heaviness in the head»**

Номер исследования, ссылка	Жалоба	OR	lnOR	RR	LnRR
1. Ивлева И. Ю., 2017 [41], ступенчатая терапия	Шум и тяжесть в голове	11,22	2,42	3,78	1,33
2. Еркебаева С. К., 2012 [37], ступенчатая терапия		21,75	3,08	1,70	0,53
По всем исследованиям (точечная оценка, 95% ДИ)		11,59	2,45	2,51	0,92
		[7,10÷19,11]	[1,96÷2,95]	[1,15÷5,53]	[0,14÷1,71]

**Таблица 10. Анализ ОР и ОШ исхода «жалобы на нарушение координации»****Table 10. Analysis of RR and OR of the outcome of «complaints of impaired coordination»**

Номер исследования, ссылка	Жалоба	OR	lnOR	RR	LnRR
1. Ивлева И. Ю., 2017 [41], ступенчатая терапия	Нарушение координации	24,74	3,21	7,03	1,95
3. Белова Л. А., 2013 [24], таблетки		26,25	3,27	6,61	1,89
По всем исследованиям (точечная оценка, 95% ДИ)		24,78	3,21	6,96	1,94
		[13,74÷45,15]	[2,62÷3,81]	[4,35÷11,13]	[1,47÷2,41]

следованиями наблюдается гетерогенность ( $I^2=66,29\%$ ,  $p=0,0324$ ).

Значение ОР почти в 5 раз выше единицы, что свидетельствует о выраженном преимуществе терапии с использованием Цитофлавина в отношении устранения головокружения. Логарифм ОШ, а также 95% доверительный интервал для данного показателя превышает единицу, что свидетельствует о статистической значимости интегральной оценки эффективности Цитофлавина при головокружении.

Данные двух различных исследований были объединены с целью установления влияния Цитофлавина на редукцию симптома «шум и тяжесть в голове». Использовался метод ограниченной максимальной вероятности (REML), модель случайных эффектов. ОР составил 2,51 [1,15÷5,53] (точечная оценка, 95% ДИ), различия между исследуемой группой и группой сравнения статистически значимые ( $p=0,0214$ ). Между исследованиями наблюдается существенная гетерогенность ( $I^2=90,64\%$ ,  $p<0,01$ ), что, по-видимому, связано с недостаточно большим объемом выборки во втором исследовании (табл. 9).

ОШ составило 11,59 [7,10÷19,11], различия между исследуемой группой и группой сравнения статистически значимые ( $p<0,0001$ ). Исследования достаточно однородны по данному параметру ( $p=0,554$ ). Логарифм ОШ, а также 95% доверительный интервал для данного показателя превышает единицу, что свидетельствует о статистической значимости интегральной оценки эффективности Цитофлавина в отношении устранения симптома «шум и тяжесть» в голове. Нижняя граница 95% доверительного интервала для ОР превышает единицу, что свидетельствует о преимуществе терапии с использованием Цитофлавина в отношении устранения шума и тяжести.

Данные двух различных исследований были объединены с целью установления влияния Цитофлавина на редукцию симптома «нарушение координации». Использовался метод ограниченной

максимальной вероятности (REML), модель случайных эффектов. ОР составил 6,96 [4,35÷11,13] (точечная оценка, 95% ДИ), различия между исследуемой группой и группой сравнения статистически значимые ( $p<0,0001$ ) (табл. 10).

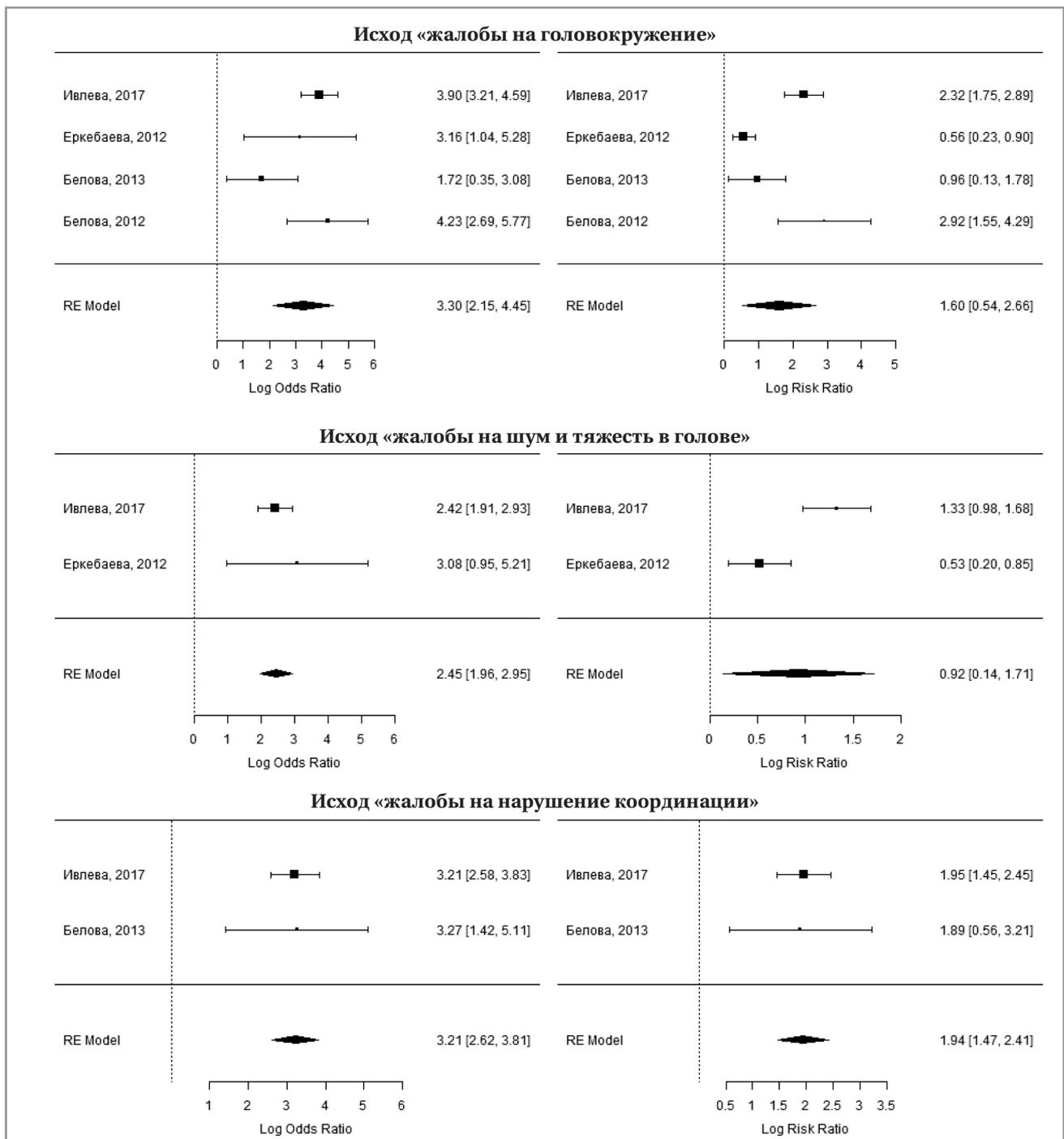
ОР составило 24,78 [13,74÷45,15], различия между исследуемой группой и группой сравнения статистически значимые ( $p<0,0001$ ). Исследования достаточно однородны по данному параметру ( $p=0,9526$ ). Нижняя граница 95% доверительного интервала для ОР превышает единицу, что свидетельствует о преимуществе терапии с использованием Цитофлавина в отношении устранения нарушений координации движений. Логарифм ОШ, а также 95% доверительный интервал для данного показателя превышает единицу, что свидетельствует о статистической значимости интегральной оценки эффективности Цитофлавина в отношении устранения симптома «нарушение координации» (рис. 4).

Полученные данные могут свидетельствовать об эффективности терапии КМН Цитофлавин в отношении выраженности вестибулярно-атактического синдрома по показателям «жалобы на головокружение», «жалобы на шум и тяжесть в голове», «жалобы на нарушение координации».

Методологическое качество исследований, основанное на оценке риска систематической ошибки, принято, как удовлетворительное, уровень доказательности предполагается «IIb», так как в систематический обзор и метаанализ включены данные, полученные в ходе хотя бы одного РКИ и больших не РКИ [6, 7, 10, 11, 42].

## Выводы

Данные систематического обзора и метаанализа показали достаточную эффективность применения комплексного метаболического нейропротектора Цитофлавин у пациентов с хронической ишемией головного мозга. Частота до-



**Рис. 4. Анализ ОР и отношения ОР «жалобы на головокружение», «жалобы на шум и тяжесть в голове», «жалобы на нарушение координации» вестибулярно-атактического синдрома.**

**Fig. 4. Analysis of RR and the ratio of ORs «complaints of dizziness», «complaints of noise and heaviness in the head», «complaints of impaired coordination» of vestibular-atactic syndrome.**

стижения ответа на терапию препаратом Цитофлавин в среднем по данным пяти независимых исследований составила 96%, таким образом, можно говорить о высокой клинической эффективности Цитофлавина при лечении ХИГМ. Однако метаанализ выявил существенную гетерогенность между исследованиями. Анализ показателей опросников качества жизни SF-36

и EQ5D также показал эффективность применения препарата при хронической ишемии головного мозга, в том числе ассоциированной с гипертонической болезнью.

Применение КМН Цитофлавин таблетки и ступенчатым курсом устойчиво повышает вероятность наступления позитивного исхода в отношении купирования астенического и вестибу-

лярно-атактического синдромов, применительно к жалобам на повышенную утомляемость, головную боль, головокружение, шум в голове, нарушение координации. Препарат оказывает поло-

жительное влияние при нарушении памяти. КМН Цитофлавин таблетки и примененный по ступенчатой схеме проявляет достаточно высокую переносимость и безопасность.

## Литература/References

1. Шукин И.А. Коррекция астенического синдрома. Поликлиника. 2014; 2: 25–30. [Shukin I.A. Correction of asthenic syndrome Poliklinika 2014; 2: 25–30. (in Russian)]
2. Суслина З.А., Румянцева С.А. Нейрометаболическая терапия хронической ишемии мозга. Методическое пособие. М.: 2009. [Suslina Z.A., Rummyantseva S.A. Neurometabolic therapy of chronic cerebral ischemia. Toolkit Moscow: 2009. (in Russian)]
3. Федин А.И., Румянцева С., Пирадов М., Скоромец А., Густов А., Клочева Е., Шоломов И., Никитин О., Жулев Н., Стулин И., Агафина А. Клиническая эффективность цитофлавина у больных с хронической ишемией головного мозга (многоцентровое плацебо-контролируемое рандомизированное исследование). Врач 2006; 13: 52–58 [Fedin A.I., Rummyantseva S., Piradov M., Skoromets A., Gustov A., Klocheva E., Sholomov I., Nikitin O., Zhulev N., Stulin I., Agafina A. Clinical efficacy of cytoflavin in patients with chronic cerebral ischemia (multicenter, placebo-controlled, randomized trial). Vrach. 2006; 13: 52–58. (in Russian)]
4. Инструкция по применению лекарственного препарата Цитофлавин таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой. Интернет ресурс: [http://www.polysan.ru/produksiya/tsitoflavin/ctf\\_instruksiya\\_tab.htm](http://www.polysan.ru/produksiya/tsitoflavin/ctf_instruksiya_tab.htm). [Instructions for use of the drug Cytoflavin enteric-coated tablets. Интернет ресурс: [http://www.polysan.ru/produksiya/tsitoflavin/ctf\\_instruksiya\\_tab.htm](http://www.polysan.ru/produksiya/tsitoflavin/ctf_instruksiya_tab.htm). (in Russian)]
5. Инструкция по применению лекарственного препарата Цитофлавин раствор для внутривенного введения/ Интернет ресурс: [http://www.polysan.ru/produksiya/tsitoflavin/ctf\\_instruksiya\\_amp.htm](http://www.polysan.ru/produksiya/tsitoflavin/ctf_instruksiya_amp.htm). [Instructions for use of the drug Cytoflavin solution for intravenous administration. Интернет ресурс: [http://www.polysan.ru/produksiya/tsitoflavin/ctf\\_instruksiya\\_amp.htm](http://www.polysan.ru/produksiya/tsitoflavin/ctf_instruksiya_amp.htm). (in Russian)]
6. Авксентьева М.В., Сура М.В., Хачатрян Г.Р., Федяева В.К. Методические рекомендации по проведению комплексной оценки лекарственного препарата для принятия решений о возможности его включения в пилотный проект по внедрению в субъектах РФ механизмов закупок лекарственных препаратов по инновационным моделям договоров. М.: 2017, 49. [Avksent'eva M.V. Sura M.V., Khachatryan G.R., Fedyaeva V.K. Methodological recommendations for conducting a comprehensive assessment of a medicinal product for making decisions on the possibility of its inclusion in a pilot project for the introduction of procurement mechanisms for medicinal products in the constituent entities of the Russian Federation according to innovative contract models. Moscow: 2017, 49. (in Russian)]
7. Омеляновский В.В., Авксентьева М.В., Сура М.В., Хачатрян Г.Р., Федяева В.К. Методические рекомендации по оценке сравнительной клинической эффективности и безопасности лекарственного препарата. М.: 2016 г. [Omelyanovskij V.V., Avksent'eva M.V., Sura M.V., Khachatryan G.R., Fedyaeva V.K. Methodological recommendations for assessing the comparative clinical efficacy and safety of a medicinal product. Moscow: 2016. (in Russian)]
8. Von Hippel P.T. The heterogeneity statistic I2 can be biased in small meta-analyses. BMC Med Res Methodol. 2015 Apr 14; 15: 35. doi: 10.1186/s12874-015-0024-z.
9. Мазин П.В., Шешунов И.В., Мазина Н.К. Метааналитическая оценка клинической эффективности цитофлавина при неврологических заболеваниях. Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. 2017; 117 (3): 28–39. doi: 10.17116/jnevro201711731. [Mazin P.V., Sheshunov I.V., Mazina N.K. Meta-analytical evaluation of the clinical efficacy of cytoflavin in neurological diseases Zhurnal nevrologii i psikiatrii im. S. S. Korsakova. 2017; 117(3): 28–39. doi: 10.17116/jnevro201711731. (in Russian)]
10. Sackett D.L., Haynes R.B. Summarising the effects of therapy: a new table and some more terms. ACP J Club 1997; 127: A15–16 PMID: 9232126
11. Омеляновский В.В., Авксентьева М.В., Сура М.В., Хачатрян Г.Р., Федяева В.К. Методические рекомендации по проведению метаанализа. М.: 2017. [Omelyanovskij V.V., Avksent'eva M.V., Sura M.V., Khachatryan G.R., Fedyaeva V.K. Methodological recommendations for conducting a meta-analysis. Moscow: 2017. (in Russian)]
12. Федин А.И., Румянцева С.А., Пирадов М.А., Скоромец А.А., Густов А.В., Клочева Е.Г., Шоломов И.И., Никитин О.Е., Жулев Н.Н., Стулин И.Д., Котов С.В., Агафина А.С. Клиническая эффективность цитофлавина у больных с хронической ишемией головного мозга (многоцентровое плацебо-контролируемое рандомизированное исследование). Главный врач юга России 2007; 4 (12): 29–34. [Fedin A.I., Rummyantseva S.A., Piradov M.A., Skoromets A.A., Gustov A.V., Klocheva E.G., Sholomov I.I., Nikitin O.E., Zhulev N.N., Stulin I.D., Kotov S.V., Agafina A.S. Clinical efficacy of cytoflavin in patients with chronic cerebral ischemia (multicenter, placebo-controlled, randomized trial) Glavnyj vrach yuga Rossii 2007; 4(12): 29–34. (in Russian)]
13. Федин А.И., Румянцева С., Пирадов М., Скоромец А., Густов А., Клочева Е., Шоломов И., Никитин О., Жулев Н., Стулин И., Агафина А. Клиническая эффективность «Цитофлавина» у больных с хронической ишемией головного мозга (многоцентровое плацебо-контролируемое рандомизированное исследование). Медицинская практика. 2009. <http://mfvt.ru/klinicheskaya-effektivnost-citoflavina-u-bolnykh-s-xronicheskoy-ishemiej-golovnogo-mozga-mnogocentrovoe-placebo-kontroliruemoe-randimizirovannoe-issledovanie/> [Fedin A.I., Rummyantseva S., Piradov M., Skoromets A., Gustov A., Klocheva E., Sholomov I., Nikitin O., Zhulev N., Stulin I., Agafina A. Clinical efficacy of «Cytoflavin» in patients with chronic cerebral ischemia (multicenter, placebo-controlled, randomized trial) Meditsinskaya praktika. 2009. <http://mfvt.ru/klinicheskaya-effektivnost-citoflavina-u-bolnykh-s-xronicheskoy-ishemiej-golovnogo-mozga-mnogocentrovoe-placebo-kontroliruemoe-randimizirovannoe-issledovanie/> (in Russian)]
14. Федин А.И., Румянцева С., Пирадов М., Скоромец А., Густов А., Клочева Е., Шоломов И., Никитин О., Жулев Н., Стулин И., Агафина А. Клиническая эффективность «Цитофлавина» у больных с хронической ишемией головного мозга (многоцентровое плацебо-контролируемое рандомизированное исследование). Практическая медицина 2006; 9: <http://pmarchive.ru/klinicheskaya-effektivnost-citoflavina-u-bolnykh-s-xronicheskoy-ishemiej-golovnogo-mozga-mnogocentrovoe-placebo-kontroliruemoe-randimizirovannoe-issledovanie/>. [Fedin A.I., Rummyantseva S., Piradov M., Skoromets A., Gustov A., Klocheva E., Sholomov I., Nikitin O., Zhulev N., Stulin I., Agafina A. Clinical efficacy of «Cytoflavin» in patients with chronic cerebral ischemia (multicenter, placebo-controlled, randomized study <http://pmarchive.ru/klinicheskaya-effektivnost-citoflavina-u-bolnykh-s-xronicheskoy-ishemiej-golovnogo-mozga-mnogocentrovoe-placebo-kontroliruemoe-randimizirovannoe-issledovanie/> (in Russian)]
15. Суслина З.А., Скоромец А.А., Румянцева С.А., Танашиян М.М., Кравчук А. Энергокорректирующая терапия цитофлавином хронической ишемии головного мозга. Профилактическая и клиническая медицина. Вестник академии им И. И. Мечникова. 2005; 2 (6): 91–95. [Suslina Z.A., Skoromets A.A., Rummyantseva S.A., Tanashyan M.M., Kravchuk A. Energy-correcting therapy with cytoflavin for chronic cerebral ischemia. Profilakticheskaya i Klinicheskaya Meditsina. Vestnik Akademii im I. I. Mechnikova. 2005; 2 (6): 91–95. (in Russian)]
16. Скоромец А., Танашиян М., Румянцева С., Густов А., Клочева Е., Коваленко С., Агафина А., Стулин И., Шоломов И. Астенический синдром у больных с церебральным атеросклерозом: подходы к терапии (многоцентровое плацебо-контролируемое рандомизированное исследование). Врач. 2006; 14: 31–34. [Skoromets A., Tanashyan M., Rummyantseva S., Gustov A., Klocheva E., Kovalenko S., Agafina A., Stulin I., Sholomov I. Asthenic syndrome in patients with cerebral atherosclerosis: approaches to therapy (multicenter, placebo-controlled, randomized trial) Vrach. 2006; 14: 31–34. (in Russian)]
17. Суслина З.А., Танашиян М.М., Румянцева С.А., Скоромец А.А., Клочева Е.Г., Шоломов И.И., Стулин И.Д., Котов С.В., Густов А.Н. Коррекция астеноневротического синдрома (по материалам многоцентрового рандомизированного исследования). Поликлиника. 2007; 1: 26–30. [Suslina Z.A., Tanashyan M.M., Rummyantseva S.A., Skoromets A.A., Klocheva E.G., Sholomov I.I., Stulin I.D., Kotov S.V., Gustov A.N. Correction of asthenoneurotic syndrome (based on a multicenter randomized trial). Poliklinika. 2007; 1: 26–30. (in Russian)]
18. Суслина З.А., Танашиян М.М.; Румянцева С.А., Скоромец А.А., Клочева Е.Г., Шоломов И.И., Стулин И.Д., Котов С.В., Густов А.Н. Коррекция астеноневротического синдрома (по материалам многоцентрового рандомизированного исследования). Главный врач. 2007; 2 (10). [Suslina Z.A., Tanashyan M.M.; Rummyantseva S.A., Skoromets A.A., Klocheva E.G., Sholomov I.I., Stulin I.D., Kotov S.V., Gustov A.N. Correction of asthenoneurotic syndrome (based on materials from a multicenter randomized trial) Glavnyj vrach/ 2007; 2 (10). (in Russian)]
19. Суслина З.А., Клочева Е.Г., Пирадов М.А., Румянцева С.А., Романцов М.Г., Коваленко А.Л. Эффективность цитофлавина при хронической ишемии головного мозга. Клиническая медицина. 2010; 3: 50–53. [Suslina Z.A., Klocheva E.G., Piradov M.A., Rummyantseva S.A., Romantsov M.G., Kovalenko A.L. The effectiveness of cytoflavin in chronic cerebral ischemia. Klinicheskaya Meditsina. 2010; 3: 50–53. (in Russian)]
20. Суслина З.А., Румянцева С.А., Танашиян М.М., Скоромец А.А., Клочева Е.Г., Федин А.И., Коваленко А.Л., Силина Е.В., Шоломов И.И. Комплексная энергокоррекция хронической ишемии мозга. Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова, 2011; 111 (3): 25–30 [Suslina Z.A., Rummyantseva S.A., Tanashyan M.M., Skoromets A.A., Klocheva E.G., Fedin A.I., Kovalenko A.L., Silina E.V., Sholomov I.I. Complex energy correction of chronic cerebral ischemia. Zhurnal nevrologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova, 2011; 111 (3): 25–30. (in Russian)]
21. Суслина З.А., Румянцева С.А., Танашиян М.М., Скоромец А.А., Клочева Е.Г., Федин А.И., Коваленко А.Л., Силина Е.В., Шоломов И.И. Комплексная энергокоррекция хронической ишемии мозга. Поликли-

- ника. 2012; 1: 144–149. [Suslina Z.A., Romyantseva S.A., Tanashyan M.M., Skoromets A.A., Klocheva E.G., Fedin A.I., Kovalenko A.L., Silina E.V., Sholomov I.I. Complex energy correction of chronic cerebral ischemia. *Poliklinika* 2012; 1: 144–149. (in Russian)]
22. Силлина Е.В., Румянцева С.А., Афанасьев В.В., Ступин В.А., Комаров А.Н., Тамбоева Н.А., Белевич С.Б., Алексеенко Ю.В. Антиоксидантная энергокоррекция при острой и хронической цереброваскулярной патологии. *Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова*. 2013; 113 (10): 88–94. [Silina E.V., Romyantseva S.A., Afanas'ev V.V., Stupin V.A., Kotarov A.N., Gambueva N.A., Bolevich S.B., Alekseenko YU.V. Antioxidant energy correction in acute and chronic cerebrovascular pathology. *Zhurnal Nevrologii i Psikhiatrii im. S. S. Korsakova*. 2013; 113 (10): 88–94. (in Russian)]
  23. Белова Л.А., Машин В.В., Колотик-Каменева О.Ю., Белова Н.В., Бырина А.В., Евстигнева А.Ю., Абрамова В.В. Эффективность цитофлавина у больных с гипертонической энцефалопатией и конституциональной венозной недостаточностью. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С.Корсакова*. 2012; 112 (8): 21–26. [Belova L.A., Mashin V.V., Kolotik-Kameneva O.Yu., Belova N.V., Byrina A.V., Evstigneeva A.YU., Abramova V.V. Effectiveness of cytoflavin in patients with hypertensive encephalopathy and constitutional venous insufficiency. *Zhurnal Nevrologii i Psikhiatrii im. S. S. Korsakova*. 2012; 112 (8): 21–26. (in Russian)]
  24. Белова Л.А., Машин В.В., Колотик-Каменева О.Ю., Белова Н.В., Бырина А.В., Евстигнева А.Ю., Абрамова В.В. Эффективность цитофлавина у больных с гипертонической энцефалопатией и конституциональной венозной недостаточностью. *Поликлиника*. 2013; 2: 26–31. [Belova L.A., Mashin V.V., Kolotik-Kameneva O.Yu., Belova N.V., Byrina A.V., Evstigneeva A.Yu., Abramova V.V. The effectiveness of cytoflavin in patients with hypertensive encephalopathy and constitutional venous insufficiency. *Poliklinika*. 2013; 2: 26–31. (in Russian)]
  25. Колотик-Каменева О.Ю., Белова Л.А. Динамика астенических расстройств у больных гипертонической энцефалопатией с конституциональной венозной недостаточностью в процессе нейропротективной коррекции. *Ульяновский медико-биологический журнал*. 2013; 1: 15–21. [Kolotik-Kameneva O.Yu., Belova L.A. Dynamics of asthenic disorders in patients with hypertensive encephalopathy with constitutional venous insufficiency during neuroprotective correction. *Ul'yanovskij Mediko-Biologicheskij Zhurnal*. 2013; 1: 15–21. (in Russian)]
  26. Белова Л.А., Колотик-Каменева О.Ю., Машин В.В., Сапрыгина Л.В., Машин Е.В. Эффективность энергокорректора цитофлавина при лечении больных гипертонической энцефалопатией. *Терапевтический архив*. 2014; 86 (9): 65–70. [Belova L.A., Kolotik-Kameneva O.Yu., Mashin V.V., Saprygina L.V., Mashin E.V. The effectiveness of the energy corrector Cytoflavin in the treatment of patients with hypertensive encephalopathy. *Terapevticheskij Arkhiv*. 2014; 86 (9): 65–70. (in Russian)]
  27. Белова Л.А., Машин В.В., Колотик-Каменева О.Ю., Прошин А.Н. Влияние терапии Цитофлавином на функцию эндотелия и церебральную гемодинамику у больных гипертонической энцефалопатией. *Антибиотики и химиотерапия*. 2014; 59 (7–8): 30–36. [Belova L.A., Mashin V.V., Kolotik-Kameneva O.Yu., Proshin A.N. Influence of Cytoflavin therapy on endothelial function and cerebral hemodynamics in patients with hypertensive encephalopathy. *Antibiotiki i Khimioter* 2014; 59 (7–8): 30–36. (in Russian)]
  28. Белова Л.А., Машин В.В., Колотик-Каменева О.Ю., Белова Н.В., Анжело Скудери, Пьер Луджи Антингани. Влияние цитофлавина на клинические и вегетативно-психологические проявления гипертонической болезни. *Терапевтический архив*. 2016; 5: 55–61. doi: 10.17116/terarkh201688555-61. [Belova L.A., Mashin V.V., Kolotik-Kameneva O.Yu., Belova N.V., Anzhelo Skuderi, P'er Luidzhi Antignani. The effect of cytoflavin on clinical and autonomic-psychological manifestations of hypertension. *Terapevticheskij Arkhiv*. 2016; 5: 55–61. doi: 10.17116/terarkh201688555-61. (in Russian)]
  29. Belova L. A., Kolotik-Kameneva O.Yu., Mashin V.V., Belova N.V., Scuderi A., Antignani P.L. The influence of Cytoflavin therapy on the cerebral hemodynamics condition in patients with various stages of hypertensive disease. *Journal of Non Invasive Vascular Investigation*. 2016; Aug 15 <https://medi.ru/info/13720/> doi: 10.24966/NIVI-7400/100001.
  30. Белова Л.А., Машин В.В., Колотик-Каменева О.Ю., Белова Н.В., Скудери А., Антингани П.Л. Влияние терапии препаратом цитофлавина на состояние церебральной гемодинамики при различных стадиях гипертонической болезни. *Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова*. 2017; 7: 28–35. doi: 10.17116/jnevro20171177128-35. [Belova L.A., Mashin V.V., Kolotik-Kameneva O.YU., Belova N.V., Skuderi A., Antignani P.L. The effect of therapy with Cytoflavin on the state of cerebral hemodynamics at various stages of hypertension. *Zhurnal Nevrologii i Psikhiatrii im. S. S. Korsakova*. 2017; 7: 28–35. doi: 10.17116/jnevro20171177128-35. (in Russian)]
  31. Маджидова Ё.Н., Усманова Д.Д., Байтурсунова Ж.М. Динамика проявлений хронической ишемии мозга в процессе лечения цитофлавином. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2012; 112 (9): 57–62. [Madzhidova Yo.N., Usmanova D.D., Bajtursunova Zh.M. Dynamics of manifestations of chronic cerebral ischemia during treatment with cytoflavin. *Zhurnal Nevrologii i Psikhiatrii im. S. S. Korsakova*. 2012; 112 (9): 57–62. (in Russian)]
  32. Маджидова Ё.Н., Усманова Д.Д., Байтурсунова Ж.М. Терапия основных клинических проявлений хронической ишемии мозга. *Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова*. 2011; 111 (8): 60–62. [Madzhidova Yo.N., Usmanova D.D., Bajtursunova Zh.M. Therapy of the main clinical manifestations of chronic cerebral ischemia. *Zhurnal Nevrologii i Psikhiatrii im. S. S. Korsakova*. 2011; 111 (8): 60–62. (in Russian)]
  33. Маджидова Ё.Н., Хайдарова Д.К., Ходжаева Д.Т. Вызванные потенциалы мозга у больных с умеренными когнитивными сосудистыми расстройствами при лечении цитофлавином. *Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова*. 2013; 113 (8): 42–45. [Madzhidova Yo.N., Khajdarova D.K., Khodzhaeva D.T. Evoked brain potentials in patients with moderate cognitive vascular disorders treated with Cytoflavin. *Zhurnal Nevrologii i Psikhiatrii im. S. S. Korsakova* 2013; 113 (8): 42–45. (in Russian)]
  34. Гацких И.В., Петрова М.М., Шалда Т.П., Варыгина Е.Л., Кузнецов М.Н., Наркевич А.Н. Динамика когнитивных нарушений у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа на фоне метаболической терапии. *Клиническая медицина*. 2016; 94 (7): 533–539. doi:10.18821/0023-2149-2016-94-7-533-539. [Gatskikh I.V., Petrova M.M., Shalda T.P., Varygina E.L., Kuznetsov M.N. Dynamics of cognitive impairments in patients with type 2 diabetes mellitus during metabolic therapy. *Klinicheskaya Meditsina*. 2016; 94 (7): 533–539. doi.10.18821/0023-2149-2016-94-7-533-539. (in Russian)]
  35. Гацких И.В., Брикман И., Шалда Т., Попова Т., Веселова О., Петрова М. Коррекция когнитивных нарушений у больных сахарным диабетом 2 типа. *Врач*. 2015; 8: 24–27. [Gatskikh I.V., Brikmann I., Shalda T., Popova T., Veselova O., Petrova M.M. Correction of cognitive impairments in patients with type 2 diabetes mellitus. *Vrach*. 2015; 8: 24–27. (in Russian)]
  36. Гацких И.В., Веселова О.Ф., Брикман И.Н., Шалда Т.П., Варыгина Е.Л., Кузнецов М.Н., Шульмин А.А., Петрова М.М. Эффективность препарата цитофлавин при коррекции когнитивных нарушений у больных сахарным диабетом 2 типа. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2015; 78 (11): 21–25. [Gatskikh I.V., Veselova O.F., Brikmann I.N., Shalda T.P., Varygina E.L., Kuznetsov M.N., Shul'min A.A., Petrova M.M. The efficacy of Cytoflavin in the correction of cognitive impairments in patients with type 2 diabetes mellitus. *Ehksperimental' naya i Klinicheskaya Farmakologiya*. 2015; 78 (11): 21–25. (in Russian)]
  37. Еркебаева С.К., Нургужаев Е.С., Гафуров Б.Г., Туksанбаева Г.У. Профилактическая терапия инсульта у больных дисциркуляторной энцефалопатией с депрессивным синдромом. *Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова*. 2012; 11: 32–36. [Erkebaeva S.K., Nurguzhaev E.S., Gafurov B.G., Tuksanbaeva G.U. Preventive therapy of stroke in patients with discirculatory encephalopathy with depressive syndrome. *Zhurnal Nevrologii i Psikhiatrii im. S. S. Korsakova*. 2012; 11: 32–36. (in Russian)]
  38. Еркебаева С.К. Клиническая эффективность профилактической энергокорректирующей терапии у больных с транзиторными ишемическими атаками. *Вестник КазНМУ*. 2013; 5. [Erkebaeva S.K. Clinical efficacy of prophylactic energy-correcting therapy in patients with transient ischemic attacks. *Vestnik KazNMU* 2013; 5.] <https://kaznmu.kz/press/2013/05/23/>.
  39. Гудкова А.Н., Осиновская Н.А., Полунина А.Г., Гехт А.Б. Исследование влияния цитофлавина на симптомы депрессии и вегетативные нарушения у пациентов с органическим депрессивным расстройством. *Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова*. 2013; 12: 50–55. [Gudkova A.N., Osinovskaya N.A., Polunina A.G., Gekht A.B. Study of the effect of cytoflavin on depression symptoms and autonomic disorders in patients with organic depressive disorder. *Zhurnal Nevrologii i Psikhiatrii im. S.S.Korsakova* 2013; 12: 50–55. (in Russian)]
  40. Полунина А.Г., Осиновская Н.А., Гудкова А.Н., Гехт А.Б. Влияние цитофлавина на симптомы астении, эмоциональное состояние и вегетативную регуляцию у пациентов с органическим астеническим расстройством. *Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова*. 2014; 114 (2): 28–33. [Polunina A.G., Osinovskaya N.A., Gudkova A.N., Gekht A.B. The effect of cytoflavin on asthenia symptoms, emotional state and autonomic regulation in patients with organic asthenic disorder. *Zhurnal Nevrologii i Psikhiatrii im. S. S. Korsakova*. 2014; 114 (2): 28–33. (in Russian)]
  41. Ивлева И.Ю., Смирнов В.Е. Применение препарата цитофлавин при хронической ишемии головного мозга в условиях дневного стационара. *Журнал международной медицины*. 2017; 2 (25): 61–64. [Ivleva I.Yu., Smirnov V.E. The use of the drug Cytoflavin in chronic cerebral ischemia in a day hospital. *Zhurnal mezhdunarodnoj meditsiny*. 2017; 2 (25): 61–64. (in Russian)]
  42. Реброва О.Ю., Федяева В.К. Оценка риска систематических ошибок в одномоментных исследованиях диагностических тестов: русскоязычная версия вопроса QUADAS. *Медицинские технологии. Оценка и выбор*. 2017; 1: 11–14. [Rebrova O. Yu., Fedyayeva V.K. Assessment of the risk of bias in cross-sectional studies of diagnostic tests: Russian version of the QUADAS questionnaire. *Meditsinskie Tekhnologii. Otsenka i Vybor* 2017; 1: 11–14. (in Russian)]

## Информация об авторах

*Журавлева Марина Владимировна* — д. м. н., профессор, зам. директора ЦКФ, ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России; профессор кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), Москва, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-9198-8661

*Городецкая Галина Ивановна* — ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России; ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), Москва, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-7322-3323

*Резникова Татьяна Сергеевна* — ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет); ГБУ «Научно-исследовательский институт организации здравоохранения и медицинского менеджмента Департамента здравоохранения города Москвы», Москва, Российская Федерация. ORCID: 0000-0003-2667-6167

*Васюкова Наталья Сергеевна* — ФГБНУ «Федеральный научный центр — Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко Российской академии наук», Москва, Российская Федерация. ORCID: 0000-0001-9482-4497

*Архипов Владимир Владимирович* — д. м. н., профессор, ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России», Москва, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-1441-3418

*Сереброва Светлана Юрьевна* — д. м. н., профессор, ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России», Москва, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-7163-7119

## About the authors

*Marina V. Zhuravleva* — D. Sc. in medicine, Professor, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-9198-8661

*Galina I. Gorodetskaya* — Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-7322-3323

*Tatiana S. Reznikova* — I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Research Institute for Healthcare and Medical Management of Moscow Healthcare Department, Moscow, Russian Federation. ORCID: 0000-0003-2667-6167

*Natalia S. Vasyukova* — All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after K. I. Scriabin and Y. R. Kovalenko (Federal Scientific Center) of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation. ORCID: 0000-0001-9482-4497

*Vladimir V. Arkhipov* — D.Sc. in medicine, Professor, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, Moscow, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-1441-3418

*Svetlana Yu. Serebrova* — D.Sc. in medicine, Professor, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, Moscow, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-7163-7119

# Немедикаментозная коррекция нарушений липидного обмена у пациентов с хронической ишемией головного мозга

Л. Ю. ДАДОВА<sup>1</sup>, М. Р. КУРАШИНОВА<sup>2</sup>, Р. М. АРАМИСОВА<sup>2</sup>, \*З. А. КАМБАЧОКОВА<sup>2</sup>,  
Ф. В. ШАВАЕВА<sup>2</sup>, А. С. ВОЛОГИРОВ<sup>2</sup>, А. А. КАМБАЧОКОВА<sup>2</sup>, К. Э. АРАМИСОВ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ГБУЗ «Городская поликлиника № 1», Нальчик, Российская Федерация

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х. М. Бербекова», Нальчик, Российская Федерация

## Nonmedical Correction of Lipid Metabolism Disorders In Patients with Chronic Cerebral Ischemia

LIANA YU. DADOVA<sup>1</sup>, MILANA R. KURASHINOVA<sup>2</sup>, RINA M. ARAMISOVA<sup>2</sup>,  
\*ZARETA A. KAMBACHOKOVA<sup>2</sup>, FATIMA V. SHAVAEVA<sup>2</sup>, ASLAN S. VOLOGIROV<sup>2</sup>,  
AMINA A. KAMBACHOKOVA<sup>2</sup>, KANTEMIR E. ARAMISOV<sup>2</sup>

<sup>1</sup> City Outpatient Clinic No. 1, Nalchik, Russian Federation

<sup>2</sup> Kabardino-Balkarian State University named after H. M. Berbekov, Nalchik, Russian Federation

### Резюме

Проведена оценка эффективности изолированного использования йодобромных ванн и озонотерапии, а также их комплексного применения в коррекции нарушений липидного обмена при хронической ишемии головного мозга. Статистический анализ биохимических показателей после лечения позволил прийти к заключению о достаточной эффективности и целесообразности применения предлагаемых методик.

**Ключевые слова:** ванны с йодобромной водой; озонотерапия; хроническая ишемия головного мозга

**Для цитирования:** Дадова Л. Ю., Курашинова М. Р., Арамисова Р. М., Камбачокова З. А., Шаваяева Ф. В., Вологиров А. С., Камбачокова А. А., Арамисов К. Э. Немедикаментозная коррекция нарушений липидного обмена у пациентов с хронической ишемией головного мозга. *Антибиотики и химиотерапия*. 2021; 66: 9–10: 54–56. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-9-10-54-56.

### Abstract

The authors evaluated the effectiveness of the isolated use of iodine-bromine baths and ozone therapy, as well as their complex application in the correction of lipid metabolism disorders in chronic cerebral ischemia. Statistical analysis of biochemical parameters after the treatment made it possible to come to the conclusion about the sufficient effectiveness and feasibility of using the proposed methods.

**Keywords:** baths with iodine-bromine water; ozone therapy; chronic cerebral ischemia

**For citation:** Dadova L. Yu., Kurashinova M. R., Aramisova R. M., Kambachokova Z. A., Shavaeva F. V., Vologirov A. S., Kambachokova A. A., Aramisov K. E. Nonmedical correction of lipid metabolism disorders in patients with chronic cerebral ischemia. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2021; 66: 9–10: 54–56. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-9-10-54-56.

## Введение

Исследование липидного состава крови имеет важное медико-социальное значение для профилактики прогрессирования атеросклероза, поскольку повышенный уровень холестерина и дисбаланс его фракций является одним из основных факторов риска развития ишемии головного мозга. Коррекция дислипидемии способствует нормализации вязкости крови (важный фактор при диффузном поражении мелких мозговых артерий) и снижению атеросклеротического стеноза крупных мозговых артерий, предотвращая

хронизацию ишемической болезни головного мозга и её прогрессирование [1, 2].

Цель работы — оценить эффективность изолированного использования йодобромных ванн и озонотерапии, а также их комплексного применения при коррекции нарушений липидного обмена при хронической ишемии головного мозга (ХИГМ).

## Материал и методы

В условиях городской поликлиники № 1 г. Нальчик (государственное бюджетное учреждение здравоохранения) обследовано и пролечено 90 пациентов с ХИГМ I ст. (атероскле-

© Коллектив авторов, 2021

\*Адрес для корреспонденции: ул. Чернышевского, 173, г. Нальчик, КБР, Российская Федерация, 360004.  
E-mail: k.zareta.7@mail.ru

© Team of Authors, 2021

\*Correspondence to: 173 Chernyshevskogo st., Nalchik, KBR, 360004 Russian Federation. Email: k.zareta.7@mail.ru

ротической, гипертонической, смешанного генеза). Условием для включения пациентов в работу было отсутствие приёма статинов до и во время исследования. Пациенты с ХИГМ II–III ст., с острым нарушением мозгового кровообращения, с инфарктом миокарда в анамнезе и при наличии тяжёлой сопутствующей соматической патологии из исследования исключались, как противопоказанные для бальнео- и озонотерапии. Средний возраст обследованных больных составил 53,7 года и варьировал от 40 до 65 лет. Наибольшее число пациентов имело возраст в интервале 46–55 лет, что соответствует данным других авторов [3].

Среди обследованных лиц было 62% женщин и 38% мужчин. У большинства больных продолжительность заболевания составляла от 3 до 7 лет. Плановое обследование позволило выявить наиболее часто обнаруживаемые факторы риска цереброваскулярной патологии: наличие артериальной гипертензии, атеросклероза и их сочетания, перенесённых черепно-мозговых травм, сахарного диабета II типа, гипотиреоза, хронической болезни почек, хронической сердечной недостаточности. По нозологиям основного заболевания пациенты были представлены следующим образом: 55,6% пациентов с артериальной гипертензией, 27,8% — пациентов с атеросклерозом, 16,7% — с их сочетанием.

Рандомизированным способом сформированы 3 клинические группы, сопоставимые по основным параметрам (возраст, пол, клинические проявления, этиологические факторы). Пациенты 1-й группы сравнения (30 человек) получали ванны с йодобромной водой (при концентрации: I — 10 мг/л, Br — 30 мг/л; t — 36–37°C, экспозиции — 10–15 мин, на курс — 10 ванн). Пациенты 2-й группы сравнения (30 человек) получали курс из 5 внутривенных капельных инфузий 200 мл озонированного 0,9% раствора хлорида натрия, вводимого в локтевую вену со скоростью 8–10 мл/мин, при длительности процедуры 20–25 мин, два раза неделю. Насыщение физиологического раствора озоном проводилось с помощью аппарата «Медозонс-2», что обеспечивало уровень разовой дозы озона, введённой в сосудистое русло в течение одной инфузии, равной 160 мкг. Пациенты основной группы (30 человек) получали комплексное лечение, включавшее йодобромные ванны и озонотерапию по вышеописанным методикам. Была отмечена хорошая переносимость процедур, без осложнений.

Скрининг липидного спектра крови включал определение содержания общего холестерина (ХС), триглицеридов (ТГ), атерогенных липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), антиатерогенных липопротеинов высокой плотности (ЛПВП), индекса атерогенности (ИА). При анализе полученных данных состояние липидного показателя оценивалось как гипертриглицеридемия при уровне триглицеридов  $\geq 2,3$  ммоль/л; как гиперхолестеринемия — при уровне общего холестерина  $\geq 5,2$  ммоль/л.

Статистическая обработка материала проводилась с использованием программ MS EXCEL 2010 и «STATISTICA 10,0» (США). Статистически значимыми считались различия при значении  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

Определение исходного уровня изучаемых показателей у обследованных пациентов с ХИГМ I ст. выявило наличие «умеренного» повышения липидов. Так, до лечения гиперхолестеринемия (6,49 [5,81–7,84] ммоль/л) обнаружена у 58% пациентов, что свидетельствует о превышении нормативного уровня здоровых лиц на 32%. При этом у 60% больных выявлена гипертриглицеридемия с превышением уровня у здоровых лиц на 32% (2,83 [2,01–3,44] ммоль/л). Кроме того, у 61% обследованных липопротеины низкой плотности

оказались повышенными относительно нормативных показателей на 24% (5,77 [5,03–6,95] ммоль/л), а липопротеины высокой плотности снижены на 18% (0,63 [0,40–0,57] ммоль/л). На этом фоне индекс атерогенности у большинства пациентов (68%) превысил таковой уровень у здоровых лиц на 42% (5,05 [4,04–5,55] ед.).

Анализ полученных данных после завершения лечебного курса у больных 1-й группы сравнения свидетельствовал об ожидаемом статистически достоверном понижении уровня общего холестерина на 12,3% (с 6,89 [5,94–7,97] до 6,04 [5,13–7,08] ммоль/л,  $p < 0,05$ ), у больных 2-й группы сравнения — на 13% (с 6,91 [6,08–7,99] до 6,01 [5,87–6,99] ммоль/л,  $p < 0,05$ ), а у больных основной группы такая благоприятная динамика составила 18% (с 6,85 [6,03–7,81] до 5,62 [5,17–6,34] ммоль/л,  $p < 0,05$ ).

Исходная гипертриглицеридемия у наблюдаемых больных под влиянием предложенных лечебных комплексов оказалась заметно скорректированной. Так, редукция триглицеридов под влиянием йодобромных ванн составила 24,8% (с 2,82 [2,24–3,11] до 2,12 [1,75–2,38] ммоль/л,  $p < 0,05$ ), в группе с озонотерапией равнялась 26,2% (с 2,78 [2,23–3,22] до 2,05 [1,81–2,01] ммоль/л,  $p < 0,05$ ), а более всего такое уменьшение относительно исходного уровня произошло в группе с применением обоих лечебных факторов — на 38,7% (с 2,79 [2,11–3,08] до 1,71 [1,57–2,48] ммоль/л,  $p < 0,05$ ).

Одновременно атерогенные липопротеины в 1-й группе сравнения понизились на 13% (с 5,55 [5,11–6,48] до 4,83 [4,11–5,36] ммоль/л,  $p < 0,05$ ), во 2-й группе сравнения — на 21% (с 5,47 [4,36–6,08] до 4,32 [3,85–4,99],  $p < 0,05$ ), а в основной группе — на 36% (с 5,38 [5,04–6,35] до 3,39 [2,97–3,85],  $p < 0,05$ ). В результате указанной динамики произошло снижение индекса атерогенности по сравнению с исходными показателями у больных 1-й группы сравнения на 24,3% (с 5,01 [4,31–6,48] до 3,79 [3,14–4,31] ед.,  $p < 0,05$ ), у пациентов 2-й группы сравнения — на 28% (с 4,95 [4,03–5,71] до 3,57 [3,2–3,87] ед.,  $p < 0,05$ ), а в основной группе — на 37% (с 5,04 [4,03–5,11] до 3,14 [2,82–3,78] ед.,  $p < 0,05$ ).

Важно отметить, что на этом фоне наблюдался такой закономерный факт, как повышение антиатерогенных липопротеинов. Так, в 1-й группе сравнения этот благоприятный процесс составил 100% (с 0,64 [0,51–0,63] до 1,29 [1,10–1,44] ммоль/л,  $p < 0,05$ ), во 2-й группе сравнения — 135% (с 0,61 [0,42–0,62] до 1,44 [1,27–1,52] ммоль/л,  $p < 0,05$ ), а в основной группе — 140% (с 0,67 [0,39–0,68] до 1,62 [1,42–1,76] ммоль/л,  $p < 0,05$ ), относительно исходного уровня.

Таким образом, обобщая полученные результаты завершённого немедикаментозного лечения больных ХИГМ I стадии, можно констатировать, что по большинству изученных показателей ли-

пидного спектра сыворотки крови положительная динамика отмечена у 47% пациентов в группе с применением ванн с йодобромной водой, у 63% лиц, принимавших сеансы озонотерапии, и у 77% пациентов в группе с комплексным применением данных лечебных факторов. Следовательно, метод бальнео- и озонотерапии можно рекомендовать для более широкого применения у пациентов с хронической ишемией головного мозга в качестве вторичной профилактики дислипиде-

мии, с целью профилактики атеросклероза, так как предложенные методы лечения этой нозологической группы больных являются достаточно эффективными, обладают патогенетически нормализующим воздействием на гематологические показатели липидного обмена.

**Конфликт интересов между авторами отсутствует.**

## Литература/References

1. Коберская Н. Н., Табеева Г. Р., Калимеева Е. Ю., Гереева С. И. Начальные формы цереброваскулярной недостаточности: подходы к терапии (по результатам клинико-эпидемиологической программы «Профиль»). Медицинский совет. 2018; 1: 13–19. doi: 10.21518/2079-701X-2018-1-13-19. [Koberskaya N. N., Tabeeva G. R., Kalimeeva E. Yu., Gereeva S. I. Initial forms of cerebrovascular insufficiency: approaches to therapy (based on the results of the clinical and epidemiological program «Profile»). Medicinskij sovet – Medical advice. 2018; 1: 13–19. doi: 10.21518/2079-701X-2018-1-13-19. (in Russian)]
2. Камчатнов П. Р., Чугунов А. В., Осмаева З. Х., Минаев Д. П. Хронические цереброваскулярные заболевания: возможности терапии. Consilium Medicum. 2019; 21 (2): 102–107. doi: 10.26442/20751753.2019.2.190318. [Kamchatnov P. R., Chugunov A. V., Osmaeva Z. Kh., Minaev D. P. Chronic cerebrovascular diseases: possibilities of therapy. Consilium Medicum. 2019; 21 (2): 102–107. doi: 10.26442/20751753.2019.2.190318. (in Russian)]
3. Нурполатова С. Т., Эргашева З. У. Изучение особенностей распространения артериальной гипертензии в разных возрастных группах. Бюллетень науки и практики. 2018; 4 (3): 48–53. doi: 10.5281/zenodo.1197767. [Nurpolatova S. T., Ergasheva Z. U. Study of the peculiarities of the spread of arterial hypertension in different age groups. Byulleten 'nauki i praktiki. Bulletin of Science and Practice. 2018; 4 (3): 48–53. doi: 10.5281/zenodo.1197767. (in Russian)]

## Информация об авторах

*Дадова Лиана Юрьевна* — врач-невролог Государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Городская поликлиника №1», Нальчик, Российская Федерация

*Курашинова Милана Руслановна* — студентка 2 курса, ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х. М. Бербекова», Нальчик, Российская Федерация

*Арамисова Рина Мухамедовна* — д. м. н., профессор, заведующая кафедрой госпитальной терапии ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х. М. Бербекова», Нальчик, Российская Федерация

*Камбачокова Зарета Анатольевна* — д. м. н., профессор кафедры госпитальной терапии, ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х. М. Бербекова», Нальчик, Российская Федерация

*Шаваева Фатима Валерьевна* — к. м. н., доцент кафедры нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х. М. Бербекова», Нальчик, Российская Федерация

*Вологиров Аслан Сафарбиевич* — доцент кафедры нормальной и патологической анатомии медицинского факультета ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х. М. Бербекова», Нальчик, Российская Федерация

*Камбачокова Амина Аслановна* — студентка 1 курса, ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х. М. Бербекова», Нальчик, Российская Федерация

*Арамисов Кантемир Эльбердович* — студент 1 курса, ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х. М. Бербекова», Нальчик, Российская Федерация

## About the authors

*Liana Yu. Dadova* — neurologist, City Outpatient Clinic No. 1, Nalchik, Russian Federation

*Milana R. Kurashinova* — 2<sup>nd</sup> year student, Kabardino-Balkarian State University named after H. M. Berbekov, Nalchik, Russian Federation

*Rina M. Aramisova* — D. Sc. in medicine, Professor, Kabardino-Balkarian State University named after H. M. Berbekov, Nalchik, Russian Federation

*Zareta A. Kambachokova* — D. Sc. in medicine, Kabardino-Balkarian State University named after H. M. Berbekov, Nalchik, Russian Federation

*Fatima V. Shavaeva* — Ph. D. in medicine, Kabardino-Balkarian State University named after H. M. Berbekov, Nalchik, Russian Federation

*Aslan S. Vologirov* — Associate Professor of the Department of Normal and Pathological Anatomy, Kabardino-Balkarian State University named after H. M. Berbekov, Nalchik, Russian Federation

*Amina A. Kambachokova* — 1<sup>st</sup> year student, Kabardino-Balkarian State University named after H. M. Berbekov, Nalchik, Russian Federation

*Kantemir E. Aramisov* — 1<sup>st</sup> year student, Kabardino-Balkarian State University named after H. M. Berbekov, Nalchik, Russian Federation

# Болезнь Лайма: современные подходы к лечению и профилактике (по материалам международных рекомендаций 2020 г.)

\*Б. С. БЕЛОВ, Л. П. АНАНЬЕВА

ФГБНУ НИИ ревматологии им. В. А. Насоновой, Москва, Российская Федерация

## Lyme Disease: Modern Approaches to Treatment and Prevention (Based on International Recommendations of 2020)

\*BORIS S. BELOV, LIDIYA P. ANANYEVA

V. A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, Moscow, Russian Federation

### Резюме

Болезнь Лайма (БЛ) или клещевой боррелиоз ежегодно поражает тысячи людей в разных регионах мира, в первую очередь, США и Европы. С учётом большой социальной и медицинской значимости данной проблемы, в ноябре 2020 г. опубликован обновлённый вариант клинического руководства по профилактике, диагностике и лечению БЛ, подготовленный комитетом экспертов Американского общества инфекционных болезней (IDSA), Американской академии неврологии (AAN) и Американской коллегии ревматологов (ACR). В настоящей статье рассматриваются основные вопросы применения антибактериальных препаратов при БЛ. Наиболее часто используют доксициклин, амоксициллин, цефуроксима аксетил и цефтриаксон. Пациенты с мигрирующей эритемой получают соответствующие антибиотики в течение 7–14 дней в зависимости от препарата. При иных клинических проявлениях БЛ продолжительность лечения удлиняют до 14–28 дней. Антибиотикопрофилактика проводится однократным пероральным приёмом доксициклина в дозе 200 мг для взрослых и 4,4 мг/кг (максимум 200 мг) для детей. Данная схема обладает высокой эффективностью, простотой использования и относительно низким риском нежелательных явлений.

**Ключевые слова:** болезнь Лайма; антибактериальные препараты; доксициклин; амоксициллин; цефуроксима аксетил; цефтриаксон; терапия; профилактика

**Для цитирования:** Белов Б. С., Ананьева Л. П. Болезнь Лайма: современные подходы к лечению и профилактике (по материалам международных рекомендаций 2020 г.). *Антибиотики и химиотерапия*. 2021; 66: 9–10: 57–63. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-9-10-57-63.

### Abstract

Lyme disease (LD) or tick-borne borreliosis affects thousands of people every year in different regions of the world, primarily in the United States and Europe. Given the great social and medical importance of this problem, an updated version of the clinical guidelines for the prevention, diagnosis and treatment of PD was published in November 2020 by a committee of experts of the Infectious Diseases Society of America (IDSA), the American Academy of Neurology (AAN) and the American College of Rheumatology (ACR). This article discusses the main issues of the use of antibacterial drugs in LD. The most commonly used medications are doxycycline, amoxicillin, cefuroxime axetil, and ceftriaxone. Patients with erythema migrans receive appropriate antibiotics for 7–14 days, depending on the medication used. In case of other clinical manifestations of LD, the duration of treatment is extended to 14–28 days. Antibiotic prophylaxis is carried out using a single oral dose of 200 mg doxycycline for adults and 4.4 mg/kg (with a maximum of 200 mg) for children. This treatment scheme is highly efficient, easy to administer, and has a relatively low risk of adverse events.

**Keywords:** Lyme disease; antibacterial drugs; doxycycline; amoxicillin; cefuroxime axetil; ceftriaxone; therapy; prevention

**For citation:** Belov B. S., Ananyeva L. P. Lyme disease: modern approaches to treatment and prevention (based on international recommendations of 2020). *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2021; 66: 9–10: 57–63. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-9-10-57-63.

### Введение

Болезнь Лайма (БЛ) или клещевой боррелиоз (A69.2 по МКБ-10) — инфекционное трансмиссив-

ное природно-очаговое заболевание, вызываемое спирохетами и передающееся иксодовыми клещами, имеющее склонность к хроническому и ла-

© Коллектив авторов, 2021

\*Адрес для корреспонденции: Каширское шоссе, 34-А, ФГБНУ «НИИ ревматологии им. В.А. Насоновой», г. Москва, 115522. E-mail: belovbor@yandex.ru

© Team of Authors, 2021

\*Correspondence to: 34-A Kashirskoe highway, V. A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, Moscow, 115522 Russian Federation. E-mail: belovbor@yandex.ru

тентному течению с преимущественным поражением кожи, нервной системы и опорно-двигательного аппарата. БЛ вызывается граммотрицательными спирохетами рода *Borrelia* трёх видов: *Borrelia burgdorferi* (доминирует в США), *Borrelia garinii* и *Borrelia afzelii* (преобладают в Европе и России). Заболевание достаточно распространено в зоне умеренного климата Северного полушария. Большинство случаев БЛ в США регистрируется в регионах Средней Атлантики, Северо-Востока и верхнего Среднего Запада (Висконсин, Миннесота). В Европе заболеваемость БЛ наиболее высока в Скандинавии и странах Балтии, а также в Австрии, Чехии, Германии и Словении. В России клещевой боррелиоз имеет широкое распространение (от Балтийского побережья до берегов Тихого океана). Основным резервуаром и переносчиками иксодового клещевого боррелиоза являются клещи видов *Ixodes persulcatus* и *I. ricinus*. Максимум заболеваемости приходится на Европейской территории страны на май, в Предуралье, на Урале и Западной Сибири — на май–июнь, на Дальнем Востоке — на май–июль. В очагах преимущественного обитания клещей *I. ricinus* случаи заболеваний могут регистрироваться и осенью — в сентябре и октябре, что связано с наличием дополнительного периода активности этих клещей в конце лета [1].

Принимая во внимание большую социальную и медицинскую значимость данной проблемы, в ноябре 2020 г. увидел свет обновлённый вариант клинического руководства по профилак-

тике, диагностике и лечению БЛ. Данное руководство было издано под эгидой Американского общества инфекционных болезней (IDSA), Американской академии неврологии (AAN) и Американской коллегии ревматологов (ACR) [2].

В настоящей статье будут рассмотрены излагаемые в упомянутом руководстве основные вопросы применения антибактериальных препаратов при БЛ.

## Общие принципы антибактериальной терапии при БЛ

Основная цель лечения — устранение объективных и субъективных симптомов инфекции *B. burgdorferi* с предотвращением рецидива и новых осложнений болезни. Выбор антибиотика зависит от ряда факторов, включая возраст, наличие внекожных проявлений БЛ (нейроборрелиоз, кардит, артрит), лекарственную аллергию, переносимость; частоту приёма; склонность к фоточувствительности (особенно при лечении доксициклином); вероятность коинфекции и стоимость. Наиболее часто используют доксициклин, амоксициллин, цефуроксим аксетил и цефтриаксон. Пациенты с мигрирующей эритемой (МЭ) получают соответствующие антибиотики в течение 7–14 дней в зависимости от препарата. При иных клинических проявлениях БЛ продолжительность лечения удлиняют до 14–28 дней (табл. 1, 2). В большинстве

**Таблица 1. Дозы препаратов**

**Table 1. Medication doses**

Лекарство	Дозировка для взрослых	Дозировка для детей
<b>Пероральные схемы</b>		
<i>Препараты первого ряда</i>		
Амоксициллин <sup>а</sup>	500 мг 3 раза в день	50 мг/кг/сут, в 3 приёма (максимум 500 мг на дозу)
Доксициклин <sup>б</sup>	100 мг два раза в день или 200 мг один раз в день <sup>б</sup>	4,4 мг/кг/сут, (максимум 200 мг/сут)
Цефуроксима аксетил <sup>а</sup>	500 мг два раза в день	30 мг/кг/сут, в 3 приёма (максимум 500 мг на дозу)
<i>Альтернатива</i>		
Азитромицин <sup>с</sup>	500 мг один раз в сутки	10 мг / кг один раз в сутки (максимум 500 мг на дозу)
<b>Парентеральные схемы (препараты вводятся внутривенно)</b>		
<i>Препараты первого ряда</i>		
Цефтриаксон	2000 мг один раз в сутки	50–75 мг / кг один раз в сутки (максимум 2000 мг на дозу)
<i>Альтернатива</i>		
Цефотаксим <sup>а</sup>	2000 мг три раза в день	150–200 мг/кг/сут в 3-4 приёма (максимум 6000 мг/сут)
Пенициллин G <sup>а</sup>	18–24 млн МЕ каждые 4 часа	200 000–400 000 МЕ /кг/сут в 6 введениях (максимум 18–24 млн МЕ/сут)

**Примечание.** <sup>а</sup> — дозы некоторых бета-лактамов антибиотиков (амоксициллин, пенициллин, цефуроксим и цефотаксим) могут потребовать корректировки для пациентов с нарушением функции почек; <sup>б</sup> — появляется всё больше информации о безопасности коротких курсов доксициклина у детей раннего возраста, что должно повлиять на соотношение риска и пользы при использовании этого антибиотика у пациентов с различными проявлениями БЛ; <sup>с</sup> — из-за опасений по поводу более низкой эффективности макролиды, включая азитромицин, считаются препаратами второго ряда, и их следует назначать пациентам, которым противопоказаны другие классы антибиотиков.

**Note.** <sup>а</sup> — Certain beta-lactam antibiotics (amoxicillin, penicillin, cefuroxime, and cefotaxime) may need to be adjusted for patients with impaired renal function. <sup>б</sup> — There is a growing body of information on the safety of short courses of doxycycline therapy in young children, which should influence the risk/benefit ratio of using this antibiotic in patients with different manifestations of LD. <sup>с</sup> — Due to concerns about their lower efficacy, macrolides, including azithromycin, are considered second-line drugs and should be given to patients with contraindications to other classes of antibiotics.

**Таблица 2. Антибиотикотерапия при различных клинических вариантах БЛ**  
**Table 2. Antibiotic therapy for different clinical variants of LD**

Проявление болезни	Путь введения	Препарат	Длительность, дни (диапазон) <sup>a</sup>
Мигрирующая эритема <sup>b</sup>	<i>Per os</i>	Доксициклин	10
		Амоксициллин или цефуроксима аксетил	14
		Азитромицин <sup>c</sup>	7 (5–10)
Менингит или радикулит	<i>Per os</i>	Доксициклин	14–21
	В/в <sup>d</sup>	Цефтриаксон	14–21
Парез черепно-мозговых нервов	<i>Per os</i>	Доксициклин	14–21
Кардит	<i>Per os</i> <sup>e</sup>	Доксициклин, амоксициллин или цефуроксима аксетил	14–21
		в/в e	Цефтриаксон
Артрит			
Стартовое лечение	<i>Per os</i>	Доксициклин, амоксициллин или цефуроксима аксетил	28
Рецидивирующий или рефрактерный артрит	<i>Per os</i>	Доксициклин, амоксициллин или цефуроксима аксетил	28
		В/в	Цефтриаксон
Хронический атрофический акродерматит	<i>Per os</i>	Доксициклин, амоксициллин или цефуроксима аксетил	21–28
Боррелиальная лимфоцитома	<i>Per os</i>	Доксициклин, амоксициллин или цефуроксима аксетил	14

**Примечание.** <sup>a</sup> — диапазоны даны там, где изучалась разная длительность, оптимальная продолжительность остаётся неопределённой; <sup>b</sup> — рекомендация применима как к одиночной, так и к множественной МЭ; <sup>c</sup> — из-за опасений по поводу более низкой эффективности макролидные антибиотики, включая азитромицин, считаются препаратами второго ряда, и их следует назначать пациентам, которым противопоказаны другие классы антибиотиков. Азитромицин недостаточно изучен в отношении других проявлений БЛ, кроме МЭ; <sup>d</sup> — предпочтительным препаратом для в/в введения является цефтриаксон. Цефотаксим и пенициллин G относятся к альтернативным вариантам. <sup>e</sup> — стартовая парентеральная терапия рекомендуется пациентам, нуждающимся в госпитализации. В дальнейшем следует перевод на пероральный приём препарата. Терапию можно проводить перорально в течение того же срока — 14 дней. Пациентов с кардитом Лайма, которым не требуется госпитализация, можно лечить перорально. <sup>f</sup> — повторную в/в терапию можно продлить до 28 дней, если сохраняются признаки воспаления.

**Note.** <sup>a</sup> — Ranges are given in cases, where different durations have been studied, while the optimal duration remains uncertain. <sup>b</sup> — The recommendation applies to both solitary and multiple erythema migrans. <sup>c</sup> — Due to concerns about their lower efficacy, macrolides, including azithromycin, are considered second-line drugs and should be given to patients with contraindications to other classes of antibiotics. Azithromycin is not well understood in relation to other manifestations of LD other than erythema migrans. <sup>d</sup> — The preferred IV drug is ceftriaxone. Cefotaxime and penicillin G are the alternatives. <sup>e</sup> — Initial parenteral therapy is recommended for patients requiring hospitalization. At a later stage, transfer to oral administration of the drug is recommended. Therapy with oral medications is administered for the same period of 14 days. Lyme carditis patients not requiring hospitalization can be treated with oral drugs. <sup>f</sup> — Repeated IV therapy may be prolonged up to 28 days if signs of inflammation persist.

случаев пероральная терапия предпочтительнее, чем внутривенное (в/в) введение препаратов по причине эквивалентной эффективности, лучшей переносимости и меньшей стоимости. Следует отметить, что при любой терапевтической схеме полный ответ на лечение по завершении курса может быть отсроченным. При любой указанной схеме возможно развитие рецидива, что требует повторного курса лечения.

Некоторые антибактериальные препараты не показаны для лечения БЛ по ряду причин: отсутствие активности *in vitro* и данных клинических испытаний, потенциальная токсичность, излишне широкий спектр антимикробной активности. К ним относятся цефалоспорины первого поколения, фторхинолоны, аминогликозиды, пиперазид, ванкомицин, тигециклин, метрони-

дазол, тинидазол, рифампицин, гидроксихлорохин и флуконазол. Отсутствуют клинические доказательства в поддержку схем, предназначенных для лечения особых морфологических вариантов *V.burgdorferi* [1] («цистовые» формы), а также «привередливых» персистирующих образцов возбудителя [4].

У небольшого числа больных, получающих лечение по поводу ранней стадии БЛ, в течение первых 24 ч антибиотикотерапии наблюдается временное нарастание интенсивности симптомов с лихорадкой или без неё. Это явление, подобное реакции Яриша–Герксгеймера в начальной стадии лечения сифилиса, вероятно, является воспалительной реакцией на бактериальную антигенную нагрузку, высвобождаемую после начальной дозы антибиотиков. Эта реакция

обычно носит умеренный характер, купируется самостоятельно и в дальнейшем не повторяется.

БЛ лечится с успехом при использовании стандартных схем терапии в различных группах пациентов, включая беременных женщин, детей, лиц с сопутствующими заболеваниями и пациентов с ослабленным иммунитетом. На сегодняшний день отсутствуют данные о том, что БЛ, развившаяся во время беременности, приводит к врождённой инфекции или синдрому врождённых аномалий плода, в связи с чем выходящее за рамки стандартных схем дополнительное лечение или наблюдение за матерью или ребёнком не рекомендуется. Пациенты с ослабленной иммунной системой успешно лечились от БЛ с использованием схем, изученных на исходно здоровом макроорганизме [5–7].

## Мигрирующая эритема (МЭ)

Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что применяемые в настоящее время схемы антибиотикотерапии приводят к более быстрому разрешению поражения кожи и сопутствующих симптомов, а также эффективно предотвращают развитие диссеминированных проявлений БЛ (например, артрита) [8–10]. Основываясь на результатах исследований *in vitro* и данных клинических испытаний, три широко используемых пероральных антибиотика — доксициклин, амоксициллин и цефуроксима аксетил, по-видимому, обладают аналогичной эффективностью при лечении пациентов с МЭ. Данные клинических исследований, выполненные в Европе, предполагают сопоставимую с вышеуказанными антибиотиками эффективность пенициллина V, однако требуется внесение ясности в отношении его оптимальной дозировки [11].

Азитромицин оказался сопоставимым по эффективности с препаратами сравнения для пациентов с МЭ в большинстве клинических испытаний. Однако в рандомизированном клиническом исследовании (РКИ), выполненном В. Luft и соавт. [12], при 20-дневном курсе лечения частота полного исчезновения МЭ среди больных, получавших амоксициллин, была значимо выше по сравнению с группой, принимавшей азитромицин (88 и 76%, соответственно,  $p=0,024$ ). Помимо этого, частота рецидивов была значимо меньшей в группе амоксициллина, по сравнению с азитромицином (4 и 16%, соответственно,  $p=0,005$ ) [12]. С учётом результатов данного исследования азитромицин часто рассматривается как препарат второго ряда для лечения МЭ у больных с непереносимостью бета-лактамов и тетрациклинов.

Для пациентов с подозрением на раннюю БЛ, проявляющуюся острым лихорадочным состоянием без поражения кожи, считаются эффектив-

ными те же схемы антибиотиков, что и для МЭ, но систематических исследований, подтверждающих этот факт, недостаточно.

Несмотря на то, что Американская Академия педиатрии рекомендует доксициклин для лечения детей любого возраста, некоторые клиницисты предпочитают назначать данный препарат только маленьким пациентам с непереносимостью бета-лактамов антибиотиков [13, 14]. Безопасность доксициклина при беременности и грудном вскармливании требует дополнительных исследований, поэтому решение о применении препарата у указанных пациенток должно быть индивидуальным с учётом вероятных рисков и преимуществ альтернативных антибиотиков.

Следует отметить, что у ряда пациентов, проживающих преимущественно на юге и юго-востоке центральной части США, после укуса клеща-одиночки (*Amblyomma americanum*) может развиваться поражение кожи, схожее с МЭ — т. н. «сыпь, ассоциированная с южным клещом» (Southern tick-associated rash illness — STARI). При отсутствии идентификации клеща клиническая дифференцировка единичной МЭ и STARI практически не выполнима [15]. Поэтому при возникновении подобной ситуации в эндемичном по обоим заболеваниям регионе применяют схемы антибиотикотерапии, направленной на лечение БЛ.

## Нейроборрелиоз

Лечение больных с неврологическими проявлениями БЛ рекомендуется проводить цефтриаксоном/цефотаксимом или пенициллином G или доксициклином *per os*. На выбор начальной схемы антибиотикотерапии, помимо токсичности и эффективности, могут оказывать влияние другие факторы. Например, доксициклин *per os* может быть назначен больным с лёгкими формами БЛ в амбулаторных условиях. Для пациентов с тяжёлым течением нейроборрелиоза показана парентеральная терапия в условиях стационара с последующим переходом на пероральный приём антибиотика («ступенчатая терапия»).

Исследования показали, что эффективность лечения БЛ-ассоциированного менингита, оцениваемая по скорости наступления ответа на терапию, была аналогичной для вышеуказанных препаратов. Хотя нежелательные реакции отмечались чаще при парентеральном лечении, различия были статистически не значимы [16, 17]. В большинстве исследований показана эффективность 14-дневных курсов лечения. Хотя в некоторых работах применяли 21-дневные сроки терапии, ни в одной из них не сопоставляли эффективность с 2-недельными курсами. Удлинение сроков лечения более 21 дня, по-видимому, не оправдано. Так, терапия 100-дневным курсом

амоксциллина *per os*, назначенная после 3-недельного лечения цефтриаксоном в/в, не привела к улучшению ответа, но значительно повысила частоту нежелательных явлений (НЯ) (относительный риск — 3,7; 95% доверительный интервал — 1,29–10,61) [18].

## Лайм-кардит

Антибактериальная терапия показана как для разрешения Лайм-кардита, так и для предотвращения распространения инфекции в других тканях. Предлагаемые варианты терапии (см. табл. 2) основаны на гетерогенных исследованиях, включающих небольшое число больных с кардитом. Так, в одном РКИ сопоставляли результаты лечения доксициклином и цефтриаксоном у больных с острым диссеминированным боррелиозом, протекавшим без менингита, при этом у 6,5% пациентов был кардит. В данной работе продемонстрирована аналогичная эффективность обоих методов лечения, но в группе цефтриаксона, по сравнению с доксициклином, имела место значимо большая частота НЯ со стороны желудочно-кишечного тракта (41 и 25%, соответственно,  $p=0,049$ ). В то же время при лечении доксициклином прослеживалась тенденция к нарастанию развития фотодерматита (12 и 6%, соответственно,  $p=0,246$ ) [19]. В многочисленных описаниях случаев также сообщалось о быстром и стойком разрешении аритмий после начала антибиотикотерапии. Накопленный в этом отношении клинический опыт касается преимущественно доксициклина, сравнительные исследования эффективности которого с другими антибиотиками не проводились.

## Лайм-артрит (ЛА)

Ранние исследования показали, что парентеральная антибиотикотерапия эффективна при лечении ЛА по сравнению с плацебо [20, 21]. В двух работах показано превосходство цефтриаксона и цефотаксима над пенициллином в показателях улучшения и излечения от артрита [22, 23]. Впоследствии продемонстрирована эффективность пероральной терапии при ЛА. Так, A. Steer и соавт. [24] сообщили об излечении от артрита в течение 1–3 мес. — у 90% испытуемых (взрослых и детей), получавших 30-дневные курсы доксициклина или амоксициллина в сочетании с пробенецидом. В группе, получавшей амоксициллин, отмечена статистически незначимая тенденция к нарастанию числа аллергических реакций и НЯ со стороны желудочно-кишечного тракта [24].

Динамика разрешения ЛА после начального курса пероральных антибиотиков может варьировать. У одних больных, отвечающих на терапию,

для полного исчезновения припухлости суставов может потребоваться 1 неделя, однако через несколько месяцев возможен рецидив артрита. У других больных может иметь место минимальная реакция (или её отсутствие) на первоначальный курс лечения, при этом в ходе терапии возможно развитие артрита другой локализации.

У больных, получающих цефтриаксон на первом этапе лечения, все объективные и субъективные симптомы ЛА регрессируют в 59–83% случаев. Сроки полного излечения могут составлять от нескольких месяцев до 1 года. Данные об эффективности терапии ЛА цефтриаксоном более 28 дней отсутствуют.

Если у пациента сохраняется суставной синдром после первого курса пероральных антибиотиков, вполне вероятно, что данное лечение не обеспечило достаточных концентраций лекарственного средства в околосуставных мягких тканях, характеризующихся низкой степенью кровоснабжения (сухожильно-связочный аппарат), и не привело к полной элиминации спирохет. В этих случаях рекомендуется 2–4 недельный курс терапии цефтриаксоном.

У большинства больных ЛА на фоне антибактериальной терапии наблюдается явная положительная динамика, однако в 23% случаев может развиваться стойкий синовит, не реагирующий на терапию антибиотиками [25]. Данное состояние квалифицируется как «постантибиотический ЛА». Такие больные при удлинении сроков антибактериальной терапии не получают каких-либо преимуществ и должны быть направлены к ревматологу для исключения других причин артрита и отработки дальнейшей тактики ведения. По данным S. L. Arvikar и соавт. [26], из 32 взрослых больных АЛ, не ответивших на пероральную антибиотикотерапию, артрит разрешился в течение 1 мес. после завершения парентерального лечения только в 8 (25%) случаях. Из оставшихся больных 23 (96%) впоследствии получали т. н. болезнью-модифицирующие антиревматические препараты, включая гидроксихлорохин, метотрексат или ингибиторы фактора некроза опухоли- $\alpha$  с заметным улучшением, наступившим в течение нескольких месяцев [26].

## Персистирующие симптомы

В крупном плацебо-контролируемом исследовании, включавшем 78 серопозитвных и 51 серонегативного по боррелиозу больного с документированной, ранее пролеченной БЛ, но с сохранением стойкой скелетно-мышечной боли, нейрокогнитивных симптомов или дизестезии, часто в сочетании с утомляемостью, выполнена рандомизация для получения 30-дневного лечения цефтриаксоном с последующим 60-дневным

пероральным приёмом доксициклина [27, 28]. Через 30, 60 и 180 дней не было различий между группами лечения и плацебо, что оценивалось по тяжести симптомов и нейрокогнитивным показателям. Во втором плацебо-контролируемом испытании, включавшем 54 пациента, оценивали влияние 28-дневного внутривенного введения цефтриаксона на различные критерии исхода, включая утомляемость, боль и когнитивные функции [29]. Через 6 мес. наблюдения было отмечено улучшение показателей утомляемости по сравнению с исходным уровнем в группе лечения. По другим тестируемым показателям позитивную динамику не наблюдали [16]. В третьем испытании оценивали эффективность более длительной (10 нед.) терапии цефтриаксоном (23 пациента) и плацебо (14). При оценке когнитивного индекса на 24-й неделе различия между группами не выявлены [17]. В недавнем исследовании, включавшем 281 пациента (89% из которых ранее получали лечение антибиотиками по поводу БЛ), после 14-дневного лечения цефтриаксоном выполнена рандомизация, в соответствии с которой были сформированы три группы для 12-недельного курса лечения доксициклином, кларитромицином в сочетании с гидроксихлорохином или плацебо. Через 52 недели от начала терапии показатели качества жизни, связанные со здоровьем, между тремя группами существенно не различались [30]. Во всех исследованиях сообщалось о многочисленных побочных эффектах, включая осложнения, связанные как с антибиотиками, так и с внутривенными катетерами.

Исходя из вышеизложенного, пациентам, у которых после проведённого лечения БЛ наблюдаются стойкие или повторяющиеся неспецифические симптомы, такие как утомляемость, боль или когнитивные нарушения, но при этом отсутствуют объективные доказательства повторного инфицирования или неэффективности лечения (в частности, сохранение неврологической симптоматики или артрита), дополнительное назначение антибиотиков не рекомендуется.

## Кожные проявления Европейского варианта БЛ

К указанным проявлениям относят боррелиозную пимфоцитому и хронический атрофический акродерматит, которые в основном наблюдались у европейских пациентов, инфицированных *B.afzelii*. Этим пациентам комитет экспертов рекомендует антибактериальную терапию (см. табл. 2) как для разрешения симптоматики, так и предотвращения диссеминации инфекции в другие органы и ткани.

## Сопутствующие инфекции при БЛ

Клещи *Ixodes* — переносчики *B.burgdorferi* являются также носителями других инфекционных агентов, из которых наиболее часто идентифицируют возбудителей анаплазмоза и бабезиоза. Для лечения анаплазмоза препаратом выбора является доксициклин. При бабезиозе применяют комбинированную терапию (атовакон+азитромицин или клиндамицин+хинин) в течение 7–10 дней, а при наличии иммунных нарушений — вплоть до 6 нед. [31].

## Профилактика

Особое внимание в указанном документе уделяется профилактическим мероприятиям. Подчёркивается, что в отсутствие вакцин риск БЛ и других болезней, передаваемых клещами, можно снизить путём применения средств индивидуальной защиты и репеллентов.

Приём антибиотиков с профилактической целью должен быть назначен взрослым и детям в течение 72 ч после клещевого укуса «высокого риска», под которым понимается: а) идентифицированная принадлежность клеща к иксодовому виду, б) укус произошёл в высокоэндемичной по БЛ зоне, в) присасывание клеща продолжалось  $\geq 36$  ч. Антибиотикопрофилактика осуществляется однократным пероральным приёмом доксициклина в дозе 200 мг для взрослых и 4,4 мг/кг (максимум 200 мг) для детей. Данная схема обладает высокой эффективностью, простотой использования и относительно низким риском НЯ. Отмечается, что более длительные курсы могут повысить риск токсичности препарата. Применение других антибиотиков в разовых дозах для профилактики БЛ не изучено. Если укус клеща невозможно классифицировать как имеющий высокий риск, рекомендуется тактика выжидания, поскольку риск НЯ от воздействия антибиотиков в этих случаях может превышать возможную пользу (что с практической точки зрения представляется маловероятным). В то же время антибиотикопрофилактика не гарантирует полного предотвращения заражения. Поэтому всем больным следует настоятельно рекомендовать обратиться за медицинской помощью при появлении у них кожных эритематозных высыпаний, лихорадки или любых других необъяснимых симптомов, особенно в течение 30 дней после укуса клеща.

## Заключение

БЛ по-прежнему остаётся значимой социальной и клинической проблемой, требующей высокого индекса врачебной настороженности.

Изложенные в настоящей статье сведения о применении антибиотиков при БЛ, по всей вероятности, позволят практическим врачам амбулаторного звена избирать правильную так-

тику применения этих препаратов как с профилактической, так и с терапевтической целями и тем самым добиться повышения качества жизни пациентов.

## Литература/References

1. МЗ РФ. Клинические рекомендации. Болезнь Лайма у взрослых. 2016. Данные на сайте: <https://sudact.ru/law/klinicheskie-rekomendatsii-bolezn-lajma-u-vzroslykh-utv/klinicheskie-rekomendatsii/>. [MЗ RF. Klinicheskie rekomendacii. Bolezni' Lajma u vzroslykh. 2016. Available at: <https://sudact.ru/law/klinicheskie-rekomendatsii-bolezn-lajma-u-vzroslykh-utv/klinicheskie-rekomendatsii/> (in Russian)].
2. Lantos P.M., Rumbaugh J., Bockenstedt L.K. et al. Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America (IDSA), American Academy of Neurology (AAN), and American College of Rheumatology (ACR): 2020 Guidelines for the Prevention, Diagnosis and Treatment of Lyme Disease. *Clin Infect Dis.* 2021; 72 (1): 1–8. doi: 10.1093/cid/ciab049.
3. Lantos P.M., Auwaerter P.G., Wormser G.P. A systematic review of *Borrelia burgdorferi* morphologic variants does not support a role in chronic Lyme disease. *Clin Infect Dis.* 2014; 58 (5): 663–671. doi: 10.1093/cid/cit810.
4. Baker P.J., Wormser G.P. The Clinical relevance of studies on *Borrelia burgdorferi* persists. *Am J Med.* 2017; 130 (9): 1009–1010. doi: 10.1016/j.amjmed.2017.04.014.
5. Maraspin V., Bogović P., Rojko T. et al. Erythema migrans: Course and outcome in patients treated with rituximab. *Open Forum Infect Dis.* 2019; 6 (7): ofz292. doi: 10.1093/ofid/ofz292.
6. Maraspin V., Bogović P., Rojko T. et al. Early Lyme Borreliosis in patients treated with tumour necrosis factor- $\alpha$  inhibitors. *J Clin Med.* 2019; 8 (11): 1857. doi: 10.3390/jcm8111857.
7. Maraspin V., Ružič Sabljčić E., Lusa L., Strle F. Course and outcome of Early Lyme borreliosis in patients with hematological malignancies. *Clin Infect Dis.* 2015; 61 (3): 427–31. doi: 10.1093/cid/civ341.
8. Steere A.C., Grodzicki R.L., Kornblatt A.N. et al. The spirochetal etiology of Lyme disease. *N Engl J Med.* 1983; 308 (13): 733–740. doi: 10.1056/NEJM198303313081301
9. Steere A.C., Hutchinson G.J., Rahn D.W. et al. Treatment of the early manifestations of Lyme disease. *Ann Intern Med.* 1983; 99 (1): 22–26. doi: 10.7326/0003-4819-99-1-22.
10. Steere A.C., Batsford W.P., Weinberg M. et al. Lyme carditis: cardiac abnormalities of Lyme disease. *Ann Intern Med.* 1980; 93 (1): 8–16. doi: 10.7326/0003-4819-93-1-8.
11. Eliassen K.E., Reiso H., Berild D., Lindbæk M. Comparison of phenoxymethylpenicillin, amoxicillin, and doxycycline for erythema migrans in general practice. A randomized controlled trial with a 1-year follow-up. *Clin Microbiol Infect.* 2018; 24 (12): 1290–1296. doi: 10.1016/j.cmi.2018.02.028.
12. Luft B.J., Dattwyler R.J., Johnson R.C. et al. Azithromycin compared with amoxicillin in the treatment of erythema migrans. A double-blind, randomized, controlled trial. *Ann Intern Med.* 1996; 124 (9): 785–791. doi: 10.7326/0003-4819-124-9-199605010-00002.
13. Wormser G.P., Wormser R.P., Strle F. et al. How safe is doxycycline for young children or for pregnant or breastfeeding women? *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2019; 93 (3): 238–242. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2018.09.015.
14. Wormser G.P., Strle F., Shapiro E.D. Is doxycycline appropriate for routine treatment of young children with Erythema migrans? *Pediatr Infect Dis J.* 2019 Nov; 38 (11): 1113–1114. doi: 10.1097/INF.0000000000002453.
15. IDSA handbook on clinical practice guideline development, 2018. Available at: <https://idsociety.org.app.box.com/s/zumf91rnftiv9xfzos5eot9sg2tgg2fr>.
16. Klemperner M.S., Baker P.J., Shapiro E.D. et al. Treatment trials for post-Lyme disease symptoms revisited. *Am J Med.* 2013; 126 (8): 665–669. doi: 10.1016/j.amjmed.2013.02.014.
17. Fallon B.A., Keilp J.G., Corbera K.M. et al. A randomized, placebo-controlled trial of repeated IV antibiotic therapy for Lyme encephalopathy. *Neurology.* 2008; 70 (13): 992–1003. doi: 10.1212/01.WNL.0000284604.61160.2d.
18. Oksi J., Nikoskelainen J., Hiekkänen H. et al. Duration of antibiotic treatment in disseminated Lyme borreliosis: a double-blind, randomized, placebo-controlled, multicenter clinical study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2007; 26 (8): 571–581. doi: 10.1007/s10096-007-0340-2.
19. Dattwyler R.J., Luft B.J., Kunkel M.J. et al. Ceftriaxone compared with doxycycline for the treatment of acute disseminated Lyme disease. *N Engl J Med.* 1997; 337 (5): 289–294. doi: 10.1056/NEJM199707313370501.
20. Caperton E.M., Heim-Duthoy K.L., Matzke G.R. et al. Ceftriaxone therapy of chronic inflammatory arthritis. A double-blind placebo controlled trial. *Arch Intern Med.* 1990; 150 (8): 1677–1682.
21. Steere A.C., Green J., Schoen R.T. et al. Successful parenteral penicillin therapy of established Lyme arthritis. *N Engl J Med.* 1985; 312 (14): 869–874. doi: 10.1056/NEJM198504043121401.
22. Dattwyler R.J., Halperin J.J., Volkman D.J., Luft B.J. Treatment of late Lyme borreliosis—randomised comparison of ceftriaxone and penicillin. *Lancet.* 1988; 1 (8596): 1191–1194. doi: 10.1016/s0140-6736(88)92011-9.
23. Hassler D., Zöller L., Haude M. et al. Cefotaxime versus penicillin in the late stage of Lyme disease—prospective, randomized therapeutic study. *Infection.* 1990; 18 (1): 16–20. doi: 10.1007/BF01644175.
24. Steere A.C., Levin R.E., Molloy P.J. et al. Treatment of Lyme arthritis. *Arthritis Rheum.* 1994; 37 (6): 878–888. doi: 10.1002/art.1780370616.
25. Steere A.C., Angelis S.M. Therapy for Lyme arthritis: strategies for the treatment of antibiotic-refractory arthritis. *Arthritis Rheum.* 2006; 54 (10): 3079–3086. doi: 10.1002/art.22131.
26. Arvikar S.L., Crowley J.T., Sulka K.B., Steere A.C. Autoimmune arthritides, rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis, or peripheral spondyloarthritis following Lyme disease. *Arthritis Rheumatol.* 2017; 69 (1): 194–202. doi: 10.1002/art.39866.
27. Klemperner M.S., Hu L.T., Evans J. et al. Two controlled trials of antibiotic treatment in patients with persistent symptoms and a history of Lyme disease. *N Engl J Med.* 2001; 345 (2): 85–92. doi: 10.1056/NEJM200107123450202.
28. Kaplan R.F., Trevino R.P., Johnson G.M. et al. Cognitive function in post-treatment Lyme disease: do additional antibiotics help? *Neurology.* 2003; 60 (12): 1916–1922. doi: 10.1212/01.wnl.0000068030.26992.25.
29. Krupp L.B., Hyman L.G., Grimson R. et al. Study and treatment of post Lyme disease (STOP-LD): a randomized double masked clinical trial. *Neurology.* 2003; 60 (12): 1923–30. doi: 10.1212/01.wnl.0000071227.23769.9e.
30. Patel R., Grogg K.L., Edwards W.D. et al. Death from inappropriate therapy for Lyme disease. *Clin Infect Dis.* 2000; 31 (4): 1107–1109. doi: 10.1086/318138.
31. Krause P.J., Auwaerter P.G., Bannuru R.R., Branda J.A., Falck-Ytter Y.T., Lantos P.M. et al. Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America (IDSA): 2020 Guideline on Diagnosis and Management of Babesiosis. *Clin Infect Dis.* 2021; 72 (2): 185–189. doi: 10.1093/cid/ciab050.

## Информация об авторах

Белов Борис Сергеевич — д. м. н., заведующий лабораторией коморбидных инфекций и мониторинга безопасности лекарственной терапии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В. А. Насоновой», Москва, Российская Федерация

Ананьева Лидия Петровна — д. м. н., профессор, заведующая лабораторией микроциркуляции и воспаления, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В. А. Насоновой», Москва, Российская Федерация

## About the authors

Boris S. Belov — D.Sc. in medicine, Research Institute of Rheumatology named after V. A. Nasonova of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

Lidiya P. Ananyeva — D. Sc. in medicine, Professor, Research Institute of Rheumatology named after V. A. Nasonova of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

# Новое поколение пробиотиков — психобиотики, их назначение и функции

С. Д. ДБАР, \*Л. Г. СТОЯНОВА

ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова», Москва, Российская Федерация

## A New Generation of Probiotics — Psychobiotics, Their Purpose and Functions

SARIYA D. DBAR, \*LIDIA G. STOYANOVA

Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

### Резюме

Представлен обзор литературы о этиологической роли микробиома в терапии депрессивных расстройств на основании анализа 98 источников литературы за 2000–2020 гг. из которых 35 отечественных и 63 зарубежных источников. Обоснованы доказательства того, что кишечный микробиом может представлять новую потенциальную антидепрессантную мишень. Появление нового класса пробиотиков (психобиотиков) и возможное психобиотическое лечение, могут стать многообещающей стратегией для улучшения качества жизни людей, страдающих нейродегенеративными заболеваниями и нарушениями развития нервной системы.

**Ключевые слова:** ось «микробиота–кишечник–мозг»; пробиотики; психобиотики; нервная система; нейродегенеративные заболевания; дофамин; норадреналин; серотонин

**Для цитирования:** Дбар С. Д., Стоянова Л. Г. Новое поколение пробиотиков — психобиотики, их назначение и функции. *Антибиотики и химиотерапия*. 2021; 66: 9–10: 64–78. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-9-10-64-78.

### Abstract

A review of the literature on the etiological role of the microbiome in the treatment of depressive disorders is presented based on an analysis of 98 literature sources for 2000–2020, of which 35 are domestic and 63 are foreign. Evidence is substantiated that the gut microbiome may represent a new potential target of antidepressant therapy. The emergence of a new class of probiotics (psychobiotics), as well as possible psychobiotic treatments, could be a promising strategy for improving the quality of life of people suffering from neurodegenerative diseases and developmental disorders of the nervous system.

**Keywords:** microbiota–gut–brain axis; probiotics; psychobiotics; nervous system; neurodegenerative diseases; dopamine; norepinephrine; serotonin

**For citation:** Dbar S. D., Stoyanova L. G. A new generation of probiotics — psychobiotics, their purpose and functions. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2021; 66: 9–10: 64–78. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-9-10-64-78.

## Введение

За миллионы лет эволюции человек отбирал из природы представителей таких видов симбиотических микроорганизмов, которые по своим физико-химическим и биологическим характеристикам (валентности, изотопному состоянию, структурной ( $\alpha$ -,  $\beta$ ,  $\gamma$ -), стереоизомерной (L-, D-) форме молекулы, растворимости, дисперсности,

состоянию окисления, периоду полувыведения, безопасности в определённой дозе, длительности применения и другим параметрам) наиболее соответствуют здоровому организму [1, 2].

В организме млекопитающих, включая человека, микробиота выступает как особый «микробный орган», участвующий прямо или опосредованно практически во всех физиологических функциях: биохимических и сигнальных реак-

© С. Д. Дбар, Л. Г. Стоянова, 2021

\*Адрес для корреспонденции: Ленинские горы, 1, стр. 12, Биологический факультет МГУ им. М. В. Ломоносова г. Москва, Российская Федерация, 119234. E-mail: stoyanovamsu@mail.ru

© S. D. Dbar, L. G. Stoyanova, 2021

\*Correspondence to: 1 bld 12 Leninskie Gory, Faculty of Biology of the Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119234 Russian Federation. E-mail: stoyanovamsu@mail.ru

циях (морфокинетическое действие), регулирует газовый состав полостей и водно-солевой обмен, в метаболизме белков, жиров и углеводов; обеспечивает клетки и ткани энергией, продуцирует низкомолекулярные соединения различной химической природы, стабилизирует метагеном, регулирует запрограммированную гибель эукариотических клеток (апоптоз), репликацию и фенотипическую экспрессию генов, эпигеномные и посттрансляционные реакции прокариотических и эукариотических клеток, рециркуляцию желчных кислот и других макромолекул, участвует в мутагенной/антимутагенной и оксидантно/антиоксидантной активности, принимает участие в иммунной и детоксикационной функциях, в поведенческих реакциях, в обмене информации между прокариотическими и/или эукариотическими клетками хозяина, является хранилищем генетического материала, участвует в этиопатогенезе заболеваний и т. д. [3, 4].

Кишечная микробиота, перерабатывая эндогенные источники, возвращает все необходимые компоненты. Именно благодаря этой ежедневной рециркуляции частично или полностью покрывается хронический дефицит многих важнейших нутриентов. До 500 г пищевых и эндогенных субстратов ежедневно подвергаются микробной метаболизации в пищеварительном тракте человека [5]. Представители комменсальной и симбиотической микробиоты продуцируют более двух десятков только различных антимикробных субстанций (молочная, уксусная, масляная, бензойная и другие органические кислоты, перекись водорода, диоксид углерода, оксид азота, диацетил, бактериоцины, микроцины, антибиотики, дефензин-схожие пептиды, лизоцим, биосурфактанты, лектины и др.) [6, 7], способных расщеплять многие растительные компоненты, поступающие с пищей (полифенолы, полисахариды, олигосахариды) до биологически активных молекул, которые активно участвуют в различных функциях и реакциях человека, обеспечивая организм хозяина витаминами, короткоцепочечными жирными кислотами, а также пептидами, биогенными аминами и аминокислотами, многие из которых являются нейромедиаторами или участвуют в их синтезе [1, 8].

Пробиотики — это живые микроорганизмы, оказывающие благоприятный эффект на физиологические функции и биохимические реакции организма-хозяина через оптимизацию его макроэкологического статуса [9, 10]. Применение пробиотиков может оказывать следующее воздействие на организм хозяина: улучшение свойств эндогенной микробиоты кишечника за счёт поддержания её микробного баланса, противодействие локальным иммунологическим дисфункциям, стабилизация желудочной мукозной барьерной функции, предотвращение инфи-

цирования патогенными микроорганизмами, влияние на кишечный метаболизм. Пробиотики помогают предотвратить и/или снять различные расстройства, такие как диарея, чувствительность к лактозе, воспаление кишечника, желчного пузыря, пищевая аллергия, обладают антиканцерогенной, антимутагенной активностью и бактерицидным действием на грамотрицательные патогенные и условно-патогенные микроорганизмы, к которым относятся и клебсиеллы [11], должны обладать колонизационным потенциалом, то есть сохраняться в пищеварительном тракте до достижения максимального положительного действия, они должны быть устойчивыми к низким значениям pH, желчным кислотам, антимикробным веществам, хорошо адгезироваться к эпителию соответствующих слизистых оболочек [12].

Психическое состояние организма, особенно при стрессе, оказывает длительное влияние на кишечную микробиоту. Стресс увеличивает проницаемость кишечника и модулирует рост как непатогенных, так и патогенных бактерий через эффекты дофамина, адреналина и норадреналина, продуцируемые хозяином. Важно, что адреналин и норадреналин также модулируют экспрессию генов бактериальной вирулентности. Кишечный микробиом является ключевым компонентом этой оси. Кишечные бактерии могут связываться с мозгом различными путями, включая гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую ось, иммунную модуляцию, метаболизм триптофана и выработку различных нейроактивных соединений [13, 14].

Для экосистемы желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) человека наиболее важными видами микроорганизмов являются молочнокислые бактерии (МКБ), так как они являются постоянными обитателями ЖКТ, а также бактериальной основой и/или закваской разнообразных продуктов питания.

Первое предположение о возможности использовать представителей нормальной микробиоты в терапии депрессивных расстройств сделано в 1923 г. доктором Филлипсом, который отмечал улучшение настроения у пациентов с меланхолией после курса лечения живыми молочнокислыми бактериями в желатиновых капсулах, хотя роль первооткрывателя общих позитивных эффектов применения продуктов, содержащих живых представителей нормальной микробиоты принадлежит И. И. Мечникову [15].

В 2001 г. интерес психиатров к желудочно-кишечному дискомфорту и нарушениям микроэкологии кишечника у пациентов возобновился после того, как доктором D. Benton [16] было отмечено существование корреляции между частотой запоров и сниженным настроением. В 2005 г. Alan Logan и Martin Katzman предположили, что пробиотики могут выступать в качестве средства

адьювантной терапии депрессии благодаря своей способности подавлять низкоуровневое воспаление, участвовать в антиоксидантной защите организма и стимулировать выработку BDNF — нейротрофического фактора мозга, вовлечённого в процессы роста и развития нейронов и патогенез тревоги и депрессии [17].

## Ось «микробиота–кишечник–мозг»

Традиционно считается, что микробиом кишечника имеет несколько основных функций: защищает организм от колонизации патогенных микроорганизмов; укрепляет эпителиальный кишечный барьер; способствует абсорбции веществ и улучшению метаболизма. На сегодняшний день результаты идентификации микроорганизмов, входящих в состав микробиоты, позволили сделать ряд открытий и привели к пониманию микробиоты как одного из условий нормы и патологии организма хозяина, при этом микробиота кишечника представляет особый интерес ввиду сложности качественного и количественного состава, а также многообразия выполняемых функций, что позволило ещё в начале 20 века И. И. Мечникову сравнить микробиоту с печенью и предложить рассматривать в качестве отдельного органа [18].

В последние годы уделяется особое внимание изучению двунаправленной системы коммуникаций между микробиотой кишечника и мозгом, выделенных в ось микробиота–кишечник–мозг, которая оказалась ключевым игроком в начальной фазе развития нервной системы [3].

Известно о существовании связей между нарушением ранней бактериальной колонизации или микроэкологии кишечника с заболеваниями системы иммунитета, болезнями системы кровообращения, ожирением, сахарным диабетом 2 типа, нейродегенеративными заболеваниями, аутизмом, синдромом хронической усталости, синдромом дефицита внимания с гиперактивностью [19].

Около 10–15% человек во всем мире страдает от синдрома раздражённого кишечника (СРК). Этиопатогенез заболевания сложен, поскольку в его формировании, как правило, задействован ряд этиологических факторов, запускающих несколько патофизиологических механизмов [20]. Среди наиболее обсуждаемых в литературе аспектов выделяются: личностные психологические аспекты; генетическая предрасположенность; факторы питания; развитие висцеральной гиперчувствительности; нарушения моторной активности; изменения в нейроэндокринной системе (ось «головной мозг–кишечник»); повышение проницаемости кишечника; развитие воспаления «низкой степени активности» и нарушение состава кишечной микробиоты [21].

Исследования последних десятилетий также показали роль микробиоты в развитии воспалительных заболеваний кишечника. Было установлено, что нарушения микроэкологии кишечника связаны с синдромом раздражённого кишечника и другими хроническими воспалительными заболеваниями кишечника, что обуславливает эффективность пробиотиков в их комплексной терапии [22]. Имеются доказательства, подтверждающие гипотезу о различии состава пристеночной и внутрипросветной микробиоты среди конкретных подгрупп пациентов с СРК и здоровых лиц [23–25]. С помощью метода секвенирования 16S рРНК продемонстрировано, что у пациентов с СРК уменьшается разнообразие микробной популяции, изменяется доля конкретных бактериальных групп и степень варибельности состава микробиоты [26]. У пациентов с СРК наблюдается сокращение бактерий рода *Clostridium* и лактобактерий [27–29]. Гомеостаз микробиоты является определяющим для адекватного функционирования кишечного барьера, нарушения которого играют важную роль на всех уровнях оси «микробиота–кишечник–мозг» [30, 31]. Термин «микробиота–кишечник–мозг» чётко демонстрирует корреляционную взаимосвязь основных функциональных составляющих СРК [32, 33].

С другой стороны, давно отмечено, что кишечные инфекции и хронические воспалительные заболевания сопровождаются тревожными, депрессивными расстройствами, нарушениями когнитивной сферы у 60% пациентов, а причина запоров — в депрессии, на что обратил внимание ещё Гиппократ [34]. Возможно, именно это послужило основой первых исследований, направленных на изучение влияния микробиоты на развитие тревожных и депрессивных расстройств и оценку терапевтического потенциала пробиотиков в отношении этих психических расстройств.

Кишечник получает регуляторные сигналы от ЦНС и наоборот, поэтому возник термин «кишечно-мозговая ось» (КМО), который включает в себя афферентные и эфферентные нервные, эндокринные, иммунологические и пищевые связи между ЖКТ и ЦНС [35–38]. Основной особенностью данного понятия является двунаправленное взаимодействие с различными механизмами регуляции. КМО работает через центральную регуляцию сытости. Изменение структуры рациона питания и контроль потребления пищи со стороны ЦНС влияют на доступность питательных веществ кишечной микробиоты и её состав. Сигнальные пептиды насыщения (СПН) — это ключевые молекулярные посредники управления оси [39]. Эти пептиды, в частности пептид YY (pYY), транспортируются через кровь в мозг после приёма пищи, чтобы подать сигнал сытости ор-

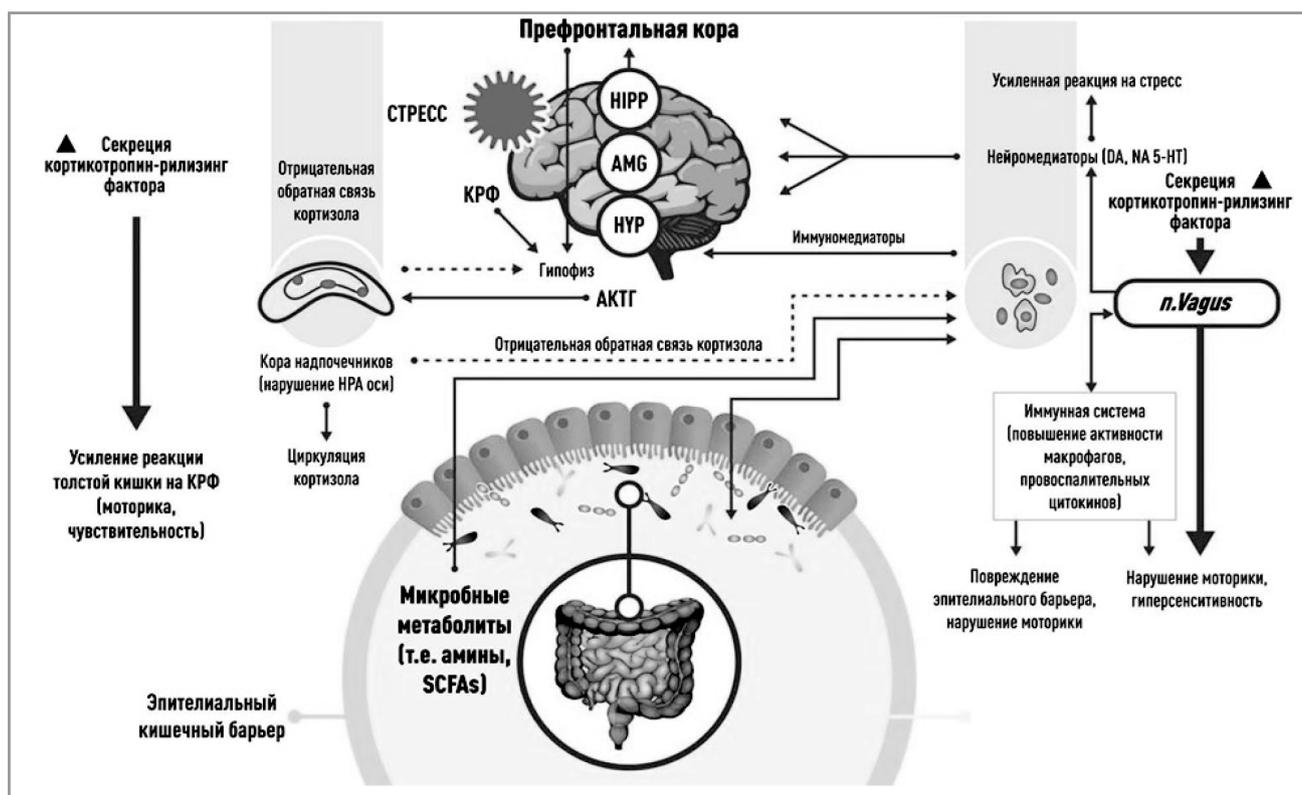


Рис. 1. Модель взаимодействия оси «микробиота–кишка–мозг» [21].

**Примечание.** HIPP — гиппокамп; AMG — амигдала; HYP — гипоталамус; АКТГ — адренокортикотропный гормон; КРФ — кортикотропин-рилизинг фактор; DA — дофамин; NA — норадреналин; 5-НТ — 5-гидрокситриптамин (серотонин).

**Fig. 1.** Microbiota–gut–brain axis model of interaction [21].

**Note.** HIPP — hippocampus; AMG — amygdala; HYP — hypothalamus; ACTH — adrenocorticotrophic hormone; CRF — corticotropin-releasing factor; DA — dopamine; NA — noradrenaline; 5-HT — 5-hydroxytryptamine (serotonin).

ганизма. СПН в основном образуются в ЖКТ, а также синтезируются в головном мозге. ЦНС может влиять на микробиом кишечника через нервные и эндокринные пути как прямым, так и косвенным образом. Связь между кишечником и мозгом осуществляется посредством формирования сенсорной информации в периферических отделах (кишечник) и её перемещения в центральные структуры (ЦНС). Каждый стимул от чревных висцеральных афферентов проходит по внутренней энтеральной нервной системе, принимается в задних (дорсальных) рогах спинного мозга и передаётся по супраспинальным проводящим путям до окончательного болевого восприятия корой головного мозга [40–42]. Взаимодействие между центральными и периферическими областями оси происходит посредством большого количества нейромедиаторов и иммуномедиаторов, эндокринных медиаторов (рис. 1).

Измененная микробиота вызывает активацию иммунной системы, продукцию провоспалительных цитокинов. В ответ на стимулы нейромедиаторов, иммуномедиаторов из гипоталамуса выделяется кортикотропин-рилизинг-фактор

(КРФ), который стимулирует переднюю долю гипофиза с увеличением синтеза адренокортикотропного гормона (АКТГ). АКТГ, в свою очередь, стимулирует высвобождение из коры надпочечников кортизола, который изменяет кишечный барьер и влияет на гипоталамус (HYP), амигдалу (AMG), гиппокамп (HIPP). Эти эффекты приводят к изменениям моторики и болевого восприятия кишечника, нарушению эпителиального барьера и выработке нейротрансмиттеров с повышенным ответом на стрессовые события. В свою очередь, стрессовые факторы могут спровоцировать выработку системных провоспалительных цитокинов, активирующих гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую ось, изменяющую посредством последовательных нейроиммунных и гормональных реакций сенсорно-моторные функции и состав кишечной микробиоты [43].

## Исследование нейромедиаторной активности

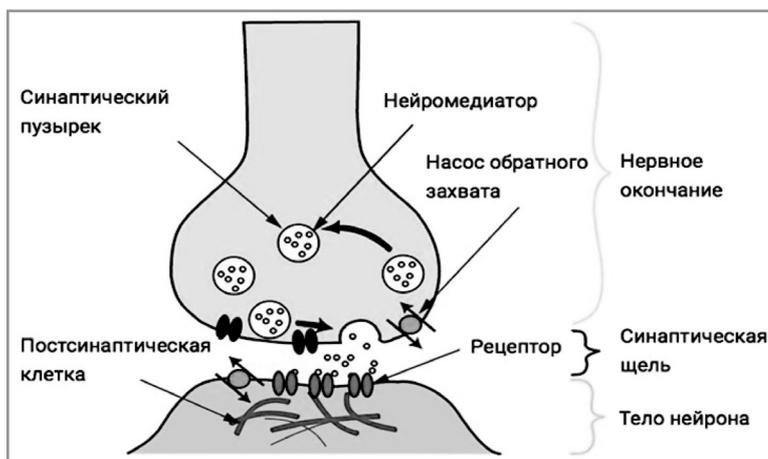
Одна из важных частных задач в рамках популяционно-коммуникативного исследователь-

ского направления касается выяснения роли эволюционно консервативных информационных молекул. Помимо широко известных примеров, таких как АТФ, ГТФ, цАМФ, цГМФ, на роль эволюционно-консервативных регуляторных соединений ныне претендуют соединения, выполняющие в организме животных (человека) функции нейротрансмиттеров, или нейромедиаторов, т. е. переносчиков импульсов между нервными клетками (нейронами). Медиатор выделяется из отростка нейрона (аксона), образующего контакт с клеткой-мишенью — мышечной, железистой, другим нейроном. Медиатор действует точно, только на эту клетку, изменяя её активность не более чем на несколько секунд [44].

Контакт аксона нейрона со следующей клеткой, в котором функционируют медиаторы, называют синапсом (рис. 2). Срабатывание синапса происходит, когда по аксону приходит электрический импульс, сигнализирующий о важном сенсорном раздражителе, например боли, эмоциях, принятых мозгом решениях. Выделившись из окончания аксона, медиатор воздействует на рецепторы — чувствительные белки, расположенные на поверхности клетки-мишени. В случае норадреналина такие рецепторы подразделяются на два типа: альфа и бета, различающиеся по скорости срабатывания, а порой и по знаку эффекта: это либо возбуждение, либо торможение следующей клетки [46].

Исследование роли катехоламинов, например норадреналина (НА) и дофамина (ДА), серотонина, а также их предшественников в регуляции гипоталамо-гипофизарного звена репродуктивной функции представляет не только теоретический интерес, но имеет большое значение для понимания механизмов нарушения нормального функционирования репродуктивной системы при различных патологических состояниях, старении, а также при воздействии на организм неблагоприятных факторов внешней среды [47].

Известно, что лактобактерии используют нитрат и нитрит для образования оксида азота и сероводорода, которые модулируют моторику кишечника путём взаимодействия с ванилоидными рецепторами (которые также задействованы в процессах восприятия боли), на капсаицин-чувствительные нейроны, что в итоге приводит к нормализации моторной функции кишечника и снижению болевой чувствительности — одного из проявлений и измеряемого в исследованиях эквивалента тяжести течения младенческих кишечных коликов. Моторная функция кишечника регулируется и посредством других механизмов,



**Рис. 2.** Схема строения синапса химической передачи [45].  
**Fig. 2.** Structural diagram of the chemical transmission synapse [45].

в частности через нейромедиаторы, важными из которых являются биогенные амины. Катехоламины (дофамин, адреналин и норадреналин) — синтезируются из L-тирозина в различных отделах мозга, надпочечниках, некоторых симпатических волокнах. В организме человека адреналин и норадреналин являются нейротрансмиттерами и гормонами, отвечающими за развитие стресс-реакции. Следует отметить, что особый интерес представляет роль кишечной микробиоты в обмене серотонина.

**Серотонин** — это нейромедиатор и гормон, который принимает участие в регуляции памяти, сна, пищевого поведения и эмоциональных реакциях. Большая часть серотонина образуется в энтерохромаффинных клетках кишечника и только 10% — в серотонинергических нейронах эпифиза после проникновения триптофана через гематоэнцефалический барьер путём активного транспорта. Из триптофана синтезируется важнейший эндогенный адаптоген — мелатонин, обладающий широким спектром положительных эффектов, включая регуляцию циркадных ритмов, что обусловило создание группы антидепрессантов с механизмом действия, основанном на мелатонинергическом агонизме [48]. Серотонин, будучи нейротрансмиттером, вовлечён в регуляцию сна, аппетита, настроения, обучения, памяти, а также в работу пищеварительной, дыхательной и сердечно-сосудистой систем и системы гемостаза. Низкая активность серотонинергической системы головного мозга считается важнейшим нейробиологическим субстратом тревоги и депрессии и является мишенью для антидепрессантов с механизмом действия, основанном на селективном подавлении обратного захвата серотонин. Серотонин облегчает двигательную активность, благодаря усилению секреции субстанции P в окончаниях сенсорных нейронов путём воздействия на ионотропные и метаботропные рецепторы [17].

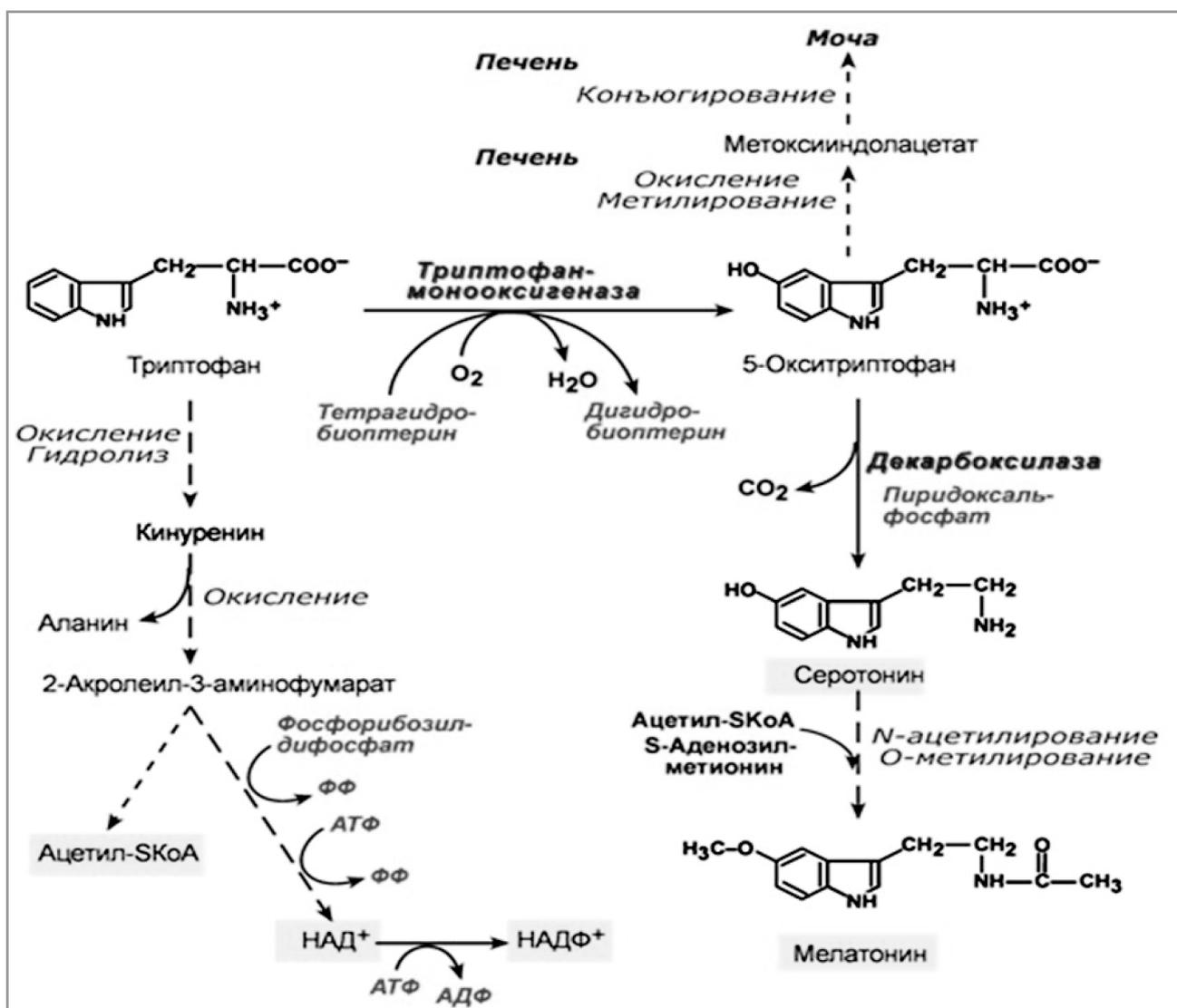


Рис. 3. Пути превращения триптофана [49].  
Fig. 3. Pathways of tryptophan conversion [49].

Однако из триптофана может образовываться не только серотонин. Выделяют три пути биосинтеза из триптофана — кинурениновый, серотониновый и индолевый (рис. 3). На равновесие в данной системе могут оказывать влияние как уровень стресса (и, следовательно, кортизола), так и состояние кишечной микробиоты. Некоторые виды симбиотических бактерий обладают способностью декарбоксилировать триптофан, превращая его в серотонин. Повышенный вследствие стрессового воздействия уровень кортикостероидов активизирует фермент триптофан-пирролазу, которая переводит обмен триптофана на кинурениновый путь, что приводит к снижению синтеза серотонина. Повышенный уровень кинуренина обычно отмечается у пациентов, страдающих от депрессии и синдрома тревожности, а также у пациентов с болезнью Альцгеймера и мигренью. В то же время приём определённых пробиотиков связан с бо-

лее низким уровнем кинуренина и повышением уровня серотонина [49].

**Дофамин (ДА)** необходим для поддержания общего уровня двигательной активности, бодрствования мозга, высокого тонуса центров сенсорного восприятия, управлением движениями, памяти, эмоций, для точного выполнения моторных программ и блокировки произвольных движений. Уровень ДА влияет на активность гипоталамуса и гипофиза. У млекопитающих ДА выполняет роль гормона-антагониста пролактина, необходимого в свою очередь для выделения молока клетками грудной железы. В то же время ДА — важный нейротрансмиттер. Он служит переносу импульса от нейрона к нейрону через синаптические щели. ДА распространён как синаптический медиатор в трёх отделах головного мозга: чёрной субстанции, покрышке среднего мозга и в различных ядрах гипоталамуса. При этом вещество практически не встречается в периферической нервной си-

стеме. Активность ДА обусловлена его связыванием с D-рецепторами пяти подтипов (D1-5), которые сопряжены с G-белками. Последние активируют (рецепторы D1 и D5) или, наоборот, ингибируют (рецепторы D2-4) аденилатциклазу, соответственно повышая или понижая уровень внутриклеточного циклического аденозинмонофосфата (цАМФ). Самые распространённые — рецепторы D1 и D2. Недавно описанный дополнительный рецептор TAAR1 (trace amine-associated receptor 1 — рецептор следовых аминов 1) также действует на активность внутриклеточной аденилатциклазы. Препараты, повышающие уровни ДА в мозге, являются стимуляторами физической и психической активности человека, некоторые из этих препаратов приобрели также статус наркотиков (например, амфетамины, стимулирующие выделение ДА в синаптическую щель) [50].

**Норадреналин (НА)** — другой важнейший нейромедиаторный катехоламин — представляет собой гормон мозгового вещества надпочечников (в этой роли он выступает в кооперации с адреналином) и нейромедиатор нервных окончаний симпатической вегетативной и центральной нервной системы. Действие НА связано с влиянием на адренорецепторы (преимущественно на  $\beta$ 1-адренорецепторы, хотя он связывается и с  $\alpha$ -адренорецепторами). Гормон НА оказывает сосудосуживающее действие, повышая кровяное давление, что применяется в практике реанимации, он же расширяет бронхи (чтобы мы лучше дышали), тормозит желудочно-кишечный тракт и так далее. Действие НА на сердце связано со стимулирующим его влиянием на адренорецепторы сердечной мышцы, что приводит к увеличению сердечного выброса. Гормональное влияние НА как фактора стрессового ответа дополняется его нейротрансмиттерным эффектом, направленным на мобилизацию мозга при стрессе. Нейромедиаторная роль НА сводится к активации ЦНС и повышению уровня двигательной активности, снижению уровня тревожности и повышению агрессивности [51].

Вместе с адренокортикотропным гормоном, кортикостеронами, кортизолом, адреналин и норадреналин являются основными продуктами активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси (ГГНО), дисфункция которой сопровождается гиперактивностью симпатической нервной системы, что наблюдается у пациентов с депрессией и тревогой. Что касается дофамина, то известно несколько дофаминовых путей в нейротрансмиссии, один из которых является частью так называемой «системы внутреннего подкрепления», отвечающей за позитивное настроение как вознаграждение за достижение результата. Различные психологические награды увеличивают уровень дофамина в мозге, таким же образом действуют и некоторые

психоактивные вещества [52]. Влияние адреналина и норадреналина на кишечную микробиоту заключается в усилении роста и вирулентности условно-патогенных бактерий, что, возможно, является одной из причин изменения кишечной микробной композиции у людей в стрессовых условиях. Подавляя выработку IgA, стимулируя перистальтику и выделение желчи, они способствуют увеличению популяции анаэробных бактерий *Bacteroides* и представителей патогенной микробиоты [52]. Пробиотики, как оказалось, снижают активность ГГНО, что приводит к нормализации концентрации стресс-гормонов у пациентов и их расслаблению [53].

Серотонин наряду с дофамином играет важную роль в механизмах гипоталамической регуляции гормональной функции гипофиза. Стимуляция серотонинергических путей, связывающих гипоталамус с гипофизом, вызывает увеличение секреции пролактина и некоторых других гормонов передней доли гипофиза — действие, противоположное эффектам стимуляции дофаминергических путей. Серотонин также участвует в регуляции сосудистого тонуса. Учитывая функции серотонина, интересно отметить, что в полосатом теле и гиппокампе GF-мышей обмен серотонина ускорен. Существуют данные о том, что в основе антидепрессивного и анксиолитического эффектов пробиотиков может лежать микробный синтез триптофана, поскольку было доказано, что у пациентов, страдающих депрессией, снижена секреция мелатонина и серотонина. Хотя биогенные амины микробного происхождения слабо проникают через барьер слизистой оболочки внутренних органов, они, взаимодействуя с энтеральной нервной системой, могут передавать сигнальные вещества через блуждающий нерв и таким образом оказывать влияние на головной мозг [54].

Есть данные о том, что катехоламины повышают степень адгезии микробиоты ЖКТ к слизистой кишечника и способствуют формированию биоплёнок. Существенная стимуляция образования биоплёнок наблюдалась у обитателя кожных покровов (обнаруживаемого и в ЖКТ) *S.epidermidis*. У патогенных бактерий катехоламины, кроме пролиферации клеток, стимулируют образование токсинов, адгезинов и других факторов вирулентности [55]. Так, норадреналин усиливает адгезию патогенного энтерогеморрагического штамма *E.coli* (EHEC) к слизистой слепой, поперечно-ободочной и тощей кишки [56]. Таким образом, микроорганизмы предстают перед нами как способные к коммуникации живые организмы с достаточно развитой социальной организацией, наиболее ярко проявляющейся в создании спаянных межклеточных биополимерным матриксом биоплёнок. Коммуникационные сигналы микроорганизмов, включая и quorum sens-

ing-феромоны, играют весьма важную роль не только в «общении» микробных клеток, но и в диалоге между ними и организмом-хозяином [57].

## Микробиота и рецепторы распознавания образов

Баланс врождённых сигнальных механизмов в кишечнике имеет решающее значение как для гомеостаза и целостности микробиоты, так и для поддержания нейроиммунной функции желудочно-кишечного тракта [57, 58]. Сигналы об обнаружении патогенов организм получает через семейства рецепторов, получивших название «рецепторы распознавания образов» (pattern recognition receptors — PRR<sub>s</sub>), которые распознают связанные с патогенами молекулярные структуры и индуцируют продукцию эффекторных молекул [26]. Эти сигнальные рецепторы подразделяют на три семейства: толл-подобные рецепторы (TLR), I-подобные рецепторы, индуцируемые ретиноевой кислотой, и нод-подобные рецепторы (NOD). Семейство TLR, включающее 13 рецепторов, охарактеризованы в настоящее время наилучшим образом. Рецепторы распознавания образов участвуют в обнаружении патогенных микроорганизмов и вызывают врождённый иммунный ответ. В частности, TLR реагируют на микробные лиганды и их сигналы, полученные организмом при инфицировании, инициируют комплекс реакций, активирующих иннантный (неспецифический) и адаптивный иммунитет [59]. Каскад последовательных событий объединяет пролиферацию эпителиальных клеток, секрецию IgA в просвет кишечника и продуцирование  $\alpha$ -дефенсинов,  $\beta$ -дефенсинов, а также других бактерицидных веществ, называемых антимикробными пептидами [60]. Установлено, что микробиота кишечника посредством PRR<sub>s</sub> способна модулировать экспрессию генов, участвующих в воспалительных и болевых реакциях, а также в производстве антимикробных пептидов [61]. В свою очередь, состояние PRR<sub>s</sub> тесно связано со структурой и спектром кишечной микробиоты. На мышинной модели показано, что дефицит NOD2 и TLR5 сопровождается изменением состава микробиоты, а комменсальная микробиота, в свою очередь, модифицирует экспрессию TLR4 и TLR7, что сопряжено с нарушением кинетической активности и чувствительности толстой кишки.

TLR2 имеет наиболее широкий спектр специфичности, данный рецептор связывается с липопотеинами грамположительных и грамотрицательных бактерий, пептидогликаном и липотейхоевыми кислотами грамположительных бактерий и грибным зимозаном. Рецептор tlr4 распознаёт липополисахариды клеточной

стенки грамотрицательных бактерий, а tlr3 и tlr7 — вирусную РНК. Взаимодействие tlr с патогенными микробами индуцирует выработку провоспалительных цитокинов [62].

## Микробиота и заболевания ЦНС

В эндокринном пути микробиом кишечника играет роль в развитии регуляции ГГНО, которая имеет важное значение в стрессовых и иммунных реакциях. Связь иммунной системы и ЦНС опосредуется системной циркуляцией иммунных факторов, которые связаны с депрессией. Такие факторы, как С-реактивный белок, IL-1, IL-6 являются периферическими маркерами воспаления и характерны при депрессии. Функция метаболического пути заключается в улучшение метаболизма благодаря КМО. Нарушение регуляции серотонинергических реакций и обмена триптофана микробиотой вызывает патологическое состояние в нервной системе организма, в частности, аутизм, болезнь Хантингтона, болезнь Альцгеймера, рассеянный склероз [63, 64].

Стресс вызывает изменение микробиоты, что влечёт за собой появление дефектов эпителиального барьера и последующую активацию тучных клеток слизистых оболочек. Высвобождение сигнальных молекул, цитокинов и противовоспалительных пептидов в просвет кишечника происходит с помощью нейронов, энтероэндокринных и иммунных клеток, клеток Панета, которые находятся в прямой или косвенной связи с ЦНС и влияют на кишечную микробиоту [65].

Обнаружена связь между травмой мозга и количественными изменениями состава микробов в ЖКТ человека, и специалисты попытались детально проследить эту взаимосвязь и определить природу процесса. Проводя эксперименты с травмой головного мозга у белых мышей, исследователи установили, что после полученной травмы, толстая кишка белых мышей становилась более «проницаемой», а в этом случае бактериям проще перемещаться из кишечника в другие ниши организма, что может привести к тяжёлым осложнениям и даже к летальному исходу, например, при заражении крови. Также отмечалось, что нарушения в работе кишечника влияют на воспалительные процессы, происходящие в мозге после черепно-мозговой травмы. После того, как мышам с искусственно смоделированной травмой головы внесли определённые таксоны кишечных бактерий, у них значительно усугубилось воспаление мозга. Данное исследование может объяснить, почему пациенты с травмой головы, в 2,5 раза чаще умирают от проблем с ЖКТ, по сравнению с людьми без подобных травм [66].

Многие исследования подчёркивают важность микробиома при развитии различных заболеваний ЦНС, которые можно классифицировать в соответствии с основными этиологиями на иммунно-опосредованные аутоиммунные заболевания, в частности рассеянный склероз, и неиммунно-опосредованные нейropsychиатрические заболевания, такие как аутизм, депрессия и стресс [67]. В последние годы ведутся активные работы по изучению положительного влияния МКБ на функционирование нервной системы человека и животных [68].

Расстройство аутистического спектра (РАС) представляет собой комплекс нервно-поведенческих расстройств развития, нарушение социального взаимодействия и коммуникации. Научные исследования показали связь между микробиомом кишечника и РАС в прямой причинно-следственной связи или косвенной, как следствие атипичного питания. Нарушение микробиоты кишечника способствует чрезмерной колонизации нейротоксин-продуцирующих бактерий, что и вызывает аутистические симптомы. Депрессия является одной из основных форм расстройств настроения в результате нервно-психических нарушений. Группа учёных постулирует, что *Clostridium tetani* вызывает аутизм. Клинические исследования показали, что дисбаланс представителей рода *Bacteroides*, а также типа *Firmicutes* проявляются у детей с РАС. У здоровых пациентов доминируют фирмикутные бактерии, а у людей с патологией преобладают бактероиды [66].

Существуют разногласия относительно отношения пробиотиков к группе лекарственных средств, пищевым продуктам, либо пищевым добавкам. При приёме внутрь далеко не все пробиотики достигают кишечника жизнеспособными из-за повреждающего действия желудочного сока, однако установлено, что при попадании даже погибших пробиотических микроорганизмов в кишечник цитозин-фосфат-гуанозиновые последовательности их ДНК распознаются антигенпрезентирующими клетками и вызывают специфические эффекты [69].

Бактерии родов *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* являются сильными антидепрессантами, которые регулируют продукцию противовоспалительных цитокинов, нейромедиаторов и метаболизм триптофана. Пробиотики, состоящие из *L. helveticus* и *B. longum*, показали противотревожное действие у лабораторных крыс (уменьшение психического напряжения, страха и тревоги). Пробиотики могут облегчить состояние пациентов с нервно-психическими расстройствами и могут регулировать иммунные реакции, особенно в случае аутоиммунных заболеваний ЦНС. Учёные доказали, что *B. longum* NCC3001 нормализуют

функции гиппокампа у мышей, а *L. rhamnosus* оказывает дифференцированное регулирование секреции  $\gamma$ -аминомасляной кислоты [70].

## Психобиотики и их функции

Результаты исследований, проведённых в этой области в течение последних 10–15 лет, позволили заведующему кафедрой психиатрии Национального Университета Ирландии в Корке, профессору Тимоти Дайнану и соавторам [71]. предположить, что внутри группы пробиотиков можно выделить более узкую группу лекарственных средств — психобиотики.

Психобиотики — это группа пробиотиков, которые влияют на функции и поведение центральной нервной системы, опосредованные осью кишечник–мозг, через иммунные, гуморальные, нервные и метаболические пути для улучшения не только функции желудочно-кишечного тракта, но также действующие как антидепрессант и обладающие анксиолитической способностью.

Появление нового класса пробиотиков (психобиотиков), а также их применение заставило исследователей сосредоточиться на новой области нейробиологии. В последние пять лет некоторые штаммы психобиотиков подавляли воспаление и снижали уровень кортизола, что приводило к ослаблению симптомов тревоги и депрессии [72].

Психобиотики эффективны в улучшении нейродегенеративных расстройств и нарушений развития нервной системы, включая, болезни Паркинсона и болезнь Альцгеймера. Большая часть исследований психобиотиков проводится на животных, у которых вызывают стресс и проводят поведенческие тесты на грызунах для оценки мотивации, тревоги и депрессии [73].

По оценкам экспертов распространённость аутистического спектра в мире среди детей составляет один из 160. Пациенты с расстройством аутистического спектра часто испытывают желудочно-кишечные симптомы, диарею и запоры. Было показано, что пробиотики могут улучшать у пациентов симптомы ЖКТ и даже симптомы, связанные с РАС. В результате поиска пяти основных первичных реестров, принятых Международным комитетом редакторов медицинских журналов (ICMJE) в ВОЗ, на сегодняшний день было зарегистрировано 10 клинических испытаний с использованием пробиотических вмешательств [74].

Болезнь Альцгеймера (БА) является хроническим нейродегенеративным заболеванием, характеризующимся когнитивными нарушениями и нарушениями памяти [75]. Доказательства влияния пробиотиков на улучшение когнитивных расстройств ограничены. В недавней работе профессор А. Agahi и соавт. [76] исследовали влияние

применения пробиотика на пациентах с тяжёлой формой БА. Исследования с использованием нескольких штаммов *Lactobacillus casei* W56, *L.lactis* W19, *L.acidophilus* W22, *B.lactis* W52, *L.paracasei* W20, *L.plantarum* W62, *B.lactis* W51, *B.bifidum* W23 и *L.salivarius* W24 у пациентов с БА показали, что пациенты с тяжёлой формой БА были нечувствительны к пробиотическим добавкам [77].

Недавно профессор L. Volfi и соавт. [78] обнаружили, что введение пробиотической композиции (SLAB51) трансгенным мышам с болезнью Альцгеймера значительно снижает окислительный стресс, индуцируя SIRT-1-зависимые механизмы. SLAB51 представляет собой композицию из девяти живых бактериальных штаммов — *Streptococcus thermophilus*, бифидобактерий — *Bifidobacterium longum*, *B.breve*, *B.nfantis*, лактобацилл — *Lactobacillus acidophilus*, *L.plantarum*, *L.paracasei*, *L.delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L.brevis*.

Белки сиртуины (SIRT) участвуют в регуляции клеточного гомеостаза у млекопитающих. Воздействуя на ряд процессов в центральной нервной системе, печени, поджелудочной железе, скелетных мышцах и жировой ткани, они регулируют обмен веществ в организме, что в существенной степени определяет их влияние на развитие болезней сердечно-сосудистой системы, различных видов рака, метаболического синдрома, нейродегенеративных и ряда других патологий [79]. В других двух исследованиях изучалось влияние нескольких штаммов, *L.acidophilus*, *L.fermentum*, *B.lactis* и *B.longum* на животных с БА. Было обнаружено, что пробиотические добавки улучшают обучение и дефицит памяти у крыс с БА по сравнению с контрольными крысами. Снижение количества амилоидных бляшек, воспаления и окислительного стресса наблюдалось в группе с болезнью Альцгеймера [80]. Введение пробиотиков снижает уровень инсулина и резистентность к инсулину по сравнению с контролем.

Болезнь Паркинсона (БП) представляет собой психоневрологическое заболевание, которое поражает примерно два процента пожилого населения. Запор является распространённым немоторным симптомом у пациентов с БП [81]. В рандомизированном двойном слепом плацебо-контролируемом клиническом исследовании субъектам с БП вводили пробиотическую добавку, содержащую *L.acidophilus*, *B.bifidum*, *L.reuteri* и *L.fermentum* в течение 12 нед. В группе, получавшей пробиотик, наблюдался пониженный балл по болезни Паркинсона. Кроме того, потребление пробиотиков не только значительно снижало уровни С-реактивного белка (hs-CRP) и малонового диальдегида (MDA), но также увеличивало уровни глутатиона. Примечательно, что потребление пробиотиков значительно улучшало

функцию инсулина по сравнению с плацебо [82]. Одно рандомизированное контролируемое исследование было сфокусировано на генах, связанных с воспалением, инсулином и липидами, в мононуклеарных клетках периферической крови (РВМС) у пациентов с БП. После 12-недельного вмешательства субъекты с БП, получившие пробиотическую добавку, продемонстрировали значительно подавленную экспрессию интерлейкина-1 (IL-1), IL-8 и фактора некроза опухоли альфа (TNF- $\alpha$ ) и повышенную экспрессию трансформирующего фактора роста бета (TGF- $\beta$ ) и гамма-рецептора, активируемого пролифератором пероксисом (PPAR- $\gamma$ ) по сравнению с плацебо-контролем. Однако не было обнаружено влияния на потребление пробиотиков экспрессии фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), рецептора липопротеинов низкой плотности (LDLR) или маркеров воспаления и окислительного стресса [83].

Синдром дефицита внимания и гиперактивности (СДВГ) — это заболевание мозга, наиболее распространёнными симптомами которого являются невнимательность, гиперактивность и импульсивность. Согласно профессору Парти и его коллегам, у детей, получавших *L.rhamnosus*, был сниженный риск развития СДВГ. Кроме того, пищевые добавки, содержащие *L.acidophilus*, улучшают самоконтроль и внимание детей с СДВГ [84]. Проводилось двойное слепое плацебо-контролируемое исследование для изучения влияния пробиотических добавок на студентах с СДВГ. Первичный результат будет оцениваться по симптомам дефицита внимания (тест MOXO) после 6 мес. приёма пробиотиков [71].

Синдром Туретта (ТС) — является неврологическим расстройством, которое обычно впервые наблюдается в детстве [85]. Согласно одному недавнему сообщению, в случаях пересадки фекальной микробиоты резко улучшаются симптомы синдрома Туретта через 8 нед. после начала лечения [86].

Было установлено, что дефицит сна вызывает депрессию, ухудшение памяти и аллергию [87]. Только несколько сообщений показали, что использование ферментированных продуктов улучшает сон [88]. В двух исследованиях оценивалось влияние *L.brevis* SBC8803 на улучшение сна у мышей и людей. Имеются данные об улучшении сна во время фазы покоя после введения пробиотика.

Психобиотики могут регулировать нейротрансмиттеры и белки, в том числе ГАМК, серотонин, глутамат и нейротрофический фактор мозга, которые играют важную роль в контроле нервного возбуждающе-тормозного баланса, настроения, когнитивных функций, процессов обучения и памяти [89]. Профессор Судо с коллегами описали решающую роль микробиоты и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси.

Небольшой сдерживающий стресс у мышей вызывает избыточное выделение кортикостерона и аденокортикотропного гормона по сравнению с мышами с нормальной микробиотой. Кроме того, провоспалительные цитокины активируют ГГНО, усиливают проницаемость гемато-энцефалического барьера и снижают уровень серотонина, что приводит к психическим расстройствам, таким как депрессия [90].

В дополнение к многообещающим исследованиям на животных, несколько исследований выявили положительное влияние пробиотиков на психическое здоровье людей. Здоровые добровольцы, которым вводили *Bifidobacterium longum* 1714 в течение 4 нед., демонстрировали снижение стресса и улучшение памяти [91, 92].

В рандомизированном двойном слепом плацебо-контролируемом исследовании изучались эффекты пробиотического йогурта (*Lactobacillus acidophilus* LA5 и *Bifidobacterium lactis* BB12) и пробиотических капсул (*Lactobacillus casei*, *L. acidophilus*, *Bifidobacterium longum* и *Streptococcus thermophilus*) на работниках нефтехимии. Реципиенты, использующие как пробиотический йогурт, так и пробиотические капсулы, продемонстрировали улучшение показателей психического здоровья, оценивая общий опросник здоровья (GASS) по шкале тревоги и депрессии (DASS). Пробиотическая комбинация *L. helveticus* R0052 плюс *B. longum* R0175 снижала тревожность и депрессию у здоровых субъектов по сравнению с контролем [93].

## Нейромедиаторная активность штаммов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*

На сегодняшний день большое внимание уделяется поиску новых веществ с антибактериальным потенциалом, иммуномодулирующими свойствами и лишённых недостатков классических антибиотиков. Такой активностью обладают молочнокислые бактерии *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, синтезирующие биологически активные метаболиты, включая бактериоцины и бактериоцинподобные веще-

ства: витамины, аминокислоты, вещества с нейротропным действием, такие как ДОФА, дофамин, серотонин, норадреналин и другие. МКБ не только специфически реагируют на экзогенные нейромедиаторы, но и сами синтезируют и выделяют их в среду культивирования, где они могут влиять на другие компоненты микробиологических систем [94, 95].

Были исследованы на нейромедиаторную активность 2 природных штамма из Бурятии: К-205 (GenBank: EF114305) выделен из национального бурятского лечебно-профилактического продукта «Курунга» и 194 выделен из коровьего молока этого же региона (GenBank: DQ255954.1). Штамм 194С из популяции штамма 194, полученный в результате диссоциации клонов на биосинтетической среде, штамм 729 (GenBank: EF 102814) выделен из коровьего молока молочной фермы Академии сельского хозяйства им. К. А. Тимирязева (г. Москва), его мутант — штамм 1605 (GenBank: EF102815) получен комбинированным воздействием ультрафиолетовых лучей и этиленмином [96], а рекомбинантные штаммы F-116 и F-119 (GenBank: EF100777.1; GenBank: F100778.1) получены слиянием протопластов вышеуказанных родственных штаммов с низкой низинсинтезирующей активностью (штаммы 729 и 1605) [96, 97]. Их микробиологические свойства и последовательности генов 16S рПНК дают убедительные доказательства для их классификации как *L. lactis* subsp. *lactis* [98].

Помимо самих биогенных аминов, было определено также содержание:

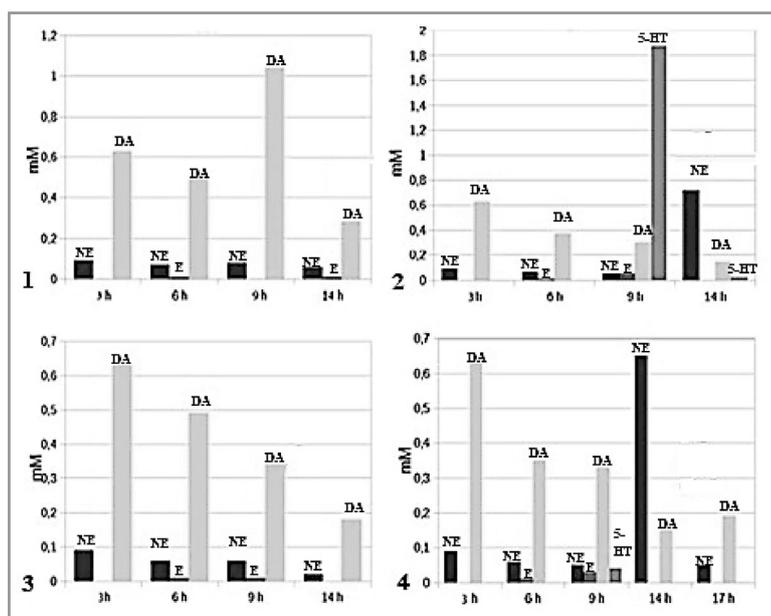
а) их предшественников: 2,3-дигидроксифенилаланина (ДОФА) — предшественника катехоламинов, 5-гидрокситриптофана (5-НТФ) — предшественника серотонина, 3-метокситирамина (3-МТ) — предшественника адреналина;

б) их продуктов ферментативной деградации — гомованилиновой кислоты (HVA), дигидроксифенилуксусной кислоты (DOPA C); L-диоксифенилаланина (DOPA L) — продукта гидроксирования тирозина, а также 5-оксииндолуксусной кислоты (5-Н1АА) — продукта дезаминирования серотонин (таблица) [94].

**Накопление биогенных аминов в клетках штаммов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* при культивировании в биосинтетической среде ( $p < 0,05$ ) [94]**

**Accumulation of biogenic amines in cells of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* when cultivated in a biosynthetic medium ( $P < 0.05$ ) [94]**

Штаммы	Концентрация нейромедиаторов (мкМ)								
	DOPA C	DOPA	A	NA	DA	5-НТФ	5-Н1АА	HVA	ЗМТ
Контроль (среда)	0,02	0	0	0,1	0	0	0,26	0	0
194	0,01	0	0	0	0	0	0,12	0	0
К-205	0,02	0,15	0	0,06	0,06	0	0,14	0	0,03
729	0,02	0	0	0,11	0,02	0	0,14	0	0
1605	0,02	0	0	0,13	0,04	0	0,17	0	0
F-116	0,06	0,15	0	1,84	0,31	0	0,05	0	0,02
F-119	0,01	0,21	0	0,06	0,12	0	0,18	0	0,03



**Рис. 4. Выработка нейромедиаторов в динамике роста штаммов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ( $P \leq 0,05$ ) [94].**

**Примечание.** 1 — штамм F-116; 2 — штамм 729; 3 — штамм 194; 4 — штамм K-205. NE — норэпинефрин (норадреналин); E — эпинефрин (адреналин); DA — дофамин; 5-НТ — 5-гидрокситриптамин (серотонин).

**Fig. 4. Production of neurotransmitters in the dynamics of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* growth ( $P \leq 0.05$ ) [94].**

**Note.** 1 — strain F-116; 2 — strain 729; 3 — strain 194; 4 — strain K-205. NE — norepinephrine (noradrenaline); E — epinephrine (adrenaline); DA — dopamine; 5-HT — 5-hydroxytryptamine (serotonin).

За 17 ч инкубирования в биосинтетической среде рекомбинантные штаммы F-116 и F-119 накапливали в культуральной жидкости 0,15 мкМ/мл и 0,21 мкМ/мл ДОФА, 0,31 мкМ/мл и 0,12 мкМ/мл дофамина, 1,84 мкМ/мл и 0,06 мкМ/мл норадреналина. Штамм K-205 синтезировал норадреналин (0,06 мкМ/мл). Что касается оксииндолуксусной кислоты (5-НИАА), то скорее всего штаммы потребляли её из среды.

Также была исследована концентрация экзогенных нейромедиаторов (адреналина, норадреналина, дофамина, серотонина и 5-гидрокситриптофана, предшественника серотонина) в супернатанте штаммов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* в различных стадиях роста, т. е. в течение лаг-фазы, экспоненциальной и фазы отмирания. Штамм 194 синтезировал дофамин, серотонин и адреналин параллельно росту культуры, как и штаммы F-116, K-205 и 729, которые синтезировали в большей степени дофамин (рис. 4).

## Заключение

В течение последних 50–75 лет для восстановления микробной экологии человека разработаны и используются многочисленные лекарст-

венные препараты, биологически активные добавки к пище, продукты функционального питания. Для их изготовления наиболее популярными являются специально подобранные штаммы живых бактерий — пробиотики, а также растворимые пищевые волокна (пребиотики), стимулирующих их рост.

В последнее время всё больше появляется информации о психобиотиках — пробиотиках, которые при попадании в организм в достаточном количестве осуществляют полезное воздействие на здоровье пациентов, страдающих психическими заболеваниями. Появление нового класса пробиотиков (психобиотиков), а также их применение заставило исследователей сосредоточиться на новой области нейробиологии.

Один из способов «изменения сознания» психобиотиками — воздействие на мозг с помощью их способности продуцировать различные биологически активные соединения, такие как нейротрансмиттеры. Несколько молекул с нейроактивной функцией, такие как дофамин, норадреналин, серотонин и др., могут быть выработаны кишечными бактериями. Когда эти нейротрансмиттеры секрети-

руются в кишечнике, они побуждают клетки в пределах оболочки кишечника, освободить молекулы, которые передают сигналы мозгу и влияют на поведение. Второй способ, которым психобиотики действуют на мозг — оказывание воздействия на систему реагирования организма на стресс, которая включает мозг и надпочечники. Эта система, известная как гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая ось, становится дисфункциональной в контексте хронического стресса или болезни. При возникновении дисфункции ГГНО, производство и ритмические сроки кортизола и других гормонов, связанных со стрессом, нарушаются, что играет центральную роль в возникновении расстройств настроения и когнитивных проблемах. Третий способ воздействия психобиотиков на мозг — их противовоспалительное действие. Хронически повышенный уровень воспаления по всему телу и мозгу является одной из основных причин депрессии и других расстройств настроения и когнитивных функций. Это воспаление может возникать в кишечнике, и некоторые психобиотики могут оказывать свой эффект на головной мозг снижая воспаление. По сравнению с химическими препаратами, преимуществами использо-

вания таких пробиотиков в качестве лекарственных средств являются их относительная безвредность и физиологичность, а также возможность подбора конкретного препарата для лечения одного и того же заболевания у разных пациентов. Таким образом, психобиотическое лечение может стать многообещающей стратегией для улучшения качества жизни людей, страдающих нейро-

дегенеративными нарушениями и нарушениями развития нервной системы. Однако доказательства воздействия психобиотиков на психические и неврологические расстройства остаются ограниченными. Необходимы дальнейшие исследования психобиотиков, чтобы определить их эффективность и механизм лечения различных психических расстройств в будущем.

## Литература/References

1. Shenderov B. A. Modern condition and prospective host microecology investigations. *Microbial Ecology in Health and Disease*. 2007; 19 (3): 145–149. doi: 10.3402/mehd.v19i3.7659.
2. Shenderov B. A. Probiotic (symbiotic) bacterial languages. *Anaerobe*. 2011; 17 (6): 490–495. doi: 10.1016/j.anaerobe.2011.05.009.
3. Sampson T. R., Mazmanian S. K. Control of brain development, function, and behavior by the microbiome. *Cell Host Microbe*. 2015; 17 (5): 565–576. doi: 10.1016/j.chom.2015.04.011.
4. Шендеров Б. А. Метабиотики — новая технология профилактики заболеваний, связанных с микробиологическим дисбалансом человека. *Вестник восстановительной медицины*. 2017; 4: 80: 40–49. [Shenderov B. A. Metabiotiki — novaya tekhnologiya profilaktiki zabolevaniy, svyazannykh s mikroekologicheskim disbalansom cheloveka. *Vestnik Vosstanovitel'noy Meditsiny*. 2017; 4: 40–49. (in Russian)]
5. Шендеров Б. А., Манвелова М. А., Степанчук Ю. Б., Скиба Н. Э. Пробиотики и функциональное питание. Антибиотики и химиотерапия. 1997; 42 (7): 30–34. [Shenderov B. A., Manvelova M. A., Stepanchuk Yu. B., Skiba N. E. Probiotiki i funktsional'noe pitaniye. *Antibiotiki i Khimioter*. 1997; 42 (7): 30–34. (in Russian)]
6. Червинец Ю. В., Червинец В. М., Шендеров Б. А. Современные представления о биотехнологическом потенциале симбиотической микробиоты человека. *Верхневолжский медицинский журнал*. — 2018. — Т. 17. — №. 1. — С. 19–26. [Chervinets Yu. V., Chervinets V. M., Shenderov B. A. Sovremennyye predstavleniya o biotekhnologicheskom potentsiale simbioticheskoi mikrobioty cheloveka. *Verkhnevolzhskii Meditsinskii Zhurnal*. 2018; 17 (1): 19–26. (in Russian)]
7. Shenderov B. A., Midtvedt T. Epigenomic programming: a future way to health?. *Microbial Ecology in Health and Disease*. 2014; 25 (1): 24145. doi: 10.3402/mehd.v25.24145.
8. Heeney D. D., Gareau M. G., Marco M. L. Intestinal *Lactobacillus* in health and disease, a driver or just along for the ride?. *Current opinion in biotechnology*. 2018; 49: 140–147. doi: 10.1016/j.copbio.2017.08.004.
9. Олескин А. В., Шендеров Б. А. Пробиотики, психобиотики и метабиотики: проблемы и перспективы. *Физическая и реабилитационная медицина, медицинская реабилитация*. 2020; 2 (3): 233–243. doi: 10.36425/rehab25811. [Oleskin A. V., Shenderov B. A. Probiotiki, psikhobiotiki i metabiotiki: problemy i perspektivy. *Fizicheskaya i reabilitatsionnaya meditsina, meditsinskaya reabilitatsiya*. 2020; 2 (3): 233–243. doi: 10.36425/rehab25811. (in Russian)]
10. Shenderov B. A. Probiotics and functional foods. *Food Engineering*, Eolss Publishers, Oxford; 2011.
11. Стоянова Л. Г., Габриэлян Н. И. Перспективность использования пробиотических штаммов *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* при лечении госпитальных инфекций. *Журнал инфектологии*. 2017; 4: 38: 18–24. [Stoyanova L. G., Gabrielyan N. I. Perspektivnost' ispol'zovaniya probioticheskikh shtammov *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* pri lechenii hospital'nykh infektsii. *Zhurnal Infektologii*. 2017; 4 (38): 18–24. (in Russian)]
12. Бондаренко В. М., Чупринина Р. П., Аладышева Ж. И., Мацулевич Т. В. Пробиотики и механизмы их лечебного действия. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2004; 3: 83–87. [Bondarenko V. M., Chuprinina R. P., Aladyшева Zh. I., Matsulevich T. V. Probiotiki i mekhanizmy ikh lechebnogo deystviya. *Ekspperimental'naya i Klinicheskaya Gastroenterologiya*. 2004; 3: 83–87. (in Russian)]
13. Олескин А. В., Эль-Регистан Г. И., Шендеров Б. А. Межмикробные химические взаимодействия и диалог микробиота–хозяин: роль нейромедиаторов. *Микробиология*. 2016; 85: 1: 3–25. doi: 10.7868/s0026365616010080. [Oleskin A. V., El'-Registan G. I., Shenderov B. A. Mezhmikrobnyye khimicheskiye vzaimodeystviya i dialog mikrobiota-khozain: rol' neiromediatorov. *Mikrobiologiya*. 2016; 85 (1): 3–25. doi: 10.7868/s0026365616010080. (in Russian)]
14. Oleskin A. V., Shenderov B. A., Rogovsky V. S. Role of neurochemicals in the interaction between the microbiota and the immune and the nervous system of the host organism. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. 2017; 9 (3): 215–234. doi: 10.1007/s12602-017-9262-1.
15. Round J. L., Mazmanian S.K. The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. *Nat Rev Immunol*. 2009; 9 (5): 313–323. doi: 10.1038/nri2515.
16. Benton D., Williams C., Brown A. Impact of consuming a milk drink containing a probiotic on mood and cognition. *Eur J Clin Nutr*. 2007; 61 (3): 355–361. doi: 10.1038/sj.ejcn.1602546.
17. Foster J. A., McVey Neufeld K. A. Gut-brain axis: how the microbiome influences anxiety and depression. *Trends Neurosci*. 2013; 36 (5): 305–312. doi: 10.1016/j.tins.2013.01.005.
18. Рябиченко Е. В., Бондаренко В. М. Кишечно-мозговые взаимоотношения в норме и патологии. *Верхневолжский медицинский журнал*. 2013; 11 (1): 34–39. [Ryabichenko E. V., Bondarenko V. M. Kishhechno-mozgovyye vzaimootnosheniya v norme i patologii. *Verkhnevolzh Meditsinskij Zhurnal*. 2013; 11 (1): 34–39. (in Russian)]
19. Шендеров Б. А. Кишечная микробиота человека и нейродегенеративные. *Поликлиника*. 2016; 1/1: 7–13. [Shenderov B. A. Kishhechnaya mikrobiota cheloveka i neurodegenerativnyye. *Poliklinika*. 2016; 1/1: 7–13. (in Russian)]
20. Ивашкин В. Т., Ивашкин К. В. Психобиотические эффекты пробиотиков и пребиотиков. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2018; 28 (1): 4–12. doi: 10.22416/1382-4376-2018-28-1-4-12. [Ivashkin V. T., Ivashkin K. V. Psikhobioticheskiye efekty probiotikov i prebiotikov. *Rossiiskii Zhurnal Gastroenterologii, Gepatologii, Koloproktologii*. 2018; 28 (1): 4–12. doi: 10.22416/1382-4376-2018-28-1-4-12. (in Russian)]
21. Ивашкин В. Т., Зольникова О. Ю. Синдром раздражённого кишечника с позиций изменений микробиоты. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2019; 29: 1: 84–92. [Ivashkin V. T., Zol'nikova O. Yu. Sindrom razdrzhenogo kishchnika s pozitsiy izmenenii mikrobioty. *Rossiiskii zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii*. 2019; 29 (1): 84–92. (in Russian)]
22. Wasilewski A., Zielińska M., Storr M., Fichna J. Beneficial effects of probiotics, prebiotics, synbiotics, and psychobiotics in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2015; 21(7): 1674–1682. doi: 10.1097/mib.0000000000000364.
23. Hungin A. P. S., Mulligan C., Pot B., Whorwell P., Agreus L., Fracasso P., Lionis C., Mendive J., de Foy J.-M. P., Rubin G., Winchester C., de Wit N. Systematic review: probiotics in the management of lower gastrointestinal symptoms in clinical practice — an evidence-based international guide. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2013; 38 (8): 864–886. doi: 10.1111/apt.12460.
24. He Q., Wang L., Wang F., Li Q. Role of gut microbiota in a zebrafish model with chemically induced enterocolitis involving toll-like receptor signaling pathways. *Zebrafish*. 2014; 11 (3): 255–264. doi: 10.1089/zeb.2013.0917.
25. Jalanka-Tuovinen J., Salojärvi J., Salonen A., Immonen O., Garsed K., Kelly F.M., Zaitoun A., Palva A., Spiller R.C., de Vos W.M. Faecal microbiota composition and host-microbe crosstalk following gastroenteritis and in postinfectious irritable bowel syndrome. *Gut*. 2014; 63: 1737–1745. doi: 10.1136/gutjnl-2013-305994.
26. Spiller R. C., Spiller R. C., Jenkins D., Thornley J. P., Hebden J. M., Wright T., Skinner M., Neal K. R. Increased rectal mucosal enteroendocrine cells, T lymphocytes, and increased gut permeability following acute *Campylobacter* enteritis and in post-dysenteric irritable bowel syndrome. *Gut*. 2000; 47 (6): 804–811. doi: 10.1136/gut.47.6.804.
27. Kassinis A., Kroggius-Kurikka L., Makivuokko H., Rinttilä T., Paulin L., Corander J., Malinen E., Apajalahti J., Palva A. The fecal microbiota of irritable bowel syndrome patients differs significantly from that of healthy subjects. *Gastroenterology*. 2007; 133 (1): 24–33. doi: 10.1053/j.gastro.2007.04.005.
28. Cenac N., Andrews H.N., Holzhausen M., Chapman K., Cottrell G., Andrade-Gordon P., Steinhoff M., Giovanni B., Beck P., Bunnett N.W., Sharkey K.A., Ferraz G.J.P., Shaffer E., Vergnolle N. Role for protease activity in visceral pain in irritable bowel syndrome. *The Journal of clinical investigation*. 2007; 117 (3): 636–647. doi: 10.1172/jci29255.
29. Piche T., Saint-Paul M.C., Dainese R., Marine-Barjoan E., Iannelli A., Montoya M.L., Peyron J.f., Czerucka D., Cherikh F., Filippi J., Tran A., Hébuterne X. Mast cells and cellularity of the colonic mucosa correlated with fatigue and depression in irritable bowel syndrome. *Gut*. 2008; 57 (4): 468–473. doi: 10.1136/gut.2007.127068.
30. Rousseaux C., Thuru X., Gelote A., Barnich N., Neut C., Dubuquoy L., Dubuquoy C., Merour E., Geboes K., Chamailard M., Otiuehand A., Leyer G., Carcano G., Colombel J.-F., Ardid D., Desreumaux P. *Lactobacillus*

- acidophilus* modulates intestinal pain and induces opioid and cannabinoid receptors. *Nat Med*. 2007; 13 (1): 35–37. doi: 10.1038/nm1521.
31. Medani M., Collins D., Docherty N. G., Baird A. W., O'Connell P. R., Winter D. C. Emerging role of hydrogen sulfide in colonic physiology and pathophysiology. *Inflammatory Bowel Dis*. 2010; 17 (7): 1620–1625. doi: 10.1002/ibd.21528.
  32. Родионова О. Н., Трубина Н. В., Реутова Э. Ю., Видикер Р. В., Бабаева А. Р. Особенности нарушений нейроморальной регуляции, цитокинового и тиреоидного статуса у больных с функциональными расстройствами желудочно-кишечного тракта. *Вестник Санкт-Петербургского университета. Серия 11. Медицина*. 2009; 1: 51–57. [Rodiionova O. N., Trubina N. V., Reutova E. Yu., Vidiker R. V., Babaeva A. R. Osobennosti narushenii neirogornal'noi regulatsii, tsitokinovogo i tseoidnogo statusa u bol'nykh s funktsional'nymi rasstroistvami zheludochno-kishechnogo trakta. *Vestnik Sankt-Peterburgskogo Universiteta. Seriya 11. Meditsina*. 2009; 1: 51–57. (in Russian)]
  33. Шептулина А. Ф., Ивашкин В. Т. Синдром раздражённого кишечника через призму кишечного микробиома. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2016; 26 (6): 120–123. doi: 10.22416/1382-4376-2016-6-120-123. [Sheptulina A. F., Ivashkin V. T. Sindrom razdrazhennogo kishchnika cherez prizmu kishchnogo mikrobioma. *Rossiiskii Zhurnal Gastroenterologii, Hepatologii, Koloproktologii*. 2016; 26 (6): 120–123. doi: 10.22416/1382-4376-2016-6-120-123. (in Russian)]
  34. Savignac H. M., Kiely B., Dinan T. G., Cryan J. F. Bifidobacteria exert strain-specific effects on stress-related behavior and physiology in BALB/c mice. *Neurogastroenterology Motil*. 2014; 26 (11): 1615–1627. doi: 10.1111/nmo.12427.
  35. Hueston C. M., Deak T. The inflamed axis: the interaction between stress, hormones, and the expression of inflammatory-related genes within key structures comprising the hypothalamic–pituitary–adrenal axis. *Physiol Behav*. 2014; 124: 77–91. doi: 10.1016/j.physbeh.2013.10.035.
  36. Diaz Heijtz R., Wang S., Anuar F. et al. Normal gut microbiota modulates brain development and behavior. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2011; 108: 3047–3052. doi: 10.1073/pnas.1010529108.
  37. Holzer P., Farzi A. Neuropeptides and the microbiota–gut–brain axis. In: *Microbial Endocrinology: The Microbiota–Gut–Brain axis in health and disease*. M. Lyte, J. F. Cryan (eds). Adv Exp Med Biol. 817. N.Y.: Springer, 2014: 195–219. doi: 10.1007/978-1-4939-0897-4\_9.
  38. Lyte M., Cryan J. F. Microbial endocrinology: the microbiota–gut–brain axis in health and disease. *Adv Exp Med Biol*. 817. N.Y.: Springer. 2014: 3–24. doi: 10.1007/978-1-4939-0897-4\_1.
  39. De Vadder F., Kovatcheva-Datchary P., Goncalves D., Viners J., Zitoun C., Duchamp A., Backhed F., Mithieux G. Microbiota — generated metabolites promote metabolic benefits via gut–brain neural circuits. *Cell*. 2014; 156 (1): 84–96. doi: 10.1016/j.cell.2013.12.016.
  40. Wells J. M., Rossi O., Meijerink M., van Baarlen P. Epithelial crosstalk at the microbiota–mucosal interface. *Proceedings of the national academy of sciences*. 2011; 108 (1): 4607–4614. doi: 10.1073/pnas.100092107.
  41. Barrett E., Ross R. P., O'toole P. W., Fitzgerald G. F., Stanton C.  $\gamma$ -Aminobutyric acid production by culturable bacteria from the human intestine. *J App Microbiol*. 2012; 113 (2): 411–417. doi: 10.1111/j.1365-2672.2012.05344.x.
  42. Ammoscato E., Scirocco A., Altomare A., Matarrese P., Petitta C., Ascione B., Caronna R., Guarino M., Marignani M., Cicala M., Chirletti P., Malorni W. *Lactobacillus rhamnosus* protects human colonic muscle from pathogen lipopolysaccharide — induced damage. *Neurogastroenterology Motil*. 2013; 25 (12): 984–992. doi: 10.1111/nmo.12232.
  43. Mayer E. A., Savidge T., Shulman R. J. Brain–gut microbiome interactions and functional bowel disorders. *Gastroenterology*. 2014; 146 (6): 1500–1512. doi: 10.1053/j.gastro.2014.02.037.
  44. Бец Л. В. «Гормональный портрет» человека. *Природа*. 2005; 1: 61–69. [Bets L. V. «Gormonal'nyi portret» cheloveka. *Priroda*. 2005; 1: 61–69. (in Russian)]
  45. Nikolls D., Martin A., Vallas B., Fuks P. От нейрона к мозгу [From a neuron to the brain]. Moscow: LKI. 2008; 508: 684.
  46. Савельев А. В. Источники вариаций динамических свойств нервной системы на синаптическом уровне в нейромоделинге. *Искусственный интеллект*. 2006; 4: 323–338. [Savel'ev A. V. Istochniki variatsii dinamicheskikh svoystv nervnoi sistemy na sinapticheskom уровне v neirokomp'yutinge. *Iskusstvennyi intellekt*. 2006; 4: 323–338. (in Russian)]
  47. Арутюнян А. В., Керкешко Г. О., Степанов М. Г., Корневский А. В., Аиламазян Э. К. Роль биогенных аминов в гипоталамической регуляции репродуктивной функции. *Обзоры поклинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2004; 3 (1): 15–23. [Arutyunyan A. V., Kerkeshko G. O., Stepanov M. G., Korenevskii A. V., Ailamazyan E. K. Rol' biogennykh aminov v gipotalamicheskoi regulatsii reproduktivnoi funktsii. *Obzory Pокlinicheskoi Farmakologii i Lekarstvennoi Terapii*. 2004; 3 (1): 15–23. (in Russian)]
  48. Кирпиченко А. А. Новейший антидепрессант агомелатин в лечении расстройств аффективного спектра. *Психиатрия, психотерапия и клиническая психология*. 2014; 2: 87–91. [Kirpichenko A. A. Noveishii antidepressant agomelatin v lechenii rasstroistv affektivnogo spektra /
  49. Скрипченко Н. В., Украинцев, С. Е., Макарова, Е. Г., Скрипченко, Е. Ю. Научные перспективы изучения причинно-следственной связи микробиоты кишечника и состояния нервной системы. *Журнал инфектологии*. 2018; 10 (3): 41–44. doi: 10.22625/2072-6732-2018-10-3-41-44. [Skripchenko N. V. i dr. Nauchnye perspektivy izucheniya prichinno-sledstvennoi svyazi mikrobioty kishchnika i sostoyaniya nervnoi sistemy. *Zhurnal Infektologii*. 2018; 10 (3): 41–44. doi: 10.22625/2072-6732-2018-10-3-41-44. (in Russian)]
  50. Grandy A. S., Wieder W. R., Wickings K., Kyker-Snowman E. Beyond microbes: Are fauna the next frontier in soil biogeochemical models? *Soil Biology and Biochemistry*. 2016; 102: 40–44. doi: 10.1016/j.soilbio.2016.08.008.
  51. Дубынин В. А., Сивоглазов В. И., Каменский В. В. Регуляторные системы организма. М.: Дрофа. 2003; 386. [Dubynin V. A., Sivoglazov V. I., Kamenskii V. V. *Regulyatornye sistemy organizma*. Moscow: Drofa. 2003; 386. (in Russian)]
  52. Олескин А. В., Шендеров Б. А. Биополитический подход к реабилитации: потенциальная роль микробной нейрхимии. *Вестник восстановительной медицины*. 2013; 1: 60–67. [Oleskin A. V., Shenderov B. A. Biopoliticheskij podkhod k rehabilitologii: potentsial'naya rol' mikrobnoy neirokhemii. *Vestnik Vosstanovitel'noj Meditsiny*. 2013; 1: 60–67. (In Russian)]
  53. Wall R., Cryan J. F., Ross R. P., Fitzgerald G. F., Dinan T. G., Stanton C. Bacterial neuroactive compounds produced by psychobiotics. *Microbial endocrinology: The microbiota–gut–brain axis in health and disease*. Springer, New York, NY. 2014; 221–239. doi: 10.1007/978-1-4939-0897-4\_10.
  54. Шендеров Б. А., Голубев В. Л., Данилов А. Б., Прищепа А. В. Кишечная микробиота человека и нейродегенеративные заболевания. *Полликлиника*. 2016; 1–1: 7–13. [Shenderov B. A., Golubev V. L., Danilov A. B., Prishchepa A. V. Kishchnaya mikrobiota cheloveka i neurodegenerativnye zabolevaniya. *Poliklinika*. 2016; 1–1: 7–13. (in Russian)]
  55. Clarke M. B., Hughes D. T., Zhu C., Boedeker E. C., Sperandio V. The QseC sensor kinase: A bacterial adrenergic receptor. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006; 103: 10420–10425. doi: 10.1073/pnas.0604343103.
  56. Vlisidou I., Lyte M., van Diemen P. M., Hawes P., Monaghan P., Wallis T. S., Stevens M. P. The neuroendocrine stress hormone norepinephrine augments *Escherichia coli* O157: H7-induced enteritis and adherence in a bovine ligated ileal loop model of infection. *Infect Immunol*. 2004; 72: 5446–5451. doi: 10.1128/iai.72.9.5446-5451.2004.
  57. Олескин А. В., Шендерова Б. А., Роговского В. Социальность микроорганизмов и взаимоотношения в системе микробиота–хозяин. Роль нейромедиаторов. Издательство Московского университета. 2020; 286. [Oleskin A. V., Shenderova B. A., Rogovskogo V. Sotsial'nost' mikroorganizmov i vzaimootnosheniya v sisteme mikrobiota-khozyain. Rol' neiromediatorov. *Izdatel'stvo Moskovskogo Universiteta*. 2020; 286. (in Russian)]
  58. Guarino C. M. P. L., Sessa R., Altomare A., Cocca S., Pietro M. D., Carotti S., Schiavoni G., Alloni R., Emerenziani S., Morini S., Severi C., Cicala M. Human colonic myogenic dysfunction induced by mucosal lipopolysaccharide translocation and oxidative stress. *Digestive and Liver Disease*. 2013; 45 (12): 1011–1016. doi: 10.1016/j.jlidd.2013.06.001.
  59. Aguilera M., Cerdà-Cuellar M., Martínez V. Antibiotic-induced dysbiosis alters host–bacterial interactions and leads to colonic sensory and motor changes in mice. *Gut Microbes*. 2015; 6 (1): 10–23. doi: 10.4161/19490976.2014.990790.
  60. McClure R., Massari P. TLR-dependent human mucosal epithelial cell responses to microbial pathogens. *Frontiers in immunology*. 2014; 5: 386–398. doi: 10.3389/fimmu.2014.00386.
  61. Asano Y., Hiramoto T., Nishino R., Aiba Y., Kimura T., Yoshihara K., Koga Y., Sudo N. Critical role of gut microbiota in the production of biologically active, free catecholamines in the gut lumen of mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2012; 303 (11): G1288–G1295. doi: 10.1152/ajpgi.00341.2012.
  62. McDermott A. J., Huffnagle G. B. The microbiome and regulation of mucosal immunity. *Immunology*. 2014; 142: 24–31. doi: 10.1111/imm.12231.
  63. Rook G. A., Lowry C. A., Raison C. L. Lymphocytes in neuroprotection, cognition and emotion: is intolerance really the answer? *Brain Behav Immun*. 2011; 25 (4): 591–601. doi: 10.1016/j.bbi.2010.12.005.
  64. Viswanathan J., Haapasalo A., Kurkinen K. M. A., Natunen T., Mäkinen P., Bertram L., Soininen H., Tanzi R. E., Hiltunen M. Ubiquitin-1 modulates  $\gamma$ -secretase-mediated  $\epsilon$ -site cleavage in neuronal cells. *Biochemistry*. 2013; 52 (22): 3899–3912. doi: 10.1021/bi400138p.
  65. Воеводкина А. Ю., Хайтович А. Б. Микробиом и его влияние на здоровье человека. *Актуальная медицина*. 2018; 283–289. [Voevodkina A. Yu., Khaitovich A. B. Mikrobiom i ego vliyaniye na zdorov'e cheloveka. *Aktual'naya Meditsina*. 2018; 283–289. (in Russian)]
  66. Ochoa-Reparaz J., Mielcarz D. W., Begum-Haque S., Kasper L. H. Gut, bugs, and brain: role of commensal bacteria in the control of central nervous system disease. *Annals Neurol*. 2011; 69 (2): 240–247. doi: 10.1002/ana.22344.
  67. Neufeld K. M., Kang N., Bienenstock J., Foster J. A. Reduced anxiety-like behavior and central neurochemical change in germ-free mice. *Neuro-*

- gastroenterology Motil. 2011; 23 (3): 255–265. doi: 10.1111/j.1365-2982.2010.01620.x.
68. Беляева Л. Е. Способно ли регулярное потребление «функциональной пищи» замедлить скорость атерогенеза? Вестник ВГМУ. 2012; 11 (3): 15–27. [Belyaeva, L. E. Sposobno li regul'yarnoe potrebleniye «funktsional'noi pishchi» zamedlit' skorost' aterogenez'a? Vestnik VGMU. 2012; 11 (3): 15–27. (in Russian)]
  69. Wang L., Christophersen C. T., So rich M. J., Gerber J. P., Angley M. T. Conlon Increased abundance of *Sutterella* spp. and *Ruminococcus torques* in feces of children with autism spectrum disorder. Mol Autism. 2013; 4 (1): 42–44. doi: 10.1186/2040-2392-4-42.
  70. Bik E. M., Ugalde J. A., Cousins J., Goddard A. D., Richman J., Apte Z. S. Microbial biotransformations in the human distal gut. Br J Pharmacol. 2018; 175 (24): 4404–4414. doi: 10.1111/bph.14085.
  71. Cheng L. H., Liu Y. W., Wu C. C., Wang S., Tsai Y. C. Psychobiotics in mental health, neurodegenerative and neurodevelopmental disorders. Journal of Food and Drug Analysis. 2019; 27: 1–17. doi: 10.1016/j.jfda.2019.01.002.
  72. Dinan T. G., Stilling R. M., Stanton, C., Cryan, J. F. Collective unconscious: how gut microbes shape human behavior. Journal of psychiatric research. 2015; 63: 1–9. doi: 10.1016/j.jpsychires.2015.02.021.
  73. Sarkar A., Lehto S. M., Harty S., Dinan T. G., Cryan J. F., Burnet P. W. Psychobiotics and the manipulation of bacteria–gut–brain signals. Trends in neurosciences. 2016; 39 (11): 763–781. doi: 10.1016/j.tins.2016.09.002.
  74. Wang L. W., Tancredi D. J., Thomas D. W. The prevalence of gastrointestinal problems in children across the United States with autism spectrum disorders from families with multiple affected members. J Dev Behav Pediatr. 2011; 32 (5): 351–360. doi: 10.1097/dbp.0b013e31821bd06a.
  75. Kumar A., Singh A. A review on Alzheimer's disease pathophysiology and its management: an update. Pharmacological Reports. 2015; 67(2): 195–203. doi: 10.1016/j.pharep.2014.09.004.
  76. Agahi A., Hamidi G. A., Daneshvar R., Hamdieh M., Soheili M., Alinaghypour A., Taba S. M. E., Salami M. Does severity of Alzheimer's disease contribute to its responsiveness to modifying gut microbiota? A double blind clinical trial. Front Neurol. 2018; 9: 662–670. doi: 10.3389/fneur.2018.00662.
  77. Leblhuber F., Steiner K., Schuetz B., Fuchs D., Gostner J. M. Probiotic supplementation in patients with Alzheimer's dementia—an explorative intervention study. Curr Alzheimer Res. 2018; 15 (12): 1106–1113. doi: 10.2174/1389200219666180813144834.
  78. Bonfili L., Cecarini V., Cuccioloni M., Angeletti M., Berardi S., Scarpona S., Rossi G., Eleuteri A. M. SLAB51 probiotic formulation activates SIRT1 pathway promoting antioxidant and neuroprotective effects in an AD mouse model. Mol Neurobiol. 2018; 55 (10): 7987–8000. doi: 10.1007/s12035-018-0973-4.
  79. Фефелова Ю. А., Сергеева Е. Ю., Новикова Л. В., Климина Г. М. Влияние характера питания на SIRTUIN1-опосредованное изменение метаболических процессов. Вопросы питания. 2016; 85 (4): 1–9. [Fefelova Yu. A., Sergeeva E. Yu., Novikova L. V., Klimina G. M. Vliyaniye kharaktera pitaniya na SIRTUIN1-oposredovannoye izmeneniye metaboli-cheskikh protsessov. Voprosy Pitaniya. 2016; 85 (4): 1–9. (in Russian)] doi: 10.24411/0042-8833-2016-00045.
  80. Azm S. A. N., Djazayeri A., Safa, M., Azami K., Ahmadvand B., Sabbaghziarani F., Sharifzadeh M., Vajfa M. Lactobacilli and bifidobacteria ameliorate memory and learning deficits and oxidative stress in  $\beta$ -amyloid (1–42) injected rats. App Physiol Nutr Metab 2018; 43 (7): 718–726. doi: 10.1139/apnm-2017-0648.
  81. Fasano A., Visanji N. P., Liu L. W., Lang A. E., Pfeiffer R. F. Gastrointestinal dysfunction in Parkinson's disease. Lancet Neurol. 2015; 14 (6): 625–639. doi: 10.1016/s1474-4422(15)00007-1.
  82. Tamtaji O. R., Taghizadeh M., Kakhaki R. D., Kouchki E., Bahmani F., Botzabadi S., Oryan S., Mifi A., Asemi Z. Clinical and metabolic response to probiotic administration in people with Parkinson's disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Clin Nutr. 2018; 38 (2): 203–206. doi: 10.1016/j.clnu.2018.05.018.
  83. Botzabadi S., Oryan S., Eidi A., Aghadavod E., Kakhaki R. D., Tamtaji O. R., Taghizadeh M., Asemi Z. The effects of probiotic supplementation on gene expression related to inflammation, insulin and lipid in patients with parkinson's disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Arch Iran Med. 2018; 21 (7): 289–295.
  84. Harding K. L., Judah R. D., Gant C. E. Outcome-based comparison of Ritalin® versus food-supplement treated children with AD/HD. Altern Med Rev. 2003; 8 (3): 319–330.
  85. Rampello L., Alvano A., Battaglia G., Bruno V., Raffaele R., Nicoletti F. Tic disorders: from pathophysiology to treatment. J Neurol. 2006; 253 (1): 1–15. doi: 10.1007/s00415-005-0008-8.
  86. Zhao H., Shi Y., Luo X., Peng L., Yang Y., Zou L. The effect of fecal microbiota transplantation on a child with tourette syndrome. Case Rep Med. 2017; 2017: 1–3. doi: 10.1155/2017/6165239.
  87. Grundgeiger T., Bayen U. J., Horn S. S. Effects of sleep deprivation on prospective memory. Memory. 2014; 22 (6): 679–686. doi: 10.1080/09658211.2013.812220.
  88. Kitaoka K., Uchida K., Okamoto N., Chikahisa S., Miyazaki T., Takeda E., Séi H. Fermented ginseng improves the first-night effect in humans. Sleep. 2009; 32 (3): 413–421. doi: 10.1093/sleep/32.3.413.
  89. Martinovich K., Lu B. Interaction between BDNF and serotonin: role in mood disorders. Neuropsychopharmacology. 2008; 33 (1): 73–83. doi: 10.1038/sj.npp.1301571.
  90. Silverman M. N., Sternberg E. M. Glucocorticoid regulation of inflammation and its functional correlates: from HPA axis to glucocorticoid receptor dysfunction. Ann N Y Acad Sci. 2012; 1261 (1): 55–63. doi: 10.1111/j.1749-6632.2012.06633.x.
  91. Allen A. P., Hutch W., Borre Y. E., Kennedy P. J., Temko A., Boylan G., Murphy E., Cryan J. F., Dinan T. G., Clarke G. Bifidobacterium longum 1714 as a translational psychobiotic: modulation of stress, electrophysiology and neurocognition in healthy volunteers. Transl Psychiatry. 2016; 6 (11): 939–946. doi: 10.1038/tp.2016.191.
  92. Mohammadi A. A., Jazayeri S., Khosravi-Darani K., Solati Z., Mohamadpour N., Asemi Z., Adab Z., Dialali M., Tehrani-Doost M., Hosseini M., Eghtesadi S. The effects of probiotics on mental health and hypothalamic–pituitary–adrenal axis: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial in petrochemical workers. Nutr Neurosci. 2016; 19 (9): 387–395. doi: 10.1179/1476830515y.00000000023.
  93. Messaoudi M., Lalonde R., Violle N., Javelot H., Desor D., Nejd A., Bisson J-F, Rougeot C., Pichelin M., Cazaubiel M., Cazaubiel J-M. Assessment of psychotropic-like properties of a probiotic formulation (*Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175) in rats and human subjects. Br J Nutr. 2011; 105 (5): 755–764. doi: 10.1017/s0007114510004319.
  94. Stoyanova L. G., Vodolazov I. V., Dbar S. D., Oleskin A. V et al. Probiotic strains of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* produce neuroactive substances. Journal of Hygienic Engineering and Design. 2017; 20: 25–31. doi: 10.1134/s0003683818060157.
  95. Стоянова Л. Г., Устюгова Е. А., Нетрусов А. И. Антимикробные метаболиты молочнокислых бактерий: разнообразие и свойства (обзор). Прикл. Биохим. Микробиол. 2012; 48 (3): 259–275. [Stoyanova L. G., Ustyugova E. A., Netrusov A. I. Antimicrobial metabolites of lactic acid bacteria: diversity and properties (review). Prikl Biochem Microbiol. 2012; 48 (3): 259–275 (in Russian)]
  96. Стоянова Л. Г. Выделение и идентификация молочнокислых бактерий *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* с антимикробным действием. Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии 2017; 5: 41–617. [Stoyanova L. G. Isolation and identification of lactic acid bacteria *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* with antimicrobial action. Proceedings of the Timiryazev Agricultural Academy. 2017; 5: 41–617. (in Russian)]
  97. Стоянова Л. Г., Егоров Н. С. Получение низинпродуцирующих бактерий методом слияния протопластов двух родственных штаммов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, низкоактивных по синтезу низина. Микробиология. 1998; 67 (1): 47–54. [Stoyanova L. G., Egorov N. S. Poluchenie nizinproduktivnykh bakterii metodom sliyaniya protoplastov dvukh rodstvennykh shtammov *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, nizkoaktivnykh po sintezu nizina. Mikrobiologiya. 1998; 67 (1): 47–54. (in Russian)]
  98. Стоянова Л. Г., Сульtimoва Т. Д., Нетрусов А. И. Установление таксономического положения новых бактериоцинопродуцирующих штаммов *Lactococcus lactis*. Вестник Московского Университета. серия. Биология. 2008; 4: 154–157. [Stoyanova L. G., Sul'timova T. D., Netrusov A. I. Ustanovlenie taksonomicheskogo polozheniya novykh bakteriotsinproduktivnykh shtammov *Lactococcus lactis*. Vestnik Moskovskogo Universiteta. seriya Biologiya. 2008; 4: 154–157. (in Russian)]

## Информация об авторах

Дбар Сария Джоновна — аспирантка 2 курса кафедры микробиологии, биологического факультета Московского Государственного университета им. М. В. Ломоносова, Москва, Российская Федерация. ORCID 0000-0001-6997-7846

Стоянова Лидия Григорьевна – д. б. н., в. н. с. кафедры микробиологии, биологического факультета Московского Государственного университета им. М. В. Ломоносова, Москва, Российская Федерация

## About the authors

Sariya D. Dbar — 2<sup>nd</sup> year postgraduate student of the Microbiology Department, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation. ORCID 0000-0001-6997-7846

Lidia G. Stoyanova — D.Sc. in biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

# П Р А В И Л А   Д Л Я   А В Т О Р О В

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

1. Статьи направляются по адресу: journalngsa@yandex.ru или размещаются ЧЕРЕЗ САЙТ журнала после регистрации в личном кабинете автора. Рукописи статей в 1 экз. направляются по адресу: **Редакция журнала «Антибиотики и химиотерапия», ул. Нагатинская, д. 3а, 117105.** Рукопись должна иметь сопроводительное письмо, подписанное руководителем учреждения, в котором выполнена работа. Статья подписывается всеми авторами **с указанием ответственного за переписку (Ф.И.О., адрес, телефон).**

2. В выходных данных статьи указываются: название статьи, инициалы, фамилии авторов, наименование учреждений всех авторов.

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

4. Объём оригинальной статьи (как правило) не должен превышать 12 страниц, включая таблицы и иллюстрации, общее количество иллюстраций — не более 5. Объём обзорной статьи не должен превышать 20 страниц, а список цитируемой литературы — не более 100 названий. Объём заказанных статей устанавливается по договоренности.

5. Оригинальная статья должна включать (по порядку) следующие основные разделы: «**Резюме**» — не более 1 страницы; «**Введение**» с кратким обзором литературы и постановкой цели исследования; «**Материал и методы**» — с детальным описанием объектов исследований, методических приёмов и квалификаций использованных реагентов (фирм-изготовителей); «**Результаты исследований**» и «**Обсуждение результатов**» или «**Результаты и обсуждение**», «**Заключение**» или «**Выводы**» (по пунктам); «**Литература**» — с указанием цитируемых источников. В конце статьи приводятся «**Сведения об авторах**»: фамилия, имя, отчество полностью, учёная степень, звание, должность, место работы. Для автора, ответственного за переписку, указываются: почтовый адрес для корреспонденции, e-mail и телефон.

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

7. Иллюстрации (графики, диаграммы, формулы) должны быть чёткими, фотографии — контрастными. В рукописи на обороте каждого рисунка указывается фамилия первого автора статьи, номер рисунка, обозначается верх рисунка. В тексте статьи обязательны ссылки на рисунок. Рисунки и таблицы не должны дублировать друг друга. Для графиков и диаграмм отмечается, **что дано по осям координат** на приведённых кривых и т. п.

8. **В формулах** должны быть чётко **размечены все элементы**: строчные (м) и прописные (М) буквы, синим подчеркнуты латинские буквы, красным — греческие (с вынесением разметки на поля), чётко

выделяются подстрочные и надстрочные индексы; в случае цифр и букв, сходных по написанию (0 — цифра, O — буква), должны быть сделаны соответствующие пометки.

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

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

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

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

13. **Цитируемые источники литературы** во всех видах публикаций нумеруются в порядке их упоминания в тексте статьи арабскими цифрами и заключаются в квадратные скобки. В пристатейном списке литературы каждый источник следует помещать с новой строки под порядковым номером. Количество цитируемых работ в оригинальных статьях и лекциях допускается до 40 источников, в обзорах — до 100 источников. В библиографическом описании каждого источника должны быть представлены ВСЕ АВТОРЫ. Указываются фамилия, инициалы автора, название статьи, журнала, год, том, номер журнала, номера страниц «от» и «до»; в случае монографии — фамилия и инициалы автора (редактора), название, город, издательство, год, количество страниц.

Недопустимо сокращать название статьи и название отечественного журнала. Название англоязычных журналов следует приводить в сокращении в соответствии с каталогом названий базы данных MedLine, если журнал не индексируется в MedLine, необходимо указывать его полное название.

Оформление списка литературы должно удовлетворять требованиям РИНЦ и международных баз данных. В связи с этим, в ссылках на русскоязычные источники необходимо дополнительно указывать информацию для цитирования на латинице. То есть, библиографические описания ссылок на русскоязычные источники должны состоять из двух частей: русскоязычной и латиноязычной (подряд). При этом сначала следует приводить русскоязычную часть описания, затем — латиноязычную (через слеш). Желательно вставлять Doi статьи.

Таким образом, если статья написана на латинице, то она должна быть процитирована в оригинальном виде:

*Lang P.O., Michel J.P., Zekry D. Frailty syndrome: A transitional state in a dynamic process. Gerontology 2009; 55 (5): 539–549.*

Если статья написана на кириллице и у статьи есть официальный перевод названия, его нужно вставить в квадратных скобках после оригинального написания библиографической ссылки на источник. Если нет официального перевода, то нужно привести транслитерацию всей ссылки сразу после ссылки в оригинальном исполнении. В конце ссылки в квадратных скобках вставляется *in Russian*, без точки в конце:

*Ткачева О.Н., Рунихина Н.К., Остапенко В.С. Валидация опросника для скрининга синдрома старче-*

*ской астении в амбулаторной практике. Успехи геронтологии. — 2017. — Т. — 30. — №2. — С.236–242. / Tkacheva O.N., Runikhina N.K., Ostapenko V.S. Validacija oprosnika dlja skrininga sindroma starcheskoj astenii v ambulatornoj praktike. Uspekhi gerontologii 2017; 30 (2): 236–242. [in Russian]*

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

15. При несоблюдении указанных правил статьи редакцией не принимаются.

16. Статьи, принятые в журнал, проходят рецензирование. Рукописи отклонённых работ редакция не возвращает.

17. Редакция и издательство не несут ответственности за мнения, изложенные в публикациях, а также за содержание рекламы.





Жизнь продолжается!

# Цитофлавин®

ОРИГИНАЛЬНЫЙ ЧЕТЫРЕХКОМПОНЕНТНЫЙ  
НЕЙРОПРОТЕКТОР ДЛЯ АКТИВАЦИИ МЕТАБОЛИЗМА  
КЛЕТОК В УСЛОВИЯХ ИШЕМИИ<sup>1</sup>

## Способствует:

- усилению интенсивности аэробного гликолиза в нервных клетках;
- активации утилизации глюкозы и  $\beta$ -окисления жирных кислот в нервной ткани;
- стимулированию синтеза  $\gamma$ -аминомасляной кислоты в нейронах;
- увеличению устойчивости мембран нервных и глиальных клеток к ишемии;
- улучшению коронарного и мозгового кровотоков.



<sup>1</sup> Инструкция по применению лекарственного препарата для медицинского применения  
Таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой №50, №100. Регистрационный номер ЛС-001767 от 13.09.2011  
Раствор для внутривенного применения. Регистрационный номер 003135/01 от 29.06.2016. РЕКЛАМА